

**PENGARUH EKSTRAK METHANOL DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*) TERHADAP KADAR VCAM-1 SERUM TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DMBA
(7,12 DIMETHYLBENZENE ALFA ANTHRACENE)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh:
Mayya Mumtaz Maharani
NIM. 0910710094**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH EKSTRAK METHANOL DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*)
TERHADAP KADAR VCAM-1 SERUM TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*)
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DMBA (7,12 DIMETHYLBENZENE ALFA
ANTHRACENE)**

Oleh:

Mayya Mumtaz Maharani

NIM: 0910710094

Telah diuji pada

Hari: Jum'at

Tanggal: 15 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. rer. nat Tri Yudani MR. M.App.Sc

19651105 199303 2 001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Prof. Dr. dr. M. Rasjad Indra, MS

NIP. 19500525 198002 1 001

dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K)

NIP. 19691028199702 2 001

Mengetahui:

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DMT&H, MSc, SpPark

NIP: 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringaoleifera*) terhadap Kadar VCAM-1 Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi DMBA (7,12Dimetylbenzene Alfa Anthracene)”.

Ketertarikan dalam pemilihan topik ini didasari pada tingginya angka kejadian kanker yang menjadi penyebab kematian ke 2 di dunia setelah penyakit jantung. Pengobatan yang aman dan efektif belum ditemukan sehingga usaha untuk menemukan obat dari sumber alam nabati terus dilakukan. Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang diharapkan dapat digunakan sebagai obat herbal pada kanker. Pengaruh daun kelor terhadap karsinogenesis akan diteliti melalui kadar VCAM-1 serum tikus strain wistar.

Dengan terselesaikannya penelitian ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono M, SpPA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Rasjad Indra, MS, selaku pembimbing pertama yang dengan sabar membimbing dari awal hingga akhir sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K), selaku pembimbing kedua yang telah membimbing penulisan dan analisis data sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Dr. rer. nat Tri Yudani MR, M.App.Sc sebagai penguji Tugas Akhir.

5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
6. Para analis di laboratorium FAAL yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
7. Yang tercinta ayahanda Imam Syafi'i Alwy dan ibunda Ummi Jawharoh, serta saudaraku Anas Romzy Hibrida, Azza Balqis Suroyya, dan Azka Faradiba Anjani Hulayya atas segala perhatian dan kasih sayangnya.
8. Sahabatku Ifada Zulfatur Rohmah, Meidiana Pertiwi, Firdah Zuniar Fadhilah, Edah Humaidah dan Fitria Nurindro atas segala dukungan dan masukannya.
9. Teman-teman LSIM FKUB 2012 atas segala pengalaman yang luar biasa.
10. Teman-teman Tim Kelor atas kerjasamanya.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga penulisan tugas akhir ini dapat berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 12 Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Maharani, Mayya Mumtaz. 2013. *Pengaruh Ekstrak Methanol Daun Kelor (Moringa oleifera) terhadap Kadar VCAM-1 Serum Tikus (Rattus norvegicus) Galur Wistar Jantan yang Diinduksi DMBA (7,12 Dimethylbenzene Alfa Anthracene)* Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. M. Rasjad Indra, MS. (2) dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K).

Vascular Cell Adhesion Molecule(VCAM-1) adalah glikoprotein yang berfungsi menginduksi inflamasi kronis dan berperan dalam proses metastasis kanker. Pada karsinogenesis, kadar VCAM-1 serum akan meningkat. Daun *Moringa oleifera* (kelor) mengandung antioksidan kuat, yaitu flavonoid (kaempferol dan quercetin) yang diharapkan dapat menurunkan terjadinya inflamasi kronis yang menginduksi kanker dan proses metastasis awal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak methanol daun kelor terhadap kadar VCAM-1 serum tikus wistar yang diinduksi DMBA (7,12dimethylbenz α anthracene). Pada penelitian ini digunakan rancangan *true experimental* pada 5 kelompok tikus. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Selama 45 hari kelompok pertama (kontrol negatif) diberi diet normal saja, pada kelompok kedua (kontrol positif) tikus diberi diet normal dan DMBA 10 mg/hari. Sedangkan kelompok III-V diberi diet normal, DMBA 10 mg/hari selama 45 hari dan ekstrak methanol daun kelor dengan dosis yang berbeda (20, 40, 80 mg/ml) selama 60 hari. Pengukuran kadar VCAM-1 serum dilakukan dengan ELISA. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak methanol daun kelor dapat menurunkan kadar VCAM-1 secara signifikan ($p < 0,05$) pada dosis ekstrak methanol daun kelor 40mg/dl. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) mampu menurunkan kadar VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule*) pada serum tikus wistar yang diinduksi DMBA (7,12 dimethylbenz α anthracene) dengan dosis efektif kelor 40 mg/ml.

Kata Kunci: ekstrak methanol daun kelor, VCAM-1, DMBA

ABSTRACT

Maharani, Mayya Mumtaz. 2013. *Effect of Methanol Leaf Extract Moringa oleifera Toward VCAM-1 Serum Level Wistar Rat Induced DMBA (7,12 Dimethylbenzene Alfa Anthracene)*. Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. M. Rasjad Indra, MS. (2)dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K).

Vascular Cell Adhesion Molecule-1(VCAM-1) is a glycoprotein which induce chronic inflammation and leading cancer metastasis. It has been reported that VCAM-1 serum level increased in carcinogenesis *Moringa oleifera* has powerful antioxidant, namely flavonoid (kaempferol and quercetin) are expected to decrease chronic inflammation which play a role in cancer and early metastasis. The aim of this study was to find out the effect of methanol leaf extract *Moringa oleifera* toward VCAM-1 level in rat wistar serum induced DMBA. This study used true experimental design in 5 groups of rats. Each group consisted of 5 mice. For 45 days, the first group (negative control) were given a normal diet alone, the second group (positive control) mice were given a normal diet and DMBA 10 mg/day. While the group III until V were given a normal diet, DMBA 10 mg/day for 45 days and methanol leaf extract *Moringa oleifera* with different doses (20, 40, 80 mg/ml) for 60 days then. Measurement of VCAM-1 serum level in this study was done by ELISA. The result showed that administration of methanol extract *Moringa oleifera* decreased the amount of VCAM-1 serum significantly at 40mg/dl dose of methanol leaf extract *Moringa oleifera* ($p<0,05$). The conclusion of this study is methanol extract *Moringa oleifera* reduce the level of VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) serum wistar rat induced DMBA (7,12 dimethylbenz alfa anthracene) with an effective dose of *Moringa oleifera* 40 mg/ml.

Key Words: Methanol Leaf Extract *Moringa oleifera*, VCAM-1, DMBA

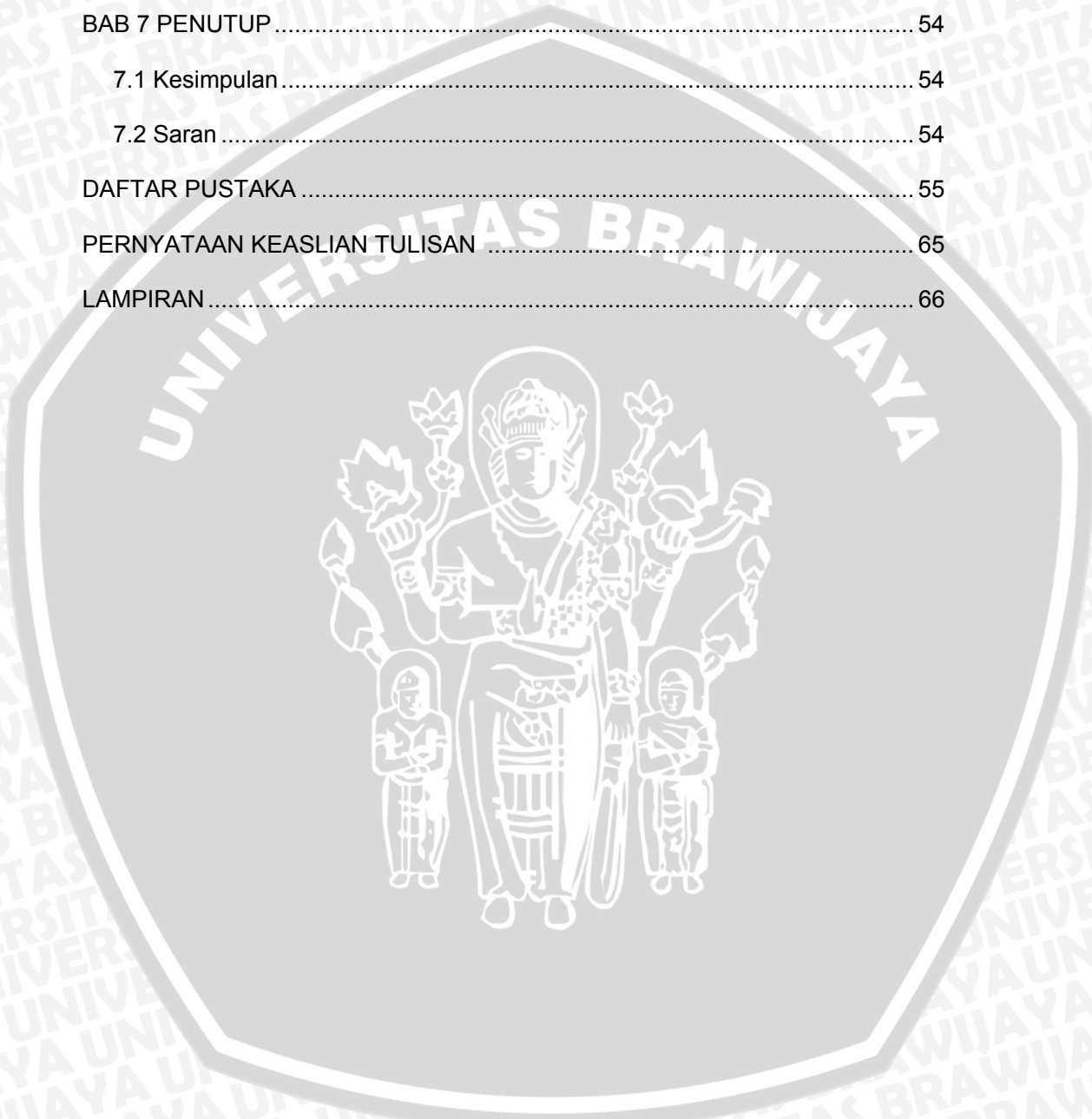
DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Masalah Penelitian	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kanker	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko	6

2.1.3 Epidemiologi	7
2.1.4 Patogenesis Kanker	7
2.1.5 Klasifikasi Kanker	10
2.1.6 Gejala Kanker	11
2.1.7 Diagnosa Kanker	11
2.2 DMBA	12
2.3 Inflamasi Kronik, Kanker, dan Metastasis	13
2.4 VCAM-1 dan Karsinogenesis	14
2.5 Terapi	19
2.6 Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	22
2.6.1 Morfologi	22
2.6.2 Klasifikasi	22
2.6.3 Manfaat Kelor secara Umum	23
2.6.4 Kandungan Kelor	24
2.6.5 Kandungan Gizi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	24
2.6.6 Antioksidan pada Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	25
2.6.6.1 Flavonoid	25
2.6.6.2 Quercetin	26
2.6.6.3 Kaempferol	27
2.6.6.4 Kombinasi Quercetin dan Kaempferol	28
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	29
3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	29
3.3 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4 METODE PENELITIAN	32

4.1 Rancangan Penelitian.....	32
4.2 Binatang Coba	32
4.2.1 Binatang Coba, Objek, dan Teknik Randomisasi	32
4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan	33
4.2.3 Kriteria Inklusi	33
4.2.4 Kriteria Eksklusi	34
4.3 Variabel Penelitian.....	34
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	35
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5.1 Alat	35
4.5.2 Bahan Penelitian	35
4.6 Definisi Operasional.....	36
4.6.1 Alat.....	25
4.6.2 Bahan Penelitian.....	26
4.7 Prosedur Penelitian	37
4.7.1 Prosedur Ekstraksi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	37
4.7.2 Aklimatisasi	39
4.7.3 Tikus yang Diinduksi DMBA.....	39
4.7.3 Perlakuan.....	40
4.7.3.1 Pemeliharaan.....	40
4.7.3.2 Pembedahan	40
4.7.5 Pemeriksaan kadar VCAM1 dengan ELISA	41
4.8 Pengolahan dan Analisis Data.....	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	43
5.1 Hasil Penelitian	43

	10
5.2 Analisis Data	45
BAB 6 PEMBAHASAN	49
BAB 7 PENUTUP	54
7.1 Kesimpulan	54
7.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	65
LAMPIRAN	66



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Tata Nama Tumor (Robbins, 2007)	10
Tabel 2.2	Perbandingan Nilai Nutrisi pada Bagian Tanaman <i>Moringa oleifera</i> per 100 gram (Fuglie, 2008)	24
Tabel 2.3	Hasil Pemeriksaan Kandungan Zat Gizi Kelor per 100 gram Tepung Daun (Therik, 2008)	25
Tabel 2.4	Aktivitas antiradikal senyawa turunan flavon dan flavonol (Bennett et al., 2003)	26
Tabel 5.1	Rerata kadar VCAM-1 Serum Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) dalam 5 Kelompok Perlakuan Induksi DMBA dan Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan Berbagai Dosis	44



DAFTAR GAMBAR

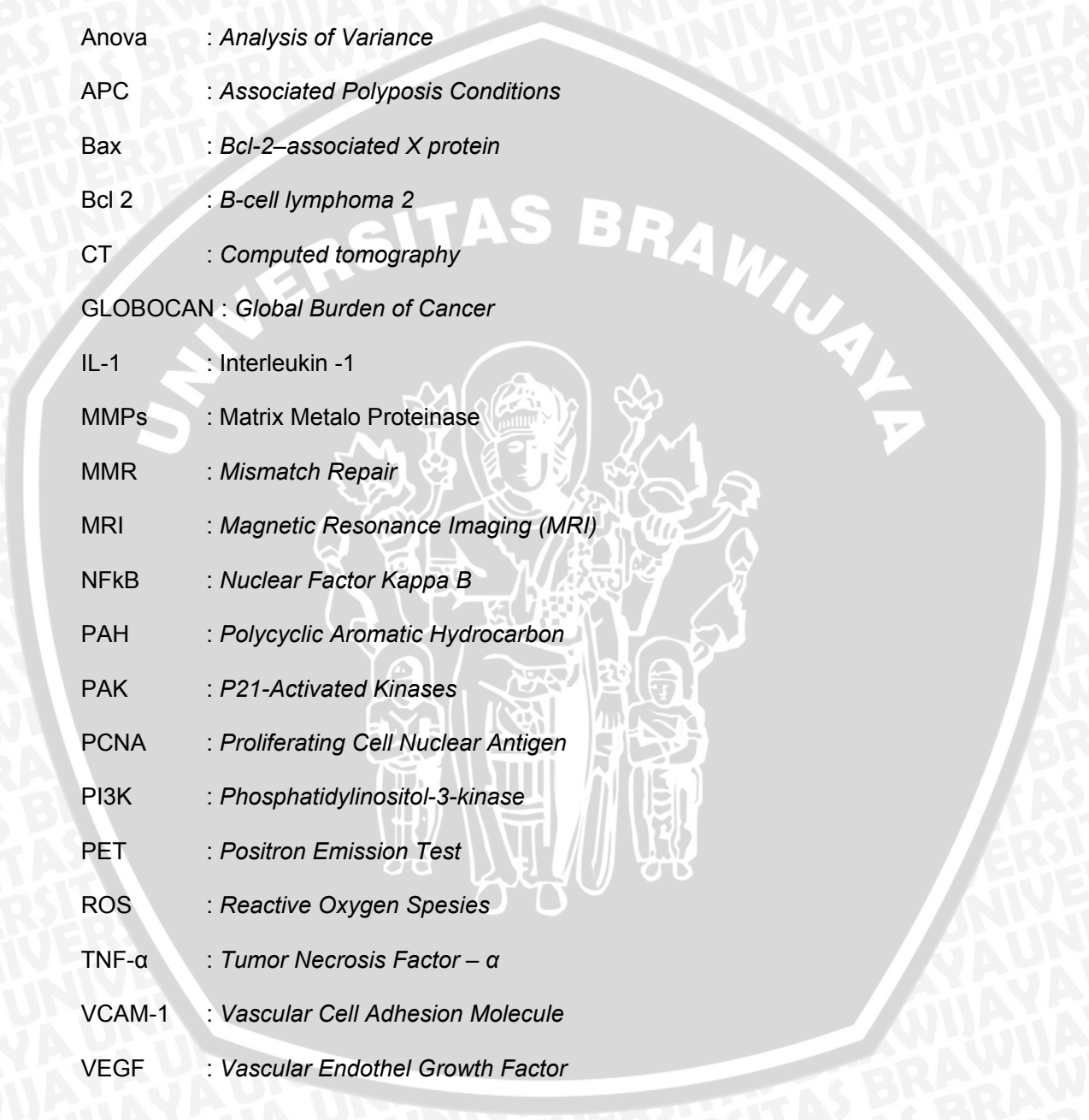
Gambar 2.1 Skema patogenesis <i>chromosomal instability</i> (Moran A et al., 2010)	8
Gambar 2.2 Skema terjadinya <i>microsatellite instability</i> (Moran A et al., 2010)	9
Gambar 2.3 VCAM-1 dan VLA-4	16
Gambar 2.4 VCAM-1 <i>Pathway</i>	17
Gambar 2.5 Induksi ROS terhadap NFkB (Packer, 1999)	18
Gambar 2.6 Upregulasi PI3K/Akt oleh VCAM-1	19
Gambar 2.7 Daun dan Bunga Kelor	23
Gambar 3.1 Kerangka konsep	29
Gambar 4.1 Alur Penelitian	37
Gambar 5.1 Grafik Hubungan Antar Kelompok Perlakuan Kadar VCAM-1 Serum Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) dalam 5 Kelompok Perlakuan Induksi DMBA dan Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan Berbagai Dosis	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: <i>Test of Normality</i> (Uni Normalitas Data)	66
Lampiran 2: <i>Test of Homogeneity of Variances</i> (Uni Homogenitas Varian)	66
Lampiran 3: Uji ANOVA	66
Lampiran 4: <i>Post Hoc Test</i>	67
Lampiran 5: <i>Homogeneous Subsets</i>	68
Lampiran 6: Penimbangan Berat Badan, Pemberian Pakan dan Minum Tikus, dan Pembersihan Kandang Tikus	68
Lampiran 7: Pembedahan dan Pengambilan Darah	69
Lampiran 8: Perhitungan Kadar VCAM-1 dengan metode ELISA	69



DAFTAR SINGKATAN



Anova	: <i>Analysis of Variance</i>
APC	: <i>Associated Polyposis Conditions</i>
Bax	: <i>Bcl-2-associated X protein</i>
Bcl 2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
CT	: <i>Computed tomography</i>
GLOBOCAN	: <i>Global Burden of Cancer</i>
IL-1	: <i>Interleukin -1</i>
MMPs	: <i>Matrix Metallo Proteinase</i>
MMR	: <i>Mismatch Repair</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging (MRI)</i>
NFkB	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PAH	: <i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbon</i>
PAK	: <i>P21-Activated Kinases</i>
PCNA	: <i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol-3-kinase</i>
PET	: <i>Positron Emission Test</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor – α</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothel Growth Factor</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah pertumbuhan dan penyebaran sel yang tidak terkontrol. Pertumbuhannya seringkali menginvasi ke jaringan dan dapat bermetastasis ke bagian tubuh yang lain (WHO, 2011). Di dunia, 12% seluruh kematian disebabkan oleh kanker dan pembunuh nomor dua setelah penyakit kardiovaskular. WHO dan Bank Dunia, 2005 memperkirakan setiap tahun, 12 juta orang di seluruh dunia menderita kanker (Depkes, 2010). Menurut GLOBOCAN 2008, jumlah penderita kanker di Indonesia pria 120 dan wanita 137 orang per 100.000 penduduk. Jumlah ini merupakan jumlah penderita kanker tertinggi keempat di ASEAN setelah Singapura, Thailand, dan Vietnam (Kimman *et al.*, 2012).

Kerusakan genetik merupakan penyebab utama terjadinya kanker. Teridentifikasi tiga golongan karsinogenik, yaitu zat kimia, energi radiasi, dan mikroba. Zat kimia dan energi radiasi sudah terbukti merupakan penyebab kanker pada manusia, dan virus onkogenik berperan pada patogenesis kanker beberapa model hewan dan manusia. Beberapa karsinogen kimiawi utama adalah zat pengakili (siklofosfamid, klorambusil, nitrosurea), pengasil (i-asetilimidazol, dimetilkarbamil klorida), dan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) (benz(a)antrasena, benzo(a)pirena, dibenz(a,h)antrasena, 3-metilkolantrena, 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA)). Paparan karsinogenik seperti contohnya DMBA, dapat menghasilkan produk aktif utama yaitu epoksida, yang membentuk

adduct (addition product) kovalen dengan berbagai molekul di sel, terutama DNA, tetapi juga dengan RNA dan protein (Robbins, 2007).

Proses terjadinya kanker diawali dengan adanya kerusakan DNA atau mutasi pada gen-gen p-53 dan ras, yaitu kerusakan DNA pada gen pengatur pertumbuhan (Hanahan and Weinberg, 2011). Sel kanker yang tumbuh dianggap sebagai antigen sehingga akan direspon oleh imunitas tubuh dengan inflamasi. Inflamasi kronis memberi sumbangan pada perkembangan kanker dan predisposisi untuk jenis kanker yang berbeda. Kanker terkait inflamasi meliputi adanya infiltrasi leukosit, ekspresi sitokin seperti faktor nekrosis tumor (TNF) atau interleukin (IL) -1; kemokin seperti CCL2 dan CXCL8; remodelling jaringan yang aktif dan neo-angiogenesis (Allavena *et al.*, 2008).

Infiltrasi leukosit terjadi akibat adanya ikatan dengan sel molekul adhesi yang diekspresikan pada permukaan sel. Terdapat berbagai macam sel molekul adhesi, seperti VCAM, I-CAM, dan P-selektin (Packard dan Libby, 2008). Kadar molekul adhesi, seperti contohnya VCAM-1, dilaporkan meningkat pada serum pasien kanker, yaitu pada kanker kolorektal, kanker payudara, ginjal, paru, dan gaster (Chen and Massague, 2012; Ding *et al.*, 2003; Okugawa *et al.*, 2009; Byrne *et al.*, 2000; Griffioen and Molema, 2000). VCAM-1 berperan dalam menginduksi inflamasi kronis, pertumbuhan dan metastasis kanker (Chen and Massague, 2012; Bryne *et al.*, 2000; Packard dan Libby, 2008). VCAM-1 terekspresi ke permukaan sel endotel akibat adanya stimulasi TNF- α , sehingga menghasilkan ROS dan teraktivasinya berbagai jalur lain seperti MMPs dan PI3K/Akt. Modulasi jalur-jalur tersebut dapat meningkatkan migrasi limfosit dan terjadi *survival signal* yang dapat menyebabkan kanker dan metastase kanker (Chen *et al.*, 2011; Deem *et al.*, 2004; Wittchen, 2009).

Pemilihan pengobatan baru yang aman, efektif dan selektif sangat penting untuk dilakukan (Gibbs, 2000). Tingginya prevalensi dan mortalitas kanker menandakan masih kurangnya tindakan pengobatan dan pencegahan yang seharusnya dilakukan. Tindakan pencegahan dapat dilakukan melalui menjaga pola makan dan pola hidup yang sehat serta pengobatan melalui obat-obat kimia, pembedahan, kemo-radioterapi maupun obat-obatan herbal untuk menghambat perjalanan penyakit (Santoso, 2011). Tanaman merupakan salah satu sumber obat pilihan dalam mengobati kanker (Jemal *et al.*, 2008). Salah satu tanaman yang diduga memiliki khasiat menghambat kanker adalah kelor (*Moringa oleifera*). Tanaman ini diakui sangat mudah dibudidayakan, sehingga dijadikan tanaman sayur wajib (Akoit, 2008). Daun *Moringa oleifera* mengandung vitamin A, B, C, Ca^{2+} , Fe, dan protein dalam jumlah yang signifikan. Selain itu, β -carotene (401mg/kg daun kering) dan xantin (neoxantin 219 mg/kg, violaxantin 76.5 mg/kg, zeaxantin 19.4 mg/kg) juga ditemukan. Pada tumbuhan ini, berbagai flavonoid banyak ditemukan, dengan konsentrasi yang paling tinggi yaitu jenis quercetin dan kaempferol (Coppin, 2008). Kaempferol dan quercetin memiliki aktivitas antiradikal yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa flavonol lainnya (Bennett *et al.*, 2003). Quercetin dan kaempferol dapat menurunkan produksi ROS (Arias, 2004). Pada penelitian yang lain, quercetin dan kaempferol juga dapat menurunkan VCAM1 (Crespo *et al.*, 2008).

Berdasarkan potensi tanaman *Moringa oleifera* yang telah disebutkan di atas, diharapkan tanaman ini pemanfaatannya dapat dimaksimalkan sebagai obat herbal masa depan. Hal inilah yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian tentang “Pengaruh ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*)

terhadap kadar VCAM1 serum tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA) “.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar VCAM1 serum tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar VCAM1 serum tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA).

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penurunan kadar VCAM-1 serum tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA).

1.3.2.2 Mengetahui dosis efektif ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) untuk menurunkan kadar VCAM-1 serum tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Mantaat Akademik

Menambah konsep dasar tentang daun kelor (*Moringa oleifera*) dan hubungannya dengan karsinogenesis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Menambah pengetahuan masyarakat akan konsep dasar pengembangan ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai terapi kanker.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

2.1.1 Definisi

Kanker adalah penyakit dimana sekelompok sel mengalami pertumbuhan tidak terkendali, invasif dan merusak jaringan sekitarnya, serta kadang-kadang menyebar ke lokasi lainnya di tubuh melalui getah bening atau darah (metastasis). Ketiga sifat ganas kanker membedakan mereka dari tumor jinak, yang tidak menyebar atau bermetastasis (National Cancer Institute, 2010).

2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko

Kanker dapat terjadi akibat adanya invasi aktif dan metastasis, replikasi imortal, kerusakan pertumbuhan supresor, destruksi imun, instabilitas dan mutasi genom, induksi angiogenesis, reprogram metabolisme energi, pertahanan kematian sel, proliferasi, dan inflamasi yang mengarah ke tumor (Hanahan dan Weinberg, 2011). Sedangkan faktor predisposisi kanker merupakan interaksi kompleks perubahan molekular sel dengan faktor lingkungan (Siregar, 2007). Faktor instrinsik yang berpengaruh adalah genetik, imunitas, usia dan hormon pada masing-masing individu (National Cancer Institute, 2012). Faktor ekstrinsik yang dapat menyebabkan kanker meliputi infeksi, radiasi, karsinogen, paparan bahan kimia dan obat-obatan, zat yang terkandung dalam diet, dan faktor fisik (Chabner, 2012).

2.1.3 Epidemiologi

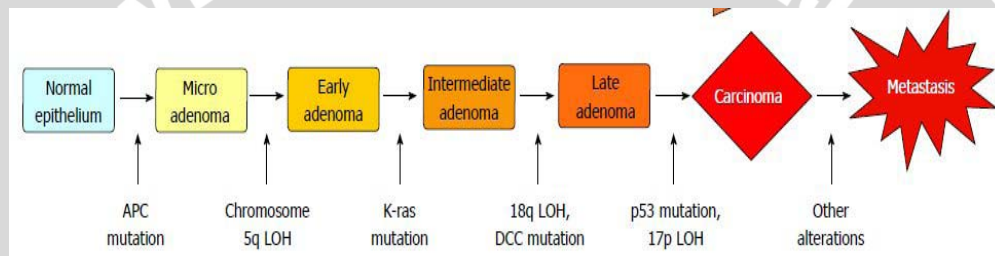
Berdasarkan data GLOBOCAN 2002, terdapat 10.862.496 kasus baru (tanpa melanoma) di dunia pada tahun 2002. Dari data tersebut, 5.801.839 (53,4%) diderita pria dan 5.060.657 (46,6%) wanita. Hampir 45% kasus baru ditemukan di Asia, 26% di Eropa, 15% di Amerika Utara, 7% di Amerika Latin, dan 6% di Afrika. Kanker terbanyak (kombinasi jumlah penderita pria dan wanita) adalah kanker paru (965.446 pria dan 386.875 wanita kasus per tahun). Kanker kedua terbanyak adalah kanker kolorektal (550.513 pria dan 472.743 wanita), dan kanker ketiga terbanyak adalah kanker gaster (603.003 pria dan 330.290 wanita) (Ma dan Yu, 2007).

Menurut GLOBOCAN 2008, Indonesia menempati peringkat keempat penderita kanker terbanyak di ASEAN dengan penderita kanker pria 120 dan wanita 137 orang per 100.000 penduduk. Jumlah ini merupakan jumlah penderita kanker tertinggi keempat di ASEAN setelah Singapura, Thailand, dan Vietnam. Kanker paru merupakan kanker terbanyak pada pria dengan angka kejadian 29.7 per 100.000 penduduk dan kanker payudara pada wanita dengan angka kejadian 36.2 per 100.000 penduduk. Jumlah penderita kanker paru di Indonesia menempati urutan kelima terbanyak setelah Vietnam, Singapura, Laos, dan Brunei. Sedangkan jumlah penderita kanker payudara di Indonesia menempati urutan ketiga setelah Brunei dan Cambodia (Kimman *et al.*, 2012).

2.1.4 Patofisiologi Kanker

Kanker dapat terjadi jika ada interaksi perubahan molekular sel dengan faktor lingkungan. Pada kanker, terdapat 3 gambaran perubahan molekular sel, yaitu *chromosomal instability*, *CpG island methylator phenotype*, dan *microsatellite instability*. Untuk terjadinya kanker, maka harus terjadi perubahan molekular secara

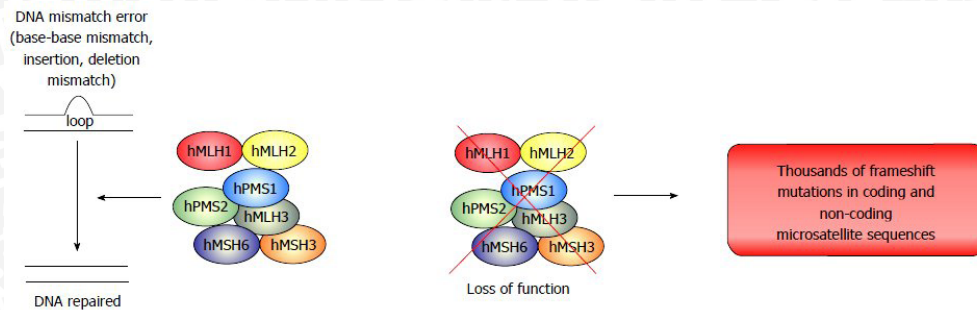
multiple dan berurutan sampai terbentuk 10 clonal (Worthley dan Leggett, 2010). Beberapa *Chromosomal instability* yang berpengaruh terhadap patogenesis yaitu mutasi gen APC atau hilangnya kromosom 5q, mutasi gen KRAS, hilangnya kromosom 18q, dan delesi kromosom 17q yang berhubungan dengan gen TP53, gen yang mengkode protein P53. Pada keadaan normal, gen maupun kromosom tersebut memegang peranan penting dalam regulasi proliferasi dan apoptosis, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara proliferasi dan apoptosis sel kanker (Grady, 2004).



Gambar 2.1 Skema patogenesis *chromosomal instability*

(Moran A et al., 2010)

Perubahan molekuler sel selanjutnya adalah *microsatellite instability*. *Microsatellite* merupakan sequence nukleotida berulang sepanjang genom. *Microsatellite instability* merupakan keadaan dimana terdapat perbedaan dan ketidakstabilan jumlah nukleotida pada genom, hal ini diakibatkan oleh adanya defek pada gen *mismatch repair* (MMR). Terdapat 7 gen yang terlibat pada sistem MMR, yaitu hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1, dan hPMS2 (Moran A et al., 2010), secara skematis seperti pada gambar 2.2. *Microsatellite instability* dapat menyebabkan kerusakan genetik. Beberapa *microsatellite instability* yang berperan dalam patogenesis kanker kolon, seperti MSH3, TGFBR2, BAX, CASP5, MSH6, CTNNB1, APC, IGF2, dan E2F4 (Hoeijmakers, 2001, Bresalier, 2002).



Gambar 2.2 Skema terjadinya *microsatellite instability* (Moran A et al., 2010).

Proses perubahan molekuler sel yang terakhir adalah *CpG island methylator phenotype*. Hal ini termasuk jarang dibandingkan 2 mekanisme lainnya. *CpG island methylator phenotype* merupakan ketidakstabilan epigenetik, seperti metilisasi daerah promotor, sehingga ekspresi dari gen tersebut menjadi tidak aktif (Weisenberger, 2006).

2.1.5 Klasifikasi Kanker

Tata nama tumor ganas pada dasarnya mengikuti tata nama tumor jinak, dengan penambahan dan pengecualian tertentu. Neoplasma ganas yang berasal dari jaringan mesenkim atau turunannya disebut sarkoma. Kanker yang berasal dari jaringan fibrosa disebut fibrosarkoma, dan neoplasma ganas yang terdiri atas kondrosit disebut kondrosarkoma. Sarkoma diberi nama berdasarkan histogenesisnya (yaitu jenis sel yang membentuknya). Neoplasma ganas yang berasal dari sel epitel disebut karsinoma (Robbins, 2007).

Karsinoma dibagi-bagi lebih lanjut. Karsinoma sel skuamosa menandakan suatu kanker yang sel tumornya mirip dengan epitel skuamosa berlapis, dan adenokarsinoma berarti lesi yang sel epitel neoplastiknya tumbuh dalam pola kelenjar (Robbins, 2007).

Sel parenkim pada suatu neoplasma, baik jinak maupun ganas, mirip satu sama lain, seolah-olah semua berasal dari satu progenitor. Neoplasma memiliki asal monoklonal, namun pada beberapa kasus, sel mungkin mengalami diferensiasi divergen, menghasilkan tumor campuran. Contoh tumor campuran adalah fibroadenoma pada payudara (Robbins, 2007).

Tabel 2.1 Tata Nama Tumor (Robbins, 2007)

Jaringan Asal	Nama Tumor Ganas/Kanker
Terdiri atas Satu Jenis Sel Parenkim Tumor yang berasal dari mesenkim - Jaringan ikat dan turunannya Endotel dan jaringan terkait - Pembuluh darah - Pembuluh Limfe - Sinovium - Mesotelium - Selaput otak Sel darah dan sel terkait - Sel hematopoietic - Jaringan limfoid Otot - Polos - Serat-Lintang Tumor yang berasal dari epitel - Skuamosa berlapis - Sel basal kulit dan adneksa - Lapisan epitel kelenjar atau duktus - Saluran nafas - Epitel ginjal - Sel hati - Epitel saluran kemih (transisional) - Epitel plasenta - Epitel testis (sel germinativum) Tumor melanosit	Fibrosarkoma Liposarkoma Kondrosarkoma Sarkoma osteogenik Angisarkoma Limfangiosarkoma Sarkoma sinovium Mesotelioma Meningioma invasive Leukimia Limfoma Leiomiosarkoma Rabdomiosarkoma Karsinoma epidermoid atau sel skuamosa Karsinoma sel basal Adenokarsinoma Karsinoma papilar Kistadenokarsinoma Karsinoma bronkogenik Karsinoma sel ginjal Karsinoma hepatoselular Karsinoma sel transisional Koriokarsinoma Seminoma Karsinoma embrional Melanoma maligna
Lebih dari satu Jenis Sel neoplastik-tumor campuran, biasanya berasal dari satu lapisan sel germinativum Kelenjar liur	Tumor campuran ganas yang berasal dari kelenjar liur Tumor wilms

Anlage ginjal Lebih dari satu jenis sel neoplastik yang berasal dari lebih dari satu lapisan sel germinativum Sel totipotensial di gonad atau <i>embryonic rests</i>	Teratoma imatur, teratokarsinoma
---	----------------------------------

2.1.6 Gejala Kanker

Gejala kanker tergantung tipe dan lokasi tumor. Pada beberapa kanker, tidak didapatkan gejala hingga tumor membesar. Tanda-tanda yang umum pada kanker meliputi letih yang berlebihan, penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas, demam, pucat, berkeringat dingin, penurunan nafsu makan, nyeri pada suatu lokasi, batuk berkepanjangan, nafas pendek, diare, konstipasi, dan darah pada feses (Cancer Hindi, 2005). Selain itu juga dapat terjadi suara parau sejak tiga minggu, terdapat bengkak atau penonjolan pada area tubuh yang menetap, Ulser atau luka pada kulit dan mulut yang tidak sembuh-sembuh, tahi lalat yang berubah ukuran, bentuk, dan warna, atau perubahan kulit, perdarahan vagina, atau kelainan gastrointestinal yang menetap lebih dari enam minggu (Macmillan, 2012).

2.1.7 Diagnosa Kanker

Diagnosa kanker meliputi penggunaan berbagai tes yang dapat mempresentasikan detil sel abnormal, dimana hal tersebut dapat ditekesi dari pelaporan gejala (*history taking*), pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan medis rutin. Segala informasi harus dianalisa untuk mengidentifikasi sel termasuk maligna (kanker) atau non-maligna (non-kanker). Jika terdeteksi maligna, perlu dideteksi juga tingkat agresivitas sel kanker tersebut. Kanker yang agresif

tumbuh dan menyebar lebih cepat daripada kanker indolen. Berikut beberapa tes yang spesifik didesain untuk mengevaluasi kanker.

1. HistoPA: observasi sel yang diduga abnormal dengan mikroskop.
2. Radiologi: meliputi visualisasi massa abnormal dengan mesin teknologi tinggi yang menghasilkan gambaran, seperti *x-ray*, *computed tomography (CT)*, *positron emission test (PET)*, *magnetic resonance imaging (MRI)*, dan *combined PET/CT*.
3. Tes darah lengkap untuk melihat substansi dalam darah yang mengindikasikan kanker.
4. Tes tumor marker untuk mendeteksi substansi dalam darah, urin, atau jaringan yang diperiksa.
5. Evaluasi laboratorium DNA spesifik yang meliputi identifikasi *genetic make up*- DNA- sel yang abnormal (Cancer Connect, 2013).

2.2 DMBA

PAH merupakan polutan lingkungan yang merupakan hasil pembakaran tidak sempurna dari bahan bakar (Uno *et al.*, 2004). Salah satu senyawa PAH adalah 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA). Senyawa DMBA merupakan agen sitotoksik, karsinogenik, mutagenik, dan immunosupresif (Buters *et al.*, 2003). DMBA merupakan karsinogen yang cukup poten pada hewan pengerat dan secara luas telah digunakan untuk menginduksi terjadinya kanker (Constantinou *et al.*, 2003). Induksi karsinogenesis dilakukan dengan metode *newborn mice* (Della Porta and Terracini, 1969) yang telah dibuktikan sebagai metode uji karsinogenisitas yang terbaik dan paling sensitif.

Mekanisme yang paling mungkin disebabkan oleh DMBA adalah over produksi ROS, induksi inflamasi kronis, kerusakan DNA, dan pembentukan DNA *adduct* (Pugalendhi dan Manoharan, 2010). DMBA sering digunakan untuk menginduksi kanker kulit pada tikus albino Swiss (Vellaichamy *et al.*, 2009). DMBA akan diubah oleh enzim fase I, sitokrom P450 (CYP) menjadi *ultimate* karsinogen berupa senyawa epoksida elektrofil yang merupakan metabolit aktifnya (Rowlands *et al.*, 2001). Pemberian DMBA juga diketahui menginduksi kanker dengan cara meningkatkan ekspresi p53, PCNA, VEGF, Inos, Bcl-2, Reactive Oxygen Spesies (ROS), dan menurunkan ekspresi Bax (Pugalendhi dan Manoharan, 2010). Pemberian DMBA berpengaruh pada proses inflamasi kronis yang dapat dimediasi oleh berbagai molekul proangiogenik, seperti VEGFR, IL-8, NO, ICAM-1 and VCAM-1 (Kundu dan Surh, 2008).

2.3 Inflamasi Kronik, Kanker, dan Metastasis.

Kanker adalah penyebab kematian, dan sebagian besar penderita meninggal akibat metastasis daripada tumor primer. Bagaimanapun, telah jelas bahwa sel tumor seringkali sudah meninggalkan lokasi tumor primer dan menyebar saat tumor primer didiagnosa. *Circulating tumor cells* (CTCs) ditemukan dalam darah, dan *disseminated tumor cells* (DTCs) dapat ditemukan pada lokasi ektopik seperti nodul limfatik dan sumsum tulang, dimana keduanya dapat mempresentasikan perkembangan metastasis (Hynes, 2011).

Sel kanker membutuhkan kapasitas otonomi sel untuk berproliferasi dan mengadakan pertahanan melalui aktivasi onkogen dan inaktivasi gen tumor supresor. Fibroblas, leukosit, darah, sel endotel pembuluh limfatik yang terdapat pada lingkungan mikro tumor berkontribusi dalam progresi tumor. Bukti terakhir

mengindikasikan bahwa kondisi lingkungan mikro tersebut memicu stem sel kanker dan mempromosikan metastasis dengan cara inflamasi kronik (Balkwill dan Mantovani, 2001). Adanya leukosit pada kanker dapat mengganggu sistem imun dalam melawan kanker. Selain itu, angiogenesis juga dikenali sebagai reaksi stroma lain yang mempromosikan progresi kanker. Oleh karena itu, inflamasi kronik dan neovaskularisasi sangat berperan dalam progresi kanker (Riegg, 2006).

Inflamasi kronik telah diketahui memediasi bermacam-macam penyakit, termasuk penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, arthritis, alzheimer, penyakit paru, dan autoimun. Inflamasi kronik berhubungan dengan berbagai tahap yang terlibat pada karsinogenesis, seperti transformasi seluler, promosi, progresi, pertahanan, proliferasi, invasi, angiogenesis, dan metastasis (Aggarwal *et al.*, 2006).

2.4 VCAM-1 dan Karsinogenesis

Interaksi antara sel-sel dan matrik ekstraseluler sel memegang peranan penting dalam bermigrasinya sel dan teraktivasinya leukosit selama inflamasi. Dalam proses inflamasi, sel akan mengeluarkan sitokin ke permukaan vaskular sehingga akan menstimuli pembentukan molekul adhesi, protease dan mediator lainnya yang terlarut dan dapat masuk ke sirkulasi darah (Packard dan Libby, 2008; Hansson, 2009). Inflamasi pada arteri merupakan suatu respon nonspesifik yang dapat disebabkan oleh virus, toksin, kompleks imun, produk-produk yang dilepaskan oleh sel darah putih maupun platelet yang teraktivasi serta stress fisik yang tidak lazim. Selain itu, dapat juga disebabkan oleh peningkatan konsentrasi lipoprotein dalam darah. Keadaan ini akan

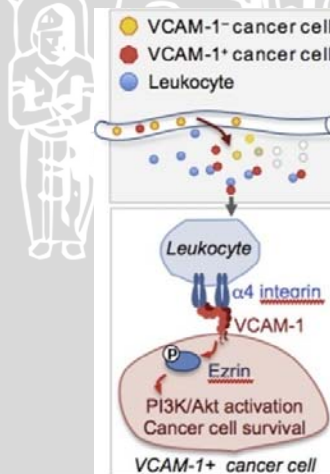
meningkatkan permeabilitas endotel yang memicu terjadinya inflamasi (Hansson, 2005).

Terjadinya inflamasi kronik yang mengarah pada kanker dapat melalui berbagai cara, salah satunya melalui sitokin antikanker yaitu TNF- α . Disregulasi dan sekresi TNF- α yang berlebih dalam sirkulasi ini yang menjadi mediator inflamasi utama pada kanker. Pada berbagai kanker kadar TNF- α mengalami peningkatan. Saat disekresikan ke sirkulasi, TNF- α dapat memediasi banyak penyakit termasuk kanker dan merupakan mediator inflamasi mayor. Setelah terinduksi patogen, TNF- α menginduksi mediator inflamasi lain dan berfungsi sebagai promotor tumor endogen. Peran TNF- α dihubungkan dengan semua tahap karsinogenesis, termasuk transformasi sel, promosi, pertahanan, proliferasi, invasi, angiogenesis, dan metastasis (Aggarwal, 2003). TNF- α yang telah teraktivasi karsinogen mengakibatkan terjadinya NFkB *signaling*. NFkB terdapat pada sitosol sebagai sebuah trimetrik kompleks. Aktivasi NFkB ini menyebabkan salah satu molekul adesi yaitu *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) memodulasi migrasi limfosit ke jaringan (Suganuma *et al.*, 1999; Budunova *et al.*, 1999; Packer, 1999).

VCAM-1 adalah salah satu contoh glikoprotein sel permukaan CAMs, yang berfungsi untuk interaksi antar sel. Adhesi interseluler dimediasi oleh CAMs, yang secara langsung mempengaruhi diferensiasi dan gangguan pada sel normal sehingga terjadi transformasi neoplastik dan metastasis. Ekspresi CAMs pada limfosit dan sel endotel vaskuler berperan pada perjalanan limfosit untuk respon imun (Ding *et al.*, 2003). Rangsangan awal pada peradangan akan menstimuli molekul adhesi seperti P-selektin, VCAM-1 dan ICAM-1 sehingga monosit dan limfosit yang ada pada peredaran darah dapat menempel pada

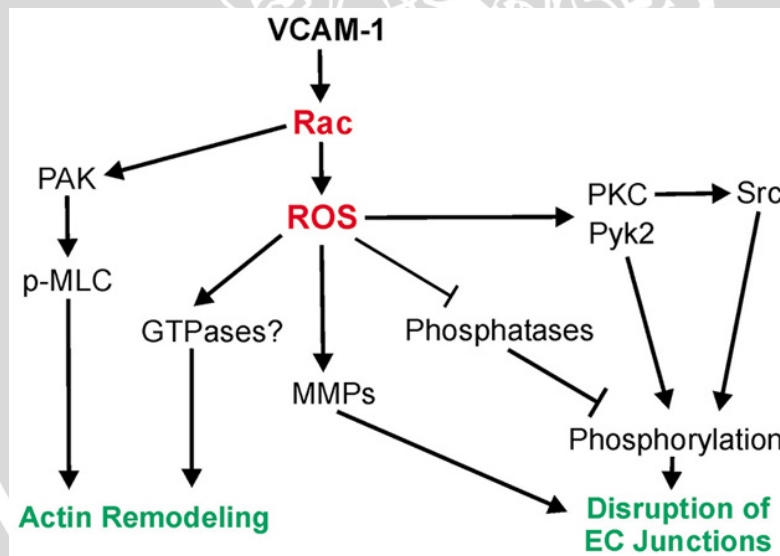
permukaan endotel (Packard dan Libby, 2008). VCAM-1 diekspresikan oleh jaringan makrofag, sel dendrit, sel epitel, dan juga oleh permukaan sel endotel yang terstimulasi. Oleh sebab itu, VCAM-1 merupakan protein yang terdistribusi secara luas (Ding *et al.*, 2003).

VCAM-1 menyandikan suatu molekul adesi leukosit dimana pada keadaan normal ekspresi tersebut terbatas pada sel endotel dan subpopulasi sel sumsum tulang. Endotelial VCAM-1 berikatan dengan integrin $\alpha 4 \beta 1$ leukosit (atau VLA4) dan $\alpha 4 \beta 7$ pada monosit, granulosit, dan limfosit yang bersirkulasi dan menempelkannya ke permukaan endotel lumen. Melalui interaksi ini, VCAM-1 memediasi pergerakan leukosit dari darah ke jaringan, sebuah proses yang aktif saat respon inflamasi berlangsung (Chen *et al.*, 2011). Ekspresi abnormal VCAM-1 ini dilaporkan terjadi pada banyak kanker, seperti payudara, gaster, ginjal, dan melanoma (Ding *et al.*, 2003, Minn *et al.*, 2007, Ruco *et al.*, 1996 dan Shin *et al.*, 2006).

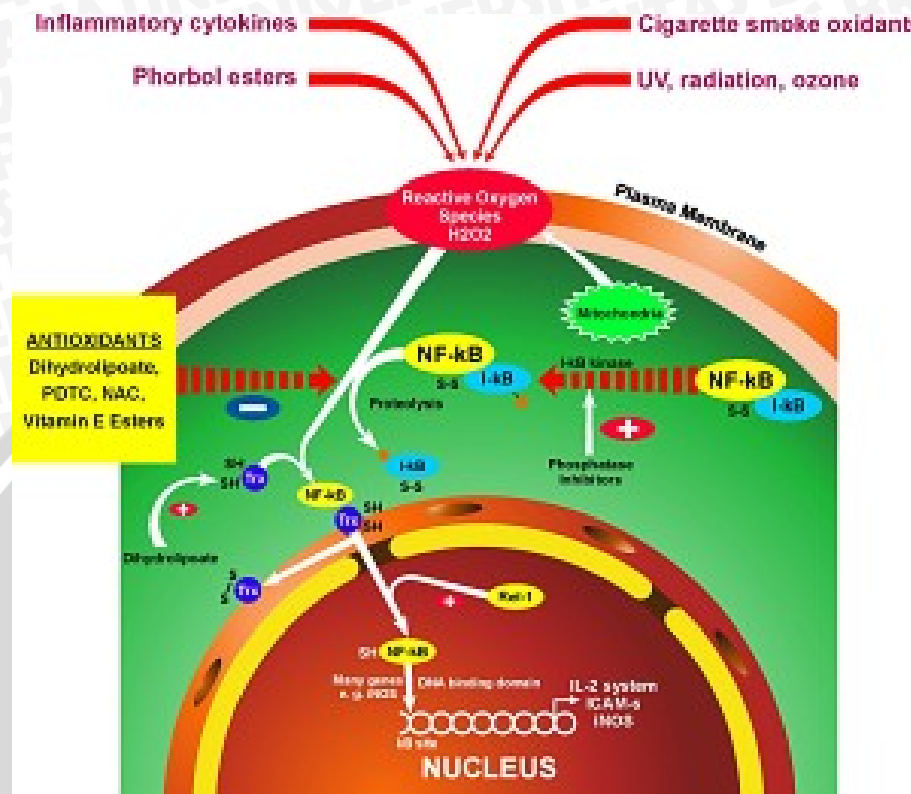


Gambar 2.3 VCAM-1 dan VLA-4

VCAM-1 yang telah teraktivasi NfKB mengaktifkan NADPH oksidase dan PAK pada sel endotel. Aktivasi NADPH oksidase ini kemudian mengkatalisa pelepasan *reactive oxygen spesies* (ROS). Sedangkan PAK mengakibatkan restrukturisasi aktin sel endotel. ROS yang dilepaskan berlebihan menyebabkan aktivasi MMPs yang berperan pada migrasi limfosit (Deem *et al.*, 2004; Wittchen, 2009). Perubahan struktur pada aktin sel endotel menyebabkan migrasi limfosit semakin permisif. Migrasi limfosit yang terus menerus ini memperburuk inflamasi kronis yang memperparah terjadinya karsinogenesis (Wittchen, 2009). Selain mengaktifkan MMPs, ROS juga dapat memediasi NFKB. Hal ini dapat menyebabkan suatu siklus yang terus menerus terhadap aktivasi NFKB sehingga karsinogenesis terus berlanjut (Packer, 1999).



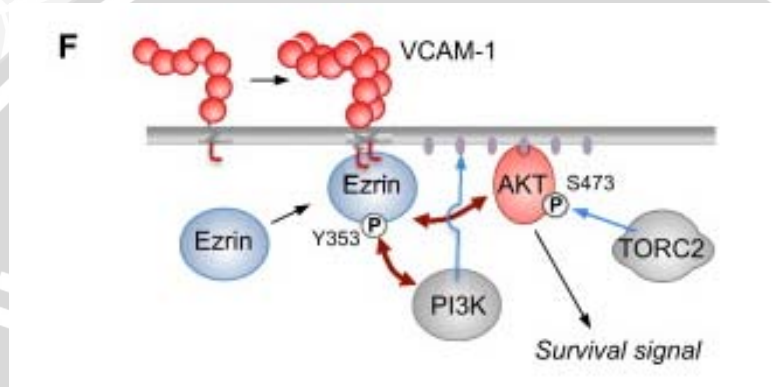
Gambar 2.4 VCAM-1 Pathway (Wittchen, 2009)



Gambar 2.5 Induksi ROS terhadap NFkB (Packer, 1999)

Interaksi VLA-4 dan VCAM-1 memicu aktivasi PI3K/Akt dan pertahanan kanker sel pada parenkim paru dengan domain sitoplasmik. Selama transmigrasi leukosit, VCAM-1 pada sel endotel dapat berkomunikasi dengan protein sitoplasmik Ezrin dan Moesin, dan memicu aktivasi Rac1 (Barreiro *et al.*, 2002 dan van Wetering *et al.*, 2003). VCAM-1 memediasi fosforilasi Ezrin, ikatan Akt dengan Ezrin, dan fosforilasi Akt pada TORC2 bagian S473 yang mengaktifasi sinyal prosurvival. Protein kinase yang bertanggung jawab pada fosforilasi Ezrin masih belum diketahui, meskipun Src telah terbukti secara implisit sebagai mediator tidak langsung (Chuan *et al.*, 2006; Krieg dan Hunter, 1992). Oleh karena itu, ikatan leukosit dengan VCAM-1 dapat memperkuat aktivasi jalur PI3K/Akt pada *microenvironment* yang buruk selama tahap inisiasi dan adaptasi DTCs (*Disseminated Cancer Cell*) pada lokasi yang baru (Chen *et al.*, 2011).

Pada penelitian lain disebutkan, VCAM-1 memiliki peran penting dalam dormansi DTCs (Lu *et al.*, 2011). Kumpulan VCAM-1 juga dapat memproteksi sel kanker terhadap sitokin proapoptosis, contohnya TRAIL. Selain itu, telah terbukti VCAM-1 dapat meningkatkan perkembangan CTCs (*Circulating Cancer Cell*) yang menginfiltrasi tumor mammae (Chen *et al.*, 2011).



Gambar 2.6 Upregulasi PI3K/AKT oleh VCAM-1

2.5 Terapi

Terdapat beberapa terapi yang biasa digunakan untuk terapi kanker, meskipun terdapat banyak efek samping dan kerugian yang dihasilkan. Terapi kanker diantaranya yaitu:

1. Pembedahan: Pembedahan adalah pembuangan tumor dan jaringan sekitar selama operasi. Terapi ini merupakan terapi primer untuk berbagai jenis kanker, dan beberapa kanker dapat dibuang sempurna dengan hanya melalui pembedahan. Pembedahan juga digunakan untuk mengkonfirmasi diagnosis (*surgical biopsy*), melihat perkembangan kanker (*staging*), dan meringankan efek samping (membuang obstruksi untuk meredakan nyeri). Efek samping pembedahan tergantung jenis pembedahan dan kesehatan pasien pasca

bedah. Efek samping umum yaitu nyeri (American Society of Clinical Oncology, 2011).

2. Terapi biologi: Terapi kanker ini bekerja dengan cara membantu sistem imun melawan kanker dengan cara menghentikan atau menghambat pertumbuhan sel kanker dan mencegah penyebaran sel kanker. Terapi biologi dapat berupa tablet atau injeksi, diantaranya adalah BCG/Bacillus Calmette Guerin (kanker vesika urinaria), IL-2 (banyak jenis kanker), Interferon α (banyak jenis kanker), rituxan/rituximab (non-Hodgkin limfoma), dan herceptin/trastuzumab (kanker payudara). Efek samping terapi ini yaitu rash atau bengkak pada tempat injeksi, *flu like symptoms* seperti demam, pucat, nausea, mual, kehilangan nafsu makan, lemas, nyeri tulang, dan nyeri otot, serta terjadi hipotensi (National Cancer Institute, 2004).
3. Kemoterapi: Sejak tahun 1950, banyak kemajuan dalam manajemen kanker dengan kemoterapi. Akan tetapi, lebih dari 50% semua pasien kanker tidak respon terhadap terapi inisiasi atau mengalami relaps setelah respon inisiasi dan mengalami metastasis. Meskipun industri farmasi sudah banyak menemukan obat sitotoksik baru yang poten untuk terapi kanker, penyakit yang mengancam jiwa ini masih menyebabkan kematian hampir tujuh juta tiap tahunnya di dunia, dan jumlahnya akan semakin meningkat. Hal tersebut disebabkan karena pada umumnya kemoterapi diikuti dengan efek samping berat dan menyebabkan resistensi obat (Wu *et al.*, 2006). Efek samping kemoterapi antara lain anemia, perubahan nafsu makan, perdarahan, konstipasi, diare, lemas, rambut rontok, infeksi, perubahan memori, mual dan muntah, kelainan saraf, perubahan seksual dan fertilitas, bengkak, dan kelainan urinasi (National Cancer Institute, 2012).

4. Terapi radiasi: Terapi radiasi merupakan terapi kanker dan penyakit lain yang menggunakan radiasi ionisasi. Radiasi ionisasi mendeposit energi yang merusak sel pada target jaringan dengan merusak material genetik, membuatnya tidak mungkin untuk proliferasi. Sel normal terdekat juga terpengaruh oleh radiasi, akan tetapi dapat berfungsi normal kembali jika radiasi diberikan pada dosis yang tepat dan bertujuan akurat. Terapi ini biasanya melibatkan mesin, seperti mesin kobalt atau linacs untuk menembakkan foton atau elektron dari luar tubuh ke target kanker. Linacs merupakan mesin yang memproduksi foton dan elektron dalam berbagai energi. Tergantung jumlah energinya, foton atau elektron dapat digunakan untuk merusak sel kanker yang dekat dengan permukaan tubuh atau yang lebih dalam. Tidak seperti kemoterapi yang mengekspos semua sel dalam tubuh, terapi radiasi lebih terlokalisasi (International Atomic Energy Agency, 2003). Meskipun demikian, terapi radiasi juga dapat menyebabkan kanker sekunder seperti leukemia, atau berbagai jenis kanker lain setelah minimal 10 tahun pemberian terapi radiasi (American Cancer Society, 2012).
5. Terapi herbal: Tanaman merupakan salah satu sumber obat pilihan dalam mengobati kanker (Jemal *et al.*, 2008). Penemuan senyawa aktif alami dengan aktifitas karsinogenik yang berasal dari tanaman telah dilaporkan. Berbagai tanaman telah digunakan sebagai terapi kanker, contohnya benalu teh, daun *G. procumbens*, dan lain-lain (Sulistyo, 2008; Agustina, 2004).

Hasil-hasil dari perawatan-perawatan medis yang beragam tetap mengecewakan. Selain itu, tidak ada studi perbandingan yang sistematis dari perawatan-perawatan yang berbeda. Sebagai akibatnya, pasien-pasien individual akan menemukan bahwa pilihan-pilihan perawatan yang beragam

yang tersedia pada mereka tergantung sebagian besar pada keahlian tenaga medis lokal (totalkeehatananda.com). Oleh karena itu, terapi herbal perlu dikembangkan, karena memiliki aktifitas antioksidan yang baik untuk penyembuhan kanker (Tsaknis dan Stavros, 2002).

2.6 Kelor (*Moringa oleifera*)

2.6.1 Morfologi

Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki tinggi batang 7-11 meter. Tanaman kelor di pulau jawa sering dimanfaatkan sebagai tanaman pagar karena berkhasiat untuk obat-obatan. Pohon kelor tidak terlalu besar, batang kayunya mudah patah dan cabangnya jarang, tetapi mempunyai akar yang kuat. Tanaman kelor tidak beracun dan ramah lingkungan, di Indonesia kelor dikenal sebagai jenis tanaman sayuran yang mudah dibudidayakan. Buah kelor memiliki bentuk yang memanjang dan bersudut-sudut pada sisinya (Winarno, 2006).

2.6.2 Klasifikasi

Kedudukan tanaman kelor dalam tanaman (taksonomi) dunia tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Hidayat, 2006):

Divisi	: Magnoliophyta	Jenis	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk.
Klas	: Magnoliopsida	Sinonim	: <i>M. pterygosperma</i>
Anak Kelas	: Dilleniidae	Gaertn., <i>M. poygona</i> D.C., <i>Guilandina</i>	
Bangsa	: Capparales	<i>Moringa</i> L.	
Suku	: Moringaceae		
Marga	: Moringa		



Gambar 2.7 Daun dan Bunga Kelor

2.6.3 Manfaat Kelor secara Umum

Tanaman kelor di pulau jawa sering dimanfaatkan sebagai tanaman pagar karena berkhasiat untuk obat-obatan. Tanaman kelor tidak beracun dan ramah lingkungan, di Indonesia kelor dikenal sebagai jenis tanaman sayuran yang sudah dibudidayakan. Daun kelor telah banyak digunakan sebagai pakan ternak seperti sapi dan kambing. Akar kelor sering digunakan sebagai bumbu campuran perangsang nafsu makan (Winarno, 2006).

Kelor merupakan sumber protein A, protein B, protein C, sumber protein, kalsium, zat besi, sebagai obat-obatan, bahan baku pembuatan sabun dan kosmetik, dan juga dapat dimanfaatkan sebagai penjernih air. Tanaman kelor merupakan tanaman yang mempunyai kasiat sebagai obat-obatan mulai dari akar, batang, daun dan bijinya sudah dikenal sejak lama di lingkungan pedesaan. Daun kelor juga dapat digunakan sebagai pupuk hijau (Suriawiria, 2005).

2.6.4 Kandungan Kelor

Tabel 2.2 Perbandingan Nilai Nutrisi pada Bagian Tanaman *Moringa oleifera* per 100 gram (Fuglie, 2008)

Per 100 gram	Biji	Daun	Tepung daun
Kadar Air (%)	86.9	75.0	7.5
Calori	26	92	205
Protein (g)	2.5	6.7	27.1
Lemak (g)	0.1	1.7	2.3
Carbohydrate (g)	3.7	13.4	38.2
Fiber (g)	4.8	0.9	19.2
Minerals (g)	2.0	2.3	-
Ca (mg)	30	440	2,003
Mg (mg)	24	24	368
P (mg)	110	70	204
K (mg)	259	259	1,324
Cu (mg)	3.1	1.1	0.57
Fe (mg)	5.3	7	28.2
S (mg)	137	137	870
Oxalic acid (mg)	10	101	1.6%
Vitamin A - B carotene (mg)	0.11	6.8	16.3
Vitamin B -choline (mg)	423	423	-
Vitamin B1 -thiamin (mg)	0.05	0.21	2.64
Vitamin B2 -riboflavin (mg)	0.07	0.05	20.5
Vitamin B3 -nicotinic acid (mg)	0.2	0.8	8.2
Vitamin C -ascorbic acid (mg)	120	220	17.3
Vitamin E -tocopherol (mg)	-	-	113
Arginine (g/16g N)	3.6	6.0	1.33%
Histidine (g/16g N)	1.1	2.1	0.61%
Lysine (g/16g N)	1.5	4.3	1.32%
Tryptophan (g/16g N)	0.8	1.9	0.43%
Phenylalanine (g/16g N)	4.3	6.4	1.39%
Methionine (g/16g N)	1.4	2.0	0.35%
Threonine (g/16g N)	3.9	4.9	1.19%
Leucine (g/16g N)	6.5	9.3	1.95%
Isoleucine (g/16g N)	4.4	6.3	0.83%
Valine (g/16g N)	5.4	7.1	1.06%

2.6.5 Kandungan Gizi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan gizi yang terdapat didalam tanaman kelor seperti tersaji pada tabel 2.3 (Therik dkk, 2009).

Tabel 2.3 Hasil Pemeriksaan Kandungan Zat Gizi Kelor per 100 gram**Tepung Daun (Therik, 2008)**

Parameter	Satuan	Kelor Merah	Kelor Hijau
Protein	%	23,68	27,02
Karbohidrat	%	25,89	27,33
Lemak	%	1,04	1,97
Besi (Fe)	Ppm	13,86	10,74
Fosfor (P)	Ppm	1,29	1,34
Seng (Zn)	Ppm	16,473	23,643
Kalium (K)	Ppm	88.884,27	93.274,34
Cuprum (Cu)	Ppm	12,428	14,086
Serat / Fiber	Ppm	32,73	36,08
Kalsium (Ca)	Ppm	10.468,19	10.619,47
Vitamin A	Gram/100gr		19,65
Vitamin C	Gram/100gr		9,07
Vitamin B1	Gram/100gr		8,03
Vitamin B2	Gram/100gr		8,53
Vitamin B3	Gram/100gr		8,67

2.6.6 Antioksidan pada Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

2.6.6.1 Flavonoid

Flavonoid dilaporkan memiliki efek farmakologis dan biokimia yang luas, meliputi antioksidan, antiinflamasi, antiplatelet, antitrombotik, dan antiinflamasi (Miean *et al.*, 2001). Pada sayuran, glikosida quercetin menonjol, dan glikosida kaemferol ditemukan dalam jumlah yang banyak. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa beberapa glikosida tersebut terdeteksi pada daun *Moringa oleifera* (Bennet *et al.*, 2003; Miean *et al.*, 2001). Hal ini juga dilaporkan oleh Coppin tahun 2008 melalui metode analisis kualitatif, diperoleh bahwa pada daun *M.oleifera* ditemukan flavonoid dalam jumlah besar, yang terdiri dari quercetin, kaemferol, malonilglikosida, asetilglikosida, dan suksinilglikosida, dengan jumlah terbesar yaitu glikosida quercetin dan kaemferol yaitu 0.066-1.62% pada quercetin dan 0.054-6.73% pada kaemferol.

Tabel 2.4 Aktivitas antiradikal senyawa turunan flavon dan flavonol**(Bennett *et al.*, 2003)**

No	Senyawa flavon/flavonol	Aktivitas antiradikal (% A)
1	Kaempferol	93.5
2	Galangin	91.8
3	Quercetin	89.8
4	Morin	96.5
5	Robinetin	82.3
6	Fisetin	79.0
7	3-hidroksiflavan	66.0
8	Laritrin	84.6
9	Mirisetrin	72.8
10	3,5,7,3',4',5'-pentametoksiflavan	12.6
11	7-hidroksiflavan	2.8
12	Flavan	1.5
13	5-hidroksiflavan	0.6
14	Krisin	1.1
15	8-metoksiflavan	0.7
16	Apigenin	0.7

2.6.6.2 Quercetin

Quercetin merupakan antioksidan kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial (Boyer *et al.*, 2005). Quercetin dapat ditemukan pada plasma nonsuplementasi manusia pada konsentrasi antara 0.5-13 IM (Violi *et al.*, 2002). Hal ini menunjukkan bahwa glikosida quercetin dipecah selama absorpsi di usus besar, namun intak glikosida dapat diabsorpsi di usus halus (Murota *et al.*, 2003). Setelah absorpsi, aglikon dengan cepat berkonjugasi untuk membentuk glukoronid (Day *et al.*, 2000). Bukti lebih lanjut menunjukkan bahwa flavonol glukoronid didekonjugasi oleh glukoronidase selama absorpsi sel hepar, dengan demikian aglikon quercetin dan kaempferol mencapai level seluler (O'Leary, 2001).

Data sebelumnya melaporkan bahwa terdapat sejumlah peran potensial quercetin dalam pencegahan kanker. Efek kemopreventif quercetin ditunjukkan pada tikus dengan terapi azomethane, dimana fokal area displasia pada mukosa

kolon berkurang dengan diet quercetin (Yang *et al.*, 2000). Quercetin menurunkan hiperproliferasi kolon dan displasia pada tikus dengan terapi azomethanol (Deschner *et al.*, 1991) dan menghambat jumlah tumor mammae pada tikus dengan terapi N-nitrosomethylurea (Verma *et al.*, 1988). Quercetin dapat menurunkan ekspresi TNF- α yang mempengaruhi aktivitas *binding* NFkB yang merupakan penyebab teraktivasinya molekul adesi VCAM-1 (Winterborne *et al.*, 2009; Crespo *et al.*, 2008). Quercetin juga dapat menghambat aktivitas ROS (Gibellini, 2010). Pada penelitian lain disebutkan, quercetin dapat menghambat dan menurunkan kadar VCAM-1 (Crespo *et al.*, 2008; Tribolo *et al.*, 2007).

2.6.6.3 Kaempferol

Kaempferol adalah flavonoid yang banyak terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran, di antaranya teh, brokoli, anggur, apel, dan juga kelor. Kaempferol memiliki efek kemoprotektif dan terapi yang potensial pada banyak macam kanker (Lou *et al.*, 2010). Sebagai salah satu jenis flavonoid, kaempferol juga berpengaruh terhadap proliferasi sel, namun kurang banyak dilaporkan. Kaempferol menurunkan proliferasi sel pada sel melanoma manusia dan sel kanker prostat dan menghambat pertumbuhan sel pada kanker sel prostat dengan menghambat fosforilasi tirosin (Knowles *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 1998; Cassagrande *et al.*, 2001). Kaempferol menunjukkan penghambatan yang poten terhadap aktifitas generasi ROS dan menurunkan kadar VCAM-1 melalui penghambatan aktivitas NFkB (Piao, Mei Jing., 2011; Kim *et al.*, 2010). Pada penelitian lain disebutkan, kadar VCAM-1 menurun akibat efek pemberian flavonol kaempferol (Crespo *et al.*, 2008).

2.6.6.4 Kombinasi Quercetin dan Kaempferol

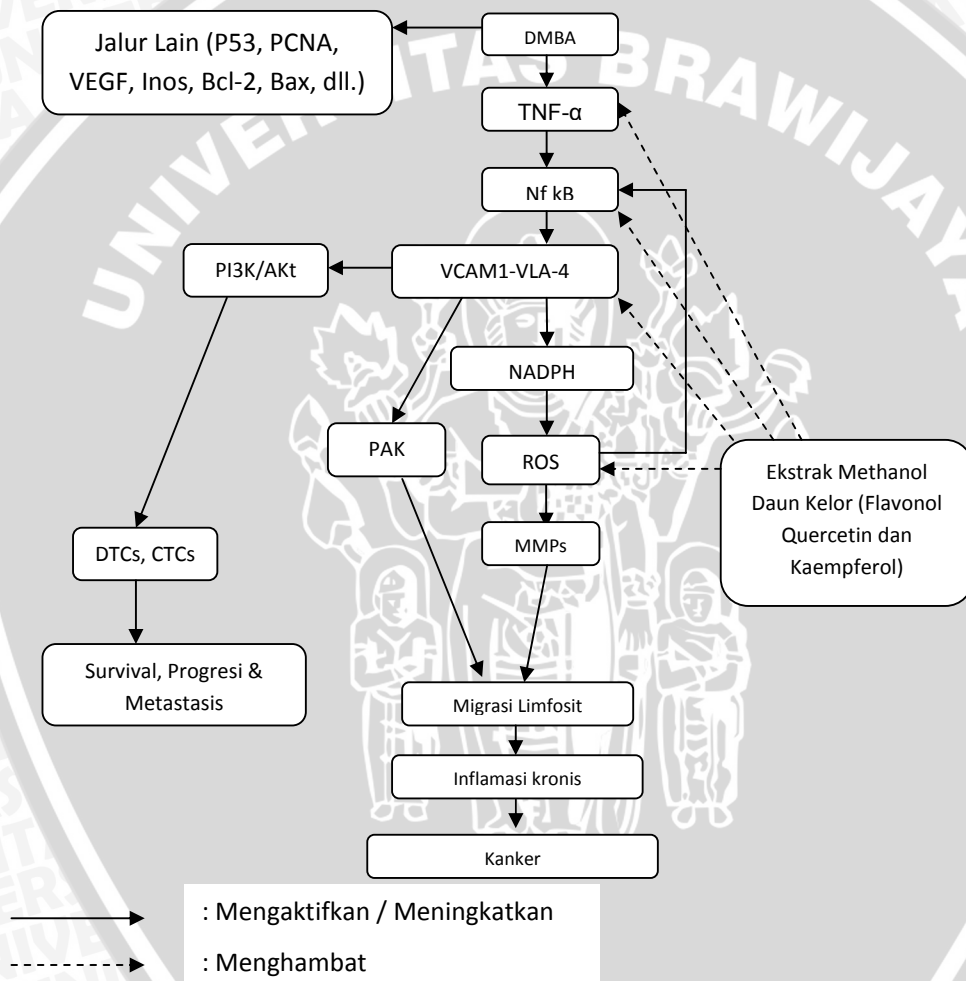
Penurunan insiden kanker secara *in vivo* bukan hanya karena satu jenis flavonoid saja, melainkan adanya sinergisitas antara beberapa flavonoid yang dikonsumsi dalam waktu yang sama. Pada studi terdahulu, dilaporkan adanya sinergisitas dan respon tambahan antara dua flavonoid, yaitu quercetin dan kaempferol, pada proliferasi sel usus dengan *cancer cell line* Caco-2 dan HuTu-80 dan PMC42 pada karsinoma payudara (Ackland *et al.*, 2005).

Kombinasi flavonoid, quercetin dan kaempferol, lebih efektif dalam menurunkan proliferasi sel dibandingkan penggunaannya secara tunggal. Aksi antiproliferasi kombinasi quercetin dan kaempferol bervariasi pada *cell line* yang berbeda. Proliferasi *cell line* kolon CaCo-2 lebih terhambat secara signifikan dibandingkan HuTu-80 dan *cell line* kanker payudara, PMC42. Efek kedua flavonoid pada penelitian ini adalah pengeblokan siklus sel setelah sintesis protein dan lebih mengarah pada fase mitosis. Kombinasi ini efektif menghambat xanthine oxidase, menurunkan ekspresi antigen proliferasi nukleus Ki67 dan menurunkan total level protein (Ackland *et al.*, 2005). Pada penelitian lain dilakukan perbandingan efek pemberian quercetin dan kaempferol terhadap berbagai molekul adhesi dan NFkB. Hasilnya, efek kaempferol lebih kuat dibandingkan quercetin dalam menurunkan kadar VCAM-1. Sedangkan penurunan NFkB lebih kuat terjadi akibat efek quercetin dibandingkan dengan kaempferol (Crespo *et al.*, 2008). Oleh karena itu, hasil pemberian quercetin dan kaempferol kombinasi dilaporkan lebih bagus dikarenakan efeknya yang sinergis.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Tikus diinduksi DMBA (7,12 dimethylbenz α anthracene) terlebih dahulu, sehingga terjadi berbagai jalur yang mengakibatkan terjadinya kanker seperti

peningkatan ekspresi p53, PCNA, VEGF, Inos, Bcl-2, dan penurunan Bax (Pugalendhi dan Manoharan, 2010). DMBA juga diketahui dapat menyebabkan peningkatan ROS (Pugalendhi dan Manoharan, 2010). Peningkatan ROS juga banyak dilaporkan sebagai penyebab kanker (Waris dan Haseeb, 2006; Cho dan Vishnudutt, 2006).

Terjadinya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam tubuh yang disebabkan karena induksi bahan karsinogen seperti DMBA berasal dari mekanisme induksi molekul adesi. Pada saat DMBA yang merupakan karsinogen dikenali sebagai antigen, maka terjadi peningkatan TNF- α sebagai respon inflamasi pertama (Suganuma *et al.*, 1999). Peningkatan TNF- α mengaktifasi NFkB sehingga terjadi aktivasi VCAM-1 yang merupakan salah satu molekul adesi (Aggarwal *et al.*, 2006). Stimulasi VCAM-1 mengaktifkan NADPH oksidase sehingga dapat mengkatalisa pelepasan *reactive oxygen spesies* (ROS) dan aktivasi PAK pada sel endotel sehingga terjadi restrukturisasi aktin. ROS yang dilepaskan berlebihan menyebabkan aktivasi MMPs yang berperan pada migrasi limfosit (Deem *et al.*, 2004; Wittchen, 2009). Selain mengaktifkan MMPs, ROS juga dapat memediasi NFkB. Hal ini dapat menyebabkan suatu siklus yang terus menerus terhadap aktivasi NFkB sehingga karsinogenesis terus berlanjut (Packer, 1999). Perubahan struktur pada aktin sel endotel menyebabkan migrasi limfosit semakin permisif sehingga menyebabkan inflamasi kronis pada kanker (Wittchen, 2009).

Selama transmigrasi leukosit, VCAM-1 pada sel endotel dapat berkomunikasi dengan protein sitoplasmik Ezrin dan Moesin, dan memicu aktivasi Rac1 (Barreiro *et al.*, 2002; Van Wetering *et al.*, 2003). VCAM-1 memediasi fosforilasi Ezrin, ikatan AKt dengan Ezrin, dan fosforilasi AKt pada

TORC2 bagian S473 yang mengaktivasi sinyal prosurvival (Chuan *et al.*, 2006; Krieg and Hunter, 1992). Oleh karena itu, ikatan leukosit dengan VCAM-1 dapat memperkuat aktivasi jalur PI3K/Akt pada *microenvironment* yang buruk selama tahap inisiasi dan adaptasi DTCs (*Disseminated Cancer Cell*) pada lokasi yang baru (Chen *et al.*, 2011). VCAM-1 memiliki peran penting dalam dormansi DTCs, memproteksi sel kanker terhadap sitokin proapoptosis, contohnya TRAIL, dan dapat meningkatkan perkembangan CTCs (*Circulating Cancer Cell*) (Chen *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011).

Ekstrak methanol daun kelor mengandung berbagai flavonoid, dengan konsentrasi terbanyak yaitu quercetin dan kaempferol. Quercetin dan kaempferol dikenal sebagai antioksidan kuat. Quercetin dan kaempferol dapat menurunkan kadar TNF- α , NFkB, menghambat aktivitas ROS dan menurunkan VCAM-1 (Winterborne *et al.*, 2009; Crespo *et al.*, 2008; Gibellini, 2010; Tribolo *et al.*, 2007; Piao, Mei Jing., 2011; Kim *et al.*, 2010).

Dengan demikian, pemberian daun kelor yang mengandung quercetin dan kaempferol diharapkan dapat menyebabkan penurunan kadar VCAM1 sehingga adesi limfosit menurun, inflamasi kronik menurun agar tidak terjadi kanker.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh terhadap kadar VCAM1 pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) wistar yang diinduksi DMBA (7,12 dimethylbenzene α anthracene).

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana (*post test control group design*) dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok (I sampai dengan V) secara random. Tiap kelompok terdiri dari 6 tikus. Kelompok I adalah tikus yang tidak diberi diet mengandung DMBA (kontrol negatif), kelompok II tikus diberi diet mengandung DMBA saja (kontrol positif), sedangkan kelompok III sampai dengan V (3 kelompok) diberi diet mengandung DMBA dengan ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam berbagai dosis.

4.2 Binatang Coba

4.2.1 Binatang Coba, Objek dan Teknik Randomisasi

Binatang coba dalam penelitian ini adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* galur wistar yang dipelihara di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang dijaga kebersihannya.

Objek penelitian yang dipakai adalah tikus wistar jenis kelamin jantan, dewasa dengan umur ± 2 bulan. Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau *Randomized Completely Design* (RCD) mengingat baik hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya dapat diasumsikan homogen. Pada

rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapat kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok perlakuan maupun dalam kelompok kontrol.

4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan

Dalam penelitian ini terdapat 5 perlakuan, maka jumlah binatang coba untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus $[(np-1) - (p-1)] \geq 16$ dengan n = jumlah pengulangan tiap perlakuan; p = jumlah perlakuan. Dari sejumlah sampel ini akan diuji dengan level signifikansi 95%.

$$[(np-1) - (p-1)] \geq 16$$

$$[(5n-1) - (5-1)] \geq 16$$

$$(5n-1) - 4 \geq 16$$

$$(5n-1) \geq 20$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4.2$$

Dari rumus tersebut, jika banyak perlakuan adalah 5 maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan adalah 4. Jadi untuk 5 kelompok dibutuhkan sebanyak 20 tikus (Solimun, 2001). Untuk menghindari berkurangnya tikus akibat kondisi yang memburuk (sakit/meninggal selama penelitian), maka tiap kelompok ditambahkan dua ekor tikus dengan perlakuan yang sama dengan tiap kelompoknya.

4.2.3 Kriteria Inklusi

1. Strain Wistar
2. Umur 2 bulan

3. Berat badan ± 200 gr
4. Jenis kelamin jantan
5. Dalam keadaan sehat selama penelitian

4.2.4 Kriteria Eksklusi

Tikus yang selama penelitian tidak mau makan, tikus yang kondisinya menurun, sakit dalam masa persiapan atau aklimatisasi.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian per oral ekstrak metanol daun kelor dengan dosis 20, 40, 80 mg. Pemberian per oral ekstrak metanol daun kelor dengan sonde dilakukan selama 60 hari (Parvathy dan Umamaheswari, 2007).

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar VCAM-1 pada serum. Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkontrol dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi:

1. Kriteria inklusi
2. Pemberian diet DMBA
3. Kondisi lingkungan kandang
4. Pemberian per oral ekstrak methanol daun kelor dengan sonde

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Eksperimen ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Desember 2011 sampai dengan Maret 2012.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

1. Alat Pemeliharaan Binatang Coba

Kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat menaruh kandang. Satu kandang berisi satu ekor tikus.

2. Alat Pembuat Makanan Binatang Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur.

3. Alat Ekstraksi Methanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Gelas ukur, pipet tetes, batang pengaduk, *beaker glass*, maserator, kapas, alumunium foil, seperangkat alat *rotary evaporator*, cawan penguap, timbangan air, mortir dan stamper, seperangkat alat hidroler, corong pisah.

4. Alat Pengambilan Sampel

Seperangkat alat bedah, spuit 5 ml, seperangkat tabung reaksi, kapas.

5. Alat Pemeriksaan kadar VCAM1 adalah *ELISA*.

4.5.2 Bahan Penelitian

1. Bahan Makanan Tikus

Pakan tikus dewasa per ekor per hari adalah 50 gram. Dalam penelitian ini terdapat satu macam pakan tikus yaitu diet normal untuk kelima kelompok perlakuan. Adapun komposisi pakan normal akan dijelaskan sebagai berikut.

Pakan normal yang terdiri dari *comfeed* PARS 53% (dengan kandungan air 12 %, protein 11 %, lemak 4 %, serat 7 %, abu 8 %, Ca 1,1 %, fosfor 0,9 %, antibiotika, coccidiostat 53 %) dan tepung terigu 23,5 %, dan air 23,5 %.

2. Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

Bahan ekstraksi menggunakan 42 gram dari tepung daun kelor (*Moringa oleifera*).

3. Bahan Pemeriksaan ELISA

Serum, antibodi VCAM1, ELISA.

4.6 Definisi Operasional

1. Pemberian per oral ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*)

Perlakuan (Intervensi) adalah pemberian suplementasi ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) 0, 20, 40, 80 mg/hari dengan cara dimasukkan per oral dengan sonde (Parvathy and Umamaheswari, 2007). Pengekstrakan methanol daun kelor dilakukan oleh Laboran Faal.

2. DMBA

DMBA merupakan karsinogen yang cukup poten pada hewan pengerat dan secara luas telah digunakan untuk menginduksi terjadinya kanker (Constantinou *et al.*, 2003). DMBA diperoleh dari Laboratorium Fisiologi FKUB. Tikus wistar diberi 10 mg/hari 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) per oral (sonde) selama 30 hari.

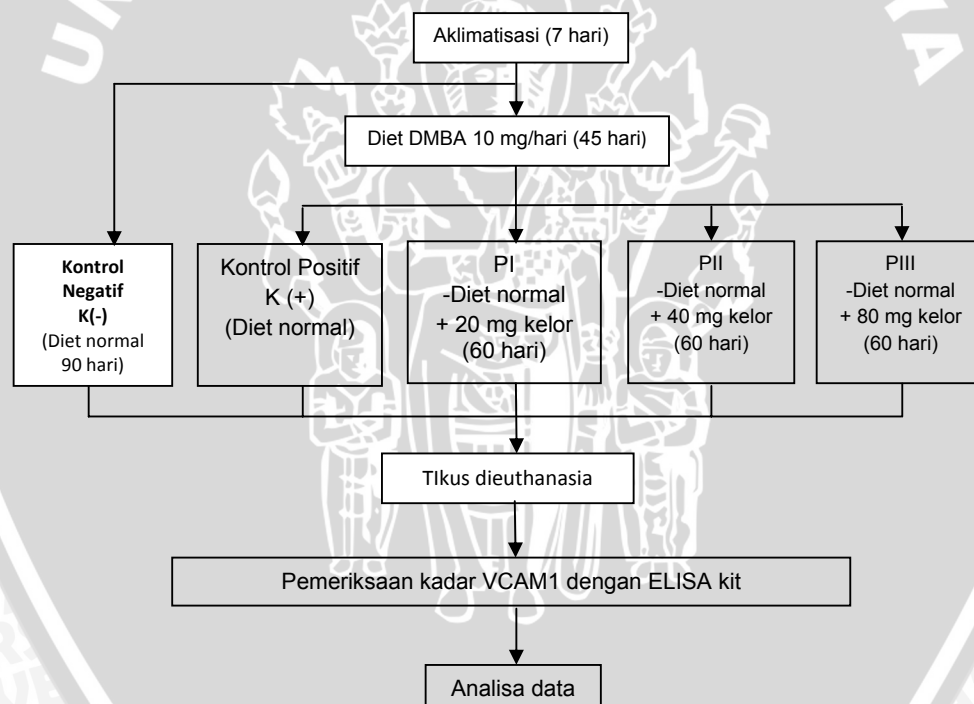
3. Kadar VCAM1 dalam serum

VCAM-1 merupakan glikoprotein yang termasuk suatu molekul adesi yang berfungsi untuk migrasi limfosit dan berperan dalam proses metastasis.

Ekspresi CAMs pada limfosit dan sel endotel vaskuler berperan pada perjalanan limfosit untuk respon imun (Ding *et al.*, 2003). Antibodi VCAM-1 didapatkan dari Laboratorium Fisiologi FKUB. Kadar VCAM1 pada setiap kelompok diukur dengan metode ELISA.

4.7 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh pengetahuan mengenai efek ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar VCAM1 dalam serum tikus (*Rattus norvegicus*) wistar dengan diet mengandung DMBA. Alur penelitian dapat dijelaskan melalui bagan berikut.



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7.1 Prosedur Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Metode ekstraksi yang digunakan untuk daun kelor ini adalah metode maserasi. Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara

merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, pelarut akan masuk ke dalam sel dari tanaman melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dandi dalam sel. Selama proses maserasi (biasanya berkisar 2-14 hari) dilakukan pengadukan/ pengocokan dan penggantian pelarut setiap hari. Pengocokan memungkinkan pelarut segar mengalir berulang-ulang masuk ke seluruh permukaan simplisia yang sudah halus. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15° - 20° C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut, melarut (Ansel, 1989). Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain – lain (Indri, 2012). Kombinasi pelarut methanol dan air dengan perbandingan 9:1 dan diremaserasi dengan pelarut methanol: air 1:1. Langkah-langkah dalam ekstraksi daun kelor ini antara lain (Pradipta, 2005):

1. Daun kelor didapatkan sudah dalam bentuk serbuk kecil (serbuk simplisia) dari Kota Batu.
2. Serbuk simplisia daun kelor ditimbang sebanyak 42 gram kemudian ditempatkan pada maserator yang sudah dialasi dengan kapas.
3. Pelarut methanol:air dimasukkan ke dalam maserator sebanyak 3 liter dengan perbandingan 9:1. Dari 0.1 gram ekstrak kering, dilarutkan dalam

50ml larutan methanol 50%. Proses maserasi ini dibiarkan selama 24 jam dengan beberapa kali dilakukan pengadukan dengan *shaker*.

4. Setelah 24 jam, maserat dikeluarkan dan ditampung, kemudian dilakukan remaserasi menggunakan pelarut methanol:air dengan perbandingan 9:1.
5. Setelah 24 yang kedua, maserat dikeluarkan dan ditampung.
6. Setelah itu, pelarut methanol:air dimasukkan kembali ke dalam maserator dengan perbandingan 1:1 dan dibiarkan selama 24 jam dengan beberapa kali pengadukan.
7. Setelah 24 yang ketiga, maserat dikeluarkan dan ditampung.
8. Seluruh hasil penampungan pelarut dicampurkan dan dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak pekat dengan menggunakan *rotary evaporator*.
9. Hasil ekstrak kemudian disimpan pada suhu 4°C.

4.7.2 Aklimatisasi

Selama proses aklimatisasi, semua kelompok tikus diberi pakan standar (normal) yang terdiri dari *comfeed* PARS dan air. Masing-masing tikus mendapatkan 50 gram dari campuran bahan tersebut dan diberikan secara *ad libitum*.

4.7.3 Tikus yang diinduksi DMBA

Tikus wistar diberi 10 mg/hari 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) per oral (sonde). Pemberian DMBA dilakukan selama 30 hari. Setelah 30 hari, 1 ekor tikus yang diberi DMBA tanpa ekstrak *Moringa oleifera* dieuthanasia untuk melihat adanya perkembangan karsinogenesis pada serum tikus.

4.7.4 Perlakuan

4.7.4.1 Pemeliharaan

Dalam masa ini, kelima kelompok tikus mendapat perlakuan yang berbeda. Untuk kelompok I (kontrol negatif), tikus hanya diberi pakan normal (standar) saja. Kelompok perlakuan II hingga V diberi diet DMBA sebanyak 10 mg/hari dengan sonde. Selain itu, kelompok II diberi diet normal tanpa pemberian ekstrak methanol daun kelor. Sedangkan, kelompok III diberi ekstrak methanol daun kelor per oral dengan dosis 20 mg/ml dengan sonde + diet normal. Kelompok IV diberi ekstrak methanol daun kelor per oral dengan dosis 40 mg/ml + diet normal. Kelompok V diberi ekstrak methanol daun kelor per oral dengan dosis 80 mg/ml + diet normal. Semua pakan di atas diberikan selama 60 hari.

4.7.4.2 Pembedahan

Pemeriksaan kadar VCAM-1 dalam serum tikus wistar pada eksperimen ini memerlukan serum darah. Penelitian ini merupakan penelitian payung, yang meneliti efek ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) pada tikus wistar model kanker kolon dan hepar dengan parameter yang berbeda-beda. Karena itu, setelah 60 hari pemberian ekstrak metanol daun *Moringa oleifera* per oral, tikus dieuthanasia dengan cara pembiusan eter. Kemudian abdomen dibuka, setelah itu darah diambil diambil untuk dijadikan serum dan diperiksa jumlah kadar VCAM-1. Setelah penelitian, tikus dikuburkan di tempat yang aman oleh petugas laboratorium.

4.7.5 Pemeriksaan kadar VCAM1 dengan ELISA

Pemeriksaan serum dilakukan menggunakan teknik imunoserologis dengan metode ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*). *Enzim-linked immunosorbent assay* (ELISA) atau dalam bahasa indonesianya disebut sebagai uji penentuan kadar imunosenen taut-enzim, merupakan teknik pengujian serologi yang didasarkan pada prinsip interaksi antara antibodi dan antigen (Hausmann *et al.*, 2007).

Rangkaian kerja metode ELISA sebagai berikut (Jibril, 2012):

1. 10µL antigen ditambah coating buffer dengan perbandingan 1:9
2. Pemasukan *coating antigen* dalam sumuran *plate* ELISA dan diinkubasi semalam pada suhu 4°C
3. Pencucian dengan PBS-Tween sebanyak 3 kali
4. Penambahan 100µL antibody primer dalam larutan PBS-BSA 1% dengan perbandingan 1:500 dan diinkubasi 2 jam
5. Pencucian dengan PBS-Tween sebanyak 3 kali
6. Penambahan 100µL antibody sekunder dalam tris buffer salin dengan perbandingan 1:2500 dan diinkubasi 1,5 jam.
7. Pencucian dengan PBS-Tween sebanyak 2 kali
8. Penambahan 50µL substrat pNPP
9. Inkubasi 30 menit pada suhu ruang.
10. *Stop reaction* dengan NaOH 1 N 50µL.
11. Diukur absorbansinya pada 450nm dengan *ELISA reader*.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif yaitu;

1. Uji normalitas data menunjukkan bahwa sebaran data penelitian ini normal ($p > 0,05$).
2. Uji homogenitas varian yang menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki varian yang homogen ($p > 0,05$). Karena data normal dan homogen, analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.
3. Uji *One-way* ANOVA didapatkan nilai rata-rata kadar VCAM1 dari kelima populasi memang berbeda ($p < 0,05$). Dengan demikian terdapat minimal 2 kelompok yang berbeda signifikan.
4. Analisis data kemudian dilakukan dengan *Post Hoc test* (uji Tuckey HSD), uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji Tuckey HSD dengan tingkat kemaknaan 95% ($p < 0,05$).
5. Untuk melengkapi analisis yang dilakukan, digunakan uji *Homogenous Subsets*. Uji ini menunjukkan bahwa terdapat 3 subset yang didapatkan pada data, dan dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara subset sesuai hasil uji *Tukey*.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Pada penelitian ini didapatkan hasil data untuk masing-masing kelompok perlakuan. Terdapat lima macam perlakuan, yaitu kelompok 1 adalah tikus diberi diet normal saja selama 105 hari (kontrol negatif); kelompok 2 tikus diberi diet normal dan 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) selama 45 hari (kontrol positif), selanjutnya diet normal tanpa ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*); sedangkan kelompok 3 sampai dengan 5 (tiga kelompok: P-1, P-2, dan P-3) diberi diet normal dan 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) selama 45 hari, selanjutnya diberi asupan ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan dosis berbeda (20, 40 dan 80 mg/hari) secara per oral dengan sonde setiap hari sekali selama 60 hari.

Pengukuran kadar VCAM-1 dilakukan terhadap kelompok 1-5 dengan menggunakan metode ELISA dari serum darah tikus Wistar yang diinduksi DMBA. Hasil rata-rata kadar VCAM-1 serum dilakukan terhadap masing-masing kelompok perlakuan ditampilkan pada gambar 5.1. Rata-rata pada masing-masing perlakuan dihitung dengan cara menjumlahkan semua kadar VCAM-1 serum pada masing-masing kelompok perlakuan dibagi dengan jumlah sampel pada masing-masing kelompok perlakuan. Dari enam sampel yang didapat, hanya empat sampel yang diambil karena jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 4.

Tabel 5.1 Rerata kadar VCAM-1 Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) dalam 5 Kelompok Perlakuan Induksi DMBA dan Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Berbagai Dosis

kadar			
perlakuan	Rerata	N	Std. Deviation
Knegatif	.6318	4	.04134
Kpositif	.8655	4	.16345
P-1	.7970	4	.11027
P-2	.5678	4	.02488
P-3	.6962	4	.08617
Total	.7116	20	.14124

5.2 Analisis Data

Rata-rata kadar VCAM-1 serum kelompok 1 (kontrol negatif) sebesar $0,63 \pm 0,04$ ng/ml. Rata-rata kadar VCAM-1 serum kelompok 2 (kontrol positif) sebesar $0,87 \pm 0,16$ ng/ml. Rata-rata kadar VCAM-1 serum kelompok yang diberi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) selama 45 hari, dan juga diberi asupan ekstrak methanol daun Kelor (*Moringa oleifera*) selama 60 hari sebesar 20 mg/hari (Kelompok III/P-1) sebesar $0,80 \pm 0,11$ ng/ml. Rata-rata kadar VCAM-1 serum kelompok diberi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) selama 45 hari, dan juga diberi asupan ekstrak methanol daun Kelor (*Moringa oleifera*) 40 mg/hari (Kelompok IV/P-2) sebesar $0,57 \pm 0,02$ ng/ml. Rata-rata kadar VCAM-1 serum kelompok diberi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) selama 45 hari, dan juga diberi asupan ekstrak methanol daun Kelor (*Moringa oleifera*) 80 mg/hari (Kelompok V/P-3) sebesar $0,70 \pm 0,09$ ng/ml. Dari gambar 5.2 terlihat rata-rata kadar VCAM-1 serum terendah terdapat pada kelompok IV (P-2) yaitu sebesar

0,57 $\pm$ 0,02 ng/ml. Sedangkan rata-rata kadar VCAM-1 serum tertinggi terdapat pada kelompok II (kontrol positif) sebesar 0,87 $\pm$ 0,16 ng/ml.

Data yang didapatkan dari hasil penelitian “Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar VCAM-1 Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar yang diinduksi *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA)” dianalisis dengan menggunakan program komputer SPSS 16 untuk Windows XP. Rata-rata kadar VCAM-1 serum berdasarkan gambar 5.2 menunjukkan bahwa pada kelompok P-1, P-2, dan P-3 memiliki kadar VCAM-1 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok II (kontrol positif) ($p=0,004$).

Hasil penelitian tersebut diuji dengan uji normalitas data dan homogenitas varian, seperti tersusun dalam lampiran 3 dan 4. Untuk menguji normalitas distribusi data digunakan Shapiro-Wilk. Didapatkan bahwa distribusi data hasil penelitian ini adalah normal. Sedangkan untuk menguji homogenitas varian digunakan *Levene test*. Dari hasil *Levene test* tampak bahwa data berasal dari populasi-populasi yang memiliki varian sama ($p=0,167$). Oleh karena data hasil penelitian memiliki distribusi normal, dan varian yang homogen, dapat dilakukan pengujian *One-way ANOVA*.

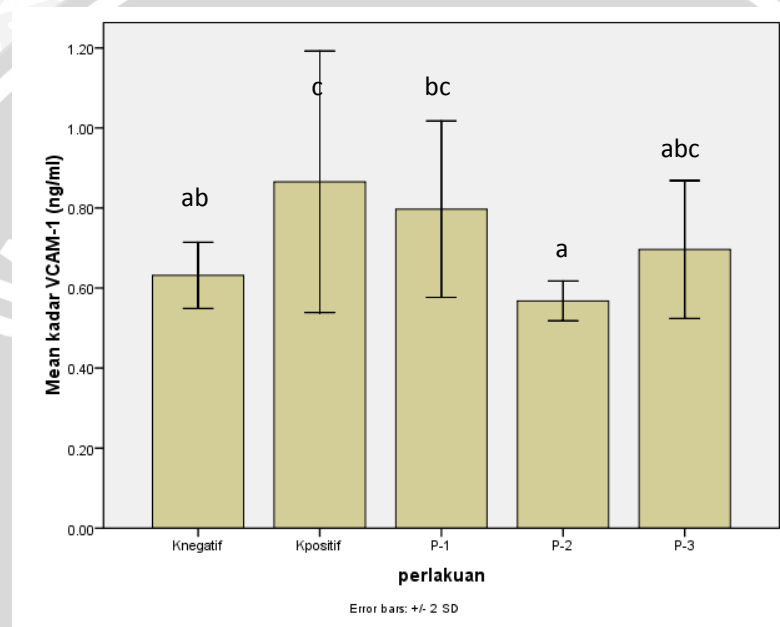
Uji ANOVA (Analysis of Variance) (Lampiran 5) dilakukan untuk menguji apakah keempat sampel memiliki rata-rata (*mean*) yang sama. Dari hasil tes tersebut didapatkan nilai rata-rata VCAM-1 dari kelima populasi memang berbeda ($p=0,004$). Dengan demikian terdapat minimal 2 kelompok yang berbeda signifikan.

Analisis dilanjutkan dengan *Post hoc test (Least Significant Difference)* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara

signifikan dari hasil tes ANOVA. Pada analisis ini digunakan *Tukey HSD test* (Lampiran 6).

Dari hasil *Tukey HSD test* terdapat perbedaan kadar VCAM-1 serum tikus secara nyata antara kelompok I (kontrol negatif) dengan kelompok II (kontrol positif) ($p=0,030$), serta kelompok II (kontrol positif) dengan IV (45 hari diet normal + pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari dan 60 hari diet normal + 40 mg/ml kelor) ($p=0,005$). Perbedaan kadar VCAM-1 serum tikus juga terjadi secara signifikan antara kelompok III (P-1) (45 hari diet normal pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 20 mg/ml kelor) dengan kelompok IV (P-2) (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 40 mg/ml kelor) ($p=0,034$). Sedangkan analisis antara kelompok I dengan kelompok III (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 20 mg/ml kelor) ($p=0,177$), IV (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 40 mg/ml kelor) ($p=0,886$) dan V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) ($p=0,883$) tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Analisis antara kelompok II (kontrol positif) dengan III (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 20 mg/ml kelor) ($p=0,859$) dan V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) ($p=0,161$) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Begitu pula, terjadi perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok III (45 hari diet normal + pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari dan 60 hari diet normal + 20 mg/ml kelor) dan V (45 hari pemberian

dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) ($p=0,610$) serta antara kelompok IV (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 40 mg/ml kelor) dan V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) ($p=0,387$).



Gambar 5.1 Grafik Hubungan Antar Kelompok Perlakuan Kadar VCAM-1 Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) dalam 5 Kelompok Perlakuan Induksi DMBA dan Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Berbagai Dosis Knegatif dan Kpositif memiliki perbedaan yang signifikan. P-1 dan P-2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak methanol daun kelor menurunkan kadar VCAM-1 seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Pada P-3 terjadi peningkatan kadar VCAM-1 dengan dosis ekstrak methanol daun kelor 80mg/dl. Dosis efektif terletak pada PII. Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Keterangan: KNegatif (105 diet normal); KPositif (45 hari diet normal dan DMBA, serta 0 mg/hari ekstrak kelor); P-1 (45 hari diet normal dan DMBA, serta 60 hari 20mg/hari kelor); P-2 (45 hari diet normal dan DMBA, serta 60 hari 40mg/hari kelor); P-3 (45 hari diet normal dan DMBA, serta 60 hari 80 mg/hari ekstrak kelor). Notasi *Homogenous Subsets*; A: Subset A, B: Subset B, C: Subset C.

Untuk melengkapi hasil dari uji *Tukey* digunakan *Homogeneous Subsets* yang digunakan untuk mencari grup atau subset mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata (*Mean Difference*) yang tidak berbeda secara signifikan. Pada subset 1 menunjukkan tiga kelompok, yaitu kelompok I (kontrol negatif), IV (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 40 mg/ml kelor), dan V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) tidak memiliki perbedaan yang signifikan satu dengan yang lain. Pada subset 2 terdapat tiga kelompok, yaitu kelompok I (kontrol negatif), III (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 20 mg/ml kelor), dan V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor) tidak memiliki perbedaan yang signifikan satu dengan yang lain. Sedangkan pada subset 3 terdapat tiga kelompok, yaitu kelompok II (kontrol positif), Kelompok III (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 20 mg/ml kelor), dan kelompok V (45 hari pemberian *dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA) 10 mg/hari + 60 hari diet normal dan 80 mg/ml kelor). Namun dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara subset sesuai hasil uji *Tukey*.

Dari hasil-hasil tersebut dapat dilihat kadar VCAM-1 serum pada kelompok perlakuan (1-3) cenderung menurun. Oleh karena itu dapat diambil kesimpulan bahwa kelor memiliki efek menurunkan kadar VCAM-1 serum. Dari hasil yang didapat, terdapat penurunan yang signifikan antara perlakuan II dan IV serta III dan IV.

BAB VI

PEMBAHASAN

Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang menjadi masalah kesehatan masyarakat, baik di dunia maupun di Indonesia. Di dunia, 12% seluruh kematian disebabkan oleh kanker dan pembunuh nomor dua setelah penyakit kardiovaskular (Depkes, 2010). Salah satu mekanisme yang berperan dalam karsinogenesis adalah inflamasi kronis. Mekanisme inflamasi yang memungkinkan dalam karsinogenesis meliputi induksi instabilitas genomik, perubahan kejadian epigenetik dan ekspresi gen yang tidak normal, peningkatan proliferasi sel inisiasi, resistansi apoptosis, neovaskularisasi tumor agresif, invasi melalui *tumor-associated basement membrane* dan metastasis (Kundu and Surh, 2008). Molekul adhesi proinflamasi yang meningkat pada kanker salah satunya adalah VCAM-1, yang berperan dalam pembesaran dan metastasis kanker serta dapat menjadi marker prognostik pada berbagai kanker secara bermakna, seperti kanker kolon, payudara, ginjal, paru, dan gaster (Chen and Massague, 2012; Ding *et al.*, 2003; Okugawa *et al.*, 2009; Griffioen and Molema, 2000).

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki nilai gizi tinggi dan manfaat di bidang medis, seperti antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker (Farooq *et al.*, 2012). Hal ini dikarenakan kelor, terutama daunnya, mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai anti-oksidan yang diketahui dapat mencegah modulasi sel-sel inflamasi yang berlebihan (Miean *et al.*, 2001). Flavonoid utama pada daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah quercetin (100mg/100g) dan kaempferol (34mg/100g) (Lako *et al.*, 2007). Ekstrak methanol

dan ethanol dari tepung daun kelor (*Moringa oleifera*) juga menunjukkan aktivitas anti-oksidan yang diobservasi pada sistem β -karoten – asam linoleat (Siddhuraju and Becker, 2003).

Penelitian mengenai efek ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar VCAM-1 serum tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan diet DMBA telah dilakukan. Senyawa DMBA merupakan agen sitotoksik, karsinogenik, mutagenik, dan immunosupresif yang memiliki mekanisme over produksi ROS, induksi inflamasi kronis, kerusakan DNA, dan pembentukan DNA adduct (Buters *et al.*, 2003; Pugalendhi dan Manoharan, 2010). Induksi inflamasi kronis dan peningkatan ROS berhubungan dengan peningkatan kadar VCAM-1. Hal ini sesuai dengan kenaikan kadar VCAM-1 setelah tikus diberi diet DMBA tanpa ekstrak methanol daun kelor.

DMBA sebagai karsinogen meningkatkan kadar VCAM-1 melalui jalur TNF- α (Sunaguma *et al.*, 1999). Setelah itu, TNF- α mengaktifasi berbagai faktor transkripsi, seperti NFkB dan AP-1 (activator protein 1) dan menginduksi ekspresi banyak gen (Budunova *et al.*, 1999). VCAM-1 yang telah teraktivasi NfKB mengaktifkan NADPH oksidase dan PAK sehingga terbentuk ROS dan restrukturisasi aktin sel, yang menyebabkan migrasi limfosit (Deem *et al.*, 2004; Wittchen, 2009). Perubahan struktur pada aktin sel endotel menyebabkan migrasi limfosit semakin permisif. Hal ini memperburuk inflamasi kronis yang kemudian dapat menyebabkan kanker (Wittchen, 2009).

Hasil pengukuran kadar VCAM-1 pada kelima kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kadar VCAM-1 pada kelompok 2 (kontrol positif) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok 1 (kontrol negatif). Sedangkan pada kelompok 3 (Perlakuan I) yang menggunakan 20 mg/ml kelor didapatkan kadar VCAM-1 lebih

rendah dibandingkan dengan kelompok 2 (kontrol positif). Kadar VCAM-1 ini semakin menurun pada kelompok 4 (perlakuan II) yang menggunakan 40 mg/ml kelor dan kemudian mengalami peningkatan kembali pada kelompok 5 (Perlakuan III) yang menggunakan 80 mg/ml kelor. Hasil menunjukkan bahwa pada kelompok P-1, P-2, dan P-3 memiliki kadar VCAM-1 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok II (kontrol positif) ($p=0,004$). Penurunan kadar VCAM-1 disebabkan oleh pemberian ekstrak methanol daun kelor yang mengandung antioksidan (flavonoid) yang akan menghambat terjadinya inflamasi kronis dan meningkatnya radikal bebas (Nijveldt. Robert., *et al*, 2001).

Kadar VCAM-1 pada kelompok 1 (kontrol negatif) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok 2 (kontrol positif) ($p=0,03$). Sedangkan kadar VCAM-1 pada kelompok 1 (kontrol negatif) tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok 3 (perlakuan I) ($p=0,177$), kelompok 4 (perlakuan II) ($p=0,886$) dan kelompok 5 (perlakuan III) ($p=0,883$). Data selanjutnya menunjukkan bahwa kadar VCAM 1 antara kelompok 2 (kontrol positif) dan kelompok 4 (perlakuan II) memiliki perbedaan signifikan ($p=0,005$), dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok 3 (perlakuan I) ($p=0,859$) dan kelompok 5 (perlakuan III) ($p=0,161$) sehingga dosis efektif yang dapat menurunkan kadar VCAM-1 pada percobaan ini adalah 40 mg/ml kelor pada kelompok 4 (perlakuan II). Selain itu, juga dapat disimpulkan dosis respon pada penelitian ini adalah kelompok 3 (perlakuan I), karena merupakan dosis yang dapat memberi efek awal dari kelompok 2 (kontrol positif).

Di sisi lain, terjadi peningkatan kadar VCAM-1 pada kelompok 5 (perlakuan III) dibandingkan dengan kadar VCAM-1 pada kelompok 4 (perlakuan II). Oleh karena itu, pada kelompok 4 (perlakuan II) juga disebut dosis optimum,

karena setelah dosis ini dinaikkan mulai terjadi pengendalian kadar VCAM-1 berupa peningkatan kadar VCAM-1 pada kelompok 5 (perlakuan III). Kondisi tersebut bisa terjadi akibat pengaruh quercetin dan kaempferol yang disamping bekerja sebagai antioksidan, dapat juga berfungsi sebagai prooksidan (Metodiwa *et al.*, 1999; Leung *et al.*, 2007; Sien dan Jones, 2007).

Pada manusia, dosis yang dipakai dalam penelitian dikonversi dari tikus melibatkan perhitungan berat rata-rata dan *Body Surface Area* (BSA) (Reagan-Shaw, *et al.*, 2007). Faktor konstanta untuk manusia dewasa dengan rata-rata berat 60 kg dan BSA 1,6 m² adalah 37 sedangkan untuk tikus dengan rata-rata berat 0,15 kg dan BSA 0,025 m² adalah 6. Jadi dosis 40 mg/ml untuk tikus jika dikonversi untuk manusia menjadi $40 \times 6/37 = 6,48$ mg/ml.

Polifenol, contohnya quercetin dan kaempferol, pada suatu kondisi dapat bertindak sebagai prooksidan. Hal ini disebabkan karena substansi tersebut dapat menginduksi *oxygen spesies* (OS), ROS, dan penghambatan sistem antioksidan dalam tubuh (Yordi *et al.*, 2012). Ini menyebabkan kerusakan oksidatif biomolekul seperti protein, DNA, lemak, sel dan jaringan (Aruoma 2003; James *et al.*, 2003). Prooksidan mengkatalisa reaksi oksidatif biomolekul, dimana akan terjadi disfungsi sel dan berakhir dengan kematian sel (Aruoma, 2003). Dalam penelitian terakhir, aktivitas prooksidan dari diet polifenol menginduksi disfungsi mitokondria dan apoptosis, yang merupakan mekanisme antikanker (Galati dan O'Brien, 2004). Selain itu, dilaporkan bahwa diet polifenol dapat memobilisasi *endogenous copper* dalam tubuh manusia, yang menyebabkan kerusakan DNA oksidatif (Azmi *et al.*, 2005).

Di sisi lain, peran daun kelor dalam mencegah dan menghambat inflamasi dengan menurunkan kadar VCAM-1 yang meningkat pada kanker dikarenakan

adanya flavonoid quercetin dan kaempferol dengan kadar tinggi dan bertindak sebagai antioksidan. Quercetin dapat menurunkan ekspresi TNF- α yang mempengaruhi aktivitas *binding* NFkB yang merupakan penyebab teraktivasinya molekul adesi VCAM-1 (Winterborne *et al.*, 2009; Crespo *et al.*, 2008). Quercetin juga dapat menghambat aktivitas ROS (Gibellini, 2010). Pada penelitian lain disebutkan, quercetin dapat menghambat dan menurunkan kadar VCAM-1 dengan dosis 10–50 mmol/l (Crespo *et al.*, 2008; Tribolo *et al.*, 2007). Kaempferol menunjukkan penghambatan yang poten terhadap aktifitas generasi ROS dan menghambat aktivitas NFkB (Piao, Mei Jing., 2011; Kim *et al.*, 2010). Disamping itu, kadar VCAM-1 juga menurun akibat efek pemberian flavonol kaempferol pada dosis 10–50 mmol/l (Crespo *et al.*, 2008). Kombinasi pemberian flavonol quercetin dan kaempferol lebih efektif dan memiliki efek yang sinergis sebagai antioksidan (Ackland *et al.*, 2005)

Pengaruh daun kelor (*moringa oleifera*) terhadap kadar VCAM-1 pada serum *rattus novergicus* yang diinduksi DMBA telah berhasil diteliti. Hasil penelitian menunjukkan kemampuan ekstrak methanol daun kelor sebagai substansi yang dapat mencegah dan menghambat perkembangan terjadinya karsinogenesis lebih lanjut melalui hambatan terhadap salah satu molekul adhesi proinflamasi VCAM-1. Namun, masih belum diketahui apakah quercetin atau kaempferol, yang lebih dominan kerjanya dalam mencegah dan menghambat inflamasi kronis pada kanker. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut dengan ekstraksi flavonoid murni dari daun kelor. Selain itu, diperlukan juga penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun kelor terhadap ekspresi VCAM-1 pada jenis kanker tertentu.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat menurunkan kadar VCAM-1 serum tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA).
2. Dosis efektif ekstrak methanol daun kelor (*Moringa oleifera*) untuk menurunkan kadar VCAM-1 serum tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi 7,12 Dimethyl Benz(A)anthracene (DMBA) adalah 40mg/hr.

7.2 Saran

Dari penelitian ini, saran yang dapat diajukan adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis flavonoid yang terkandung dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) yang paling berperan dalam menurunkan kadar VCAM-1 pada tikus wistar yang diinduksi DMBA.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun kelor terhadap ekspresi VCAM-1 pada jenis kanker tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackland, Margaret Leigh, Simone Van De Waarsenburg And Rod Jones. 2005. Synergistic Antiproliferative Action Of The Flavonols Quercetin And Kaempferol In Cultured Human Cancer Cell Lines. 19: 69-76.
- Aggarwal, Bharat B., Shishir Shishodia, Santosh K. Sandur, Manoj K. Pandey a, Gautam Sethi. 2006. Inflammation and Cancer: How Hot is The Link?. *Biochemical Pharmacology*. 72: 1605-1621.
- Agustina, dewi. 2004. Kajian Tentang Potensi *Gynura Procumbens* (Lour) Merr Dalam Menginduksi Perbaikan DNA Pada Model Karsinogenesis Mulut Pada Tikus Putih. Makalah. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada.
- Akoit. 2008. *Daun Kelor, Sayur Wajib Warga TTU*. <http://spiritentete.blogspot.com/2008/02/daun-kelor-sayur-wajib-warga-ttu.html>. Diakses 1 Desember 2011.
- Allavena P, Sica A, Solinas G, et al. 2008. *The inflammatory micro-environment in tumor progression: The role of tumor-associated macrophages*. Crit Rev Oncol Hematol 66:1-9.
- American Cancer Society. 2012. *Second Cancer Caused by Cancer Treatment*. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002043-pdf.pdf>. Diakses tanggal 7 Februari 2013.
- American Society of Clinical Oncology (ASCO). 2011. *Types of Treatment*. <http://www.cancer.net/all-about-cancer/treating-cancer/types-treatment>. Diakses tanggal 7 Februari 2013.
- Ansel. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi 4. Jakarta : UI-press
- Arias, José-Ignacio, María-Angeles Aller, Jaime Arias. 2004. Cancer cell: Using Inflammation to Invade The Host. *Molecular Cancer*. 6:29.
- Aruoma, O. 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research*. 523-524:9-20.
- Azmi, A., et al. 2005. Resveratrol-Cu(II) induced DNA breakage in human peripheral lymphocytes: implications for anticancer properties. *FEBS Lett*. 579: 3131-3135.
- Balkwill F, Mantovani A. 2001. Inflammation and Cancer: Back to Virchow? *Lancet*. 357:539-545.
- Barreiro, M. Yanez-Mo, J.M. Serrador, M.C. Montoya, M. Vicente-Manzanares, R. Tejedor, H. Furthmayr, F. Sanchez-Madrid. 2002. Dynamic Interaction

of VCAM-1 and ICAM-1 with Moesin and Ezrin in A Novel Endothelial Docking Structure for Adherent Leukocytes. *J. Cell Biol.* 157: 1233–1245.

Bennett R., Mellon F., Pratt J., Dupont M., Pernins L., dan Kroon P. 2003. Profiling Glucosinolates and Phenolics in Vegetative and Reproductive Tissues of Multi-Purpose Trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetal* L. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3546–5553.

Bresalier RS. 2002. *Malignant neoplasms of the large intestine*. In: *Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH, (eds). Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 7th Ed.* Philadelphia: Saunders; 2002. p.2215–2261.

Budunova, I. V., Perez, P., Vaden, V. R., Spiegelman, V. S., Slaga, T. J. and Jorcano, J. L. 1999. Increased Expression of p50-NF-kappaB and Constitutive Activation of NF-kappaB Transcription Factors During Mouse Skin Carcinogenesis. *Oncogene*. 18: 7423–7431.

Buters J, Quintanilla-Martinez L, Schober W, Soballa VJ, Hintermair J, Wolff T, Gonzalez FJ, and Greim H. 2003. CYP1B1 Determines Susceptibility to Low Doses of 7,12-Dimethylbenz[*A*]Anthracene-Induced Ovarian Cancers in Mice: Correlation of Cyp1b1-Mediated DNA Adducts with Carcinogenicity. *Carcinogenesis* 24:327–334.

Byrne GJ, Bundred NJ. 2000. Surrogate Markers of Tumoral Angiogenesis. *Int J Biol Markers*. 15(4):334–339.

Cancer Connect. 2013. *Diagnosing Cancer*. <http://news.cancerconnect.com/newly-diagnosed/diagnosing-cancer/>. Diakses tanggal 12 Februari 2013.

Cancer Hindi. 2005. Cancer. https://www.healthinfotranslations.org/pdfDocs/Cancer_Hindi.pdf. Diakses tanggal 10 Januari 2013.

Cassagrande F and Darbon JM. 2001. Effects of Structurally Related Flavonoids on Cell Cycle Progression of Human Melanoma Cells: Regulation of Cyclin-Dependent Kinases CDK2 and CDK1. *Biochem Pharmacol*. 61: 1205–1215.

Chabner, Bruce A. MD; Elizabeth Chabner Thompson, MD, MPH. 2012. Cellular and Molecular Basis of Cancer. http://www.merckmanuals.com/professional/hematology_and_oncology/overview_of_cancer/cellular_and_molecular_basis_of_cancer.html. Diakses tanggal 3 Januari 2012.

Chen, Qing, Xiang H.-F. Zhang, Joan Massagué. 2011. Macrophage Binding to Receptor VCAM-1 Transmits Survival Signals in Breast Cancer Cells that Invade the Lungs. *Cancer Cell*. 20(4): 538–549.

Chen, Qing, Joan Massagué. 2012. Molecular Pathways: VCAM-1 as A Potential Therapeutic Target in Metastasis. *Clin Cance Res*. 18:5520.

- Cho, Chi Hin, Vishnudutt Purohit. 2006. *Alcohol, tobacco, and Cancer*. <http://books.google.co.id/books?id=LraqfTRnMhQC&printsec=frontcover&hl=id>. Diakses pada tanggal 12 Januari 2012.
- Chuan, S.T. Pang, A. Cedazo-Minguez, G. Norstedt, A. Pousette, A. Flores-Morales. 2006. Androgen induction of prostate cancer cell invasion is mediated by ezrin. *J. Biol. Chem.* 281: 29938–29948.
- Constantinou, Al., Mehta, R., Husband, A. 2003. Phenoxodiol, a novel isoflavone derivative, inhibits 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *European Journal of cancer*. 39:1012-1018.
- Coppin, Julia. 2008. *A study Of The Nutritional And Medicinal Values Of Moringa oleifera Leaves From Sub-Saharan Africa: Ghana, Rwanda Senegal and Zambia*. Tesis. Tidak Diterbitkan, Graduate Program in Medicinal Chemistry.
- Crespo I, García-Mediavilla MV, Gutiérrez B, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ, González-Gallego J. 2008. A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. *Br J Nut.* 100(5):968-76.
- Day AJ, Bao Y, Morgan MRA and Williamson G. 2000. Conjugation Position Of Quercetin Glucuronides And Effect On Biological Activity. *Free Radical Biol Med* 29: 1234-1243.
- Deem, Hiam Abdala-Valencia, and Joan M. Cook-Mills. 2004. VCAM-1 Activation of Endothelial Cell Protein Tyrosine Phosphatase. *J Immunol.* 178(6): 3865–3873.
- Della Porta, G. And Terracini, B. 1969. Chemical Carcinogenesis in Infant Animals. *Prog. Exp. Tumor Res.*,11: 334.
- Depkes. 2010. Jika Tidak Dikendalikan 26 Juta Orang di Dunia Menderita Kanker. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1060-jika-tidak-dikendalikan-26-juta-orang-di-dunia-menderita-kanker-.html>. Diakses pada tanggal 28 Desember 2011.
- Deschner EE, Ruperto J, Wong G *et al.* 1991. Quercetin And Rutin As Inhibitors Of Azoxymethanol-Induced Colonic Neoplasia. *Carcinogenesis*. 12: 1193-1196.
- Ding YB, Chen GY, Xia JG, Zang XW, Yang HY, Yang L. 2003. Association of VCAM-1 Overexpression with Oncogenesis, Tumor Angiogenesis and Metastasis of Gastric Carcinoma. *World J Gastroenterol.* 9(7): 1409-1414.

- Farooq, Fozia, Meenu Rai, Avinash Tiwari, Abdul Arif Khan, and Shaila Farooq. 2012. Medicinal properties of *Moringa oleifera*: An overview of promising healer. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(27): 4368-4374.
- Fuglie, Lowell. 2000. *The Miracle Tree. Dakar Senegal*. http://www.chenetwork.org/files_pdf/Moringa.pdf. Diakses 26 Desember 2011.
- Galati, G. and O'Brien, P. 2004. Potential Toxicity of Flavonoids and Other Dietary Phenolics: Significance for Their Chemopreventive and Anticancer Properties. *Free Radic Biol Med*. 37: 287-303.
- Gibbs, JB., 2000, Anticancer Drug Targets: Growth Factor and Growth Factor Signaling, *J. Clin. Inves*. 105 (1): 9-13.
- Gibellini, Lara, Marcello Pinti, Milena Nasi, Sara De Biasi, Erika Roat, Linda Bertoncelli and Andrea Cossarizza. 2010. Interfering with ROS Metabolism in Cancer Cells: The Potential Role of Quercetin. *Cancers* 2:1288-1311.
- Grady WM. 2004. Genomic Instability and Colon Cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 23:11-27.
- Griffioen, Arjan W., Grietje Molema. 2000. Angiogenesis: Potentials for Pharmacologic Intervention in the Treatment of Cancer, Cardiovascular Diseases, and Chronic Inflammation. *Pharmacological Reviews*. 52(2): 237-268.
- Hanahan D, Weinberg RA. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 144:646-674.
- Hansson GK. 2005. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 352:1685-1695.
- Hansson GK. 2009. Atherosclerosis-an Immune Disease: The Atnitschove Lecture 2007. *Atheroscler*. 202(1):2-10.
- Hausmann, M. F., C. M. Vleck, and E. S. Farrar. 2007. A laboratory exercise to illustrate increased salivary cortisol in response to three stressful conditions using competitive ELISA. *Adv. Physiol. Educ*. 31: 110-115.
- Hidayat, Saleh., 2006, *Pemberdayaan Masyarakat Bantaran Sungai Lematang dalam Menurunkan Kekeruhan Air dengan Biji Kelor (Moringa oleifera Lam.) sebagai Upaya Pengembangan Proses Penjernihan Air*, Disertasi tidak diterbitkan. Malang: Program Studi Setara Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang.
- Hoeijmakers JH. 2001. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*. 411: 366-734.

Hynes, Richard, O. Metastatic Cell Will Take Any Help They Can Get. *Cancer Cell*. 20:689-690.

Indri, 2012. *Flavonoid Pada Kulit Batang Nangka*. <http://indripepriyenti.blogspot.com/2012/10/flavonoid-pada-kulit-batang-nangka.html>. Diakses tanggal 27 Februari 2013.

International Atomic Energy Agency. 2003. *A Silent Crisis: Cancer Treatment in Developing Countries* – IAEA. www.iaea.org/Publications/Booklets/.../treatingcancer.pdf. Diakses tanggal 3 Januari 2013.

James, L., et al. 2003. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos*. 31 (12): 1499-1506.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ, 2008. Cancer Statistics. *CA: Cancer J. Clin*. 58: 71-96.

Jibril, Makhyan. 2012. *TEKNIK ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)*. Pendidikan Master Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. <http://makhyanjibril.blogspot.com/2012/03/teknik-elisa-enzyme-linked.html>. Diakses tanggal 27 Februari 2013.

Kim JM, Lee EK, Kim DH, Yu BP, Chung HY. 2010. Kaempferol Modulates Pro-inflammatory NF-kappaB Activation by Suppressing Advanced Glycation Endproducts-induced NADPH Oxidase. 32(2):197-208.

Kimman, Merel, Rosana Norman, Stephen Jan, David Kingston, Mark Woodward. The Burden of Cancer in Member Countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). *Asian Pacific J Cancer Prev*. 13: 411-420.

Knowles LM, Zigrossi DA, Tauber RA et al. 2000. Flavonoids Suppress Androgen-independent Human Prostate Tumor Proliferation. *Nutr Cancer*. 38: 116-122.

Krieg, T. Hunter. 1992. Identification of The Two Major Epidermal Growth Factor-induced Tyrosine Phosphorylation Sites in the Microvillar Core Protein Ezrin. *J. Biol. Chem*. 267: 19258–19265.

Kundu, Joydeb Kumar, Young-Joon Surh. 2008. Inflammation: Gearing the journey to cancer. *Mutation Research*. 659:15-30.

Lako, Jimaima V. and Trenerry, V.C. and Wahlqvist, M.L. and Wattanapenpaiboon, N. and Sotheeswaran, Subramaniam and Premier, R. 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*. 101 (4): 1727-1741.

- Lee SC, Kuan CY, Yang CC and Yang SD: Bioflavonoids Commonly and Potently Induce Tyrosine Dephosphorylation/ Inactivation of Oncogenic Proline-Directed Protein Kinase FA In Human Prostate Cancer Cells. *Anticancer Res.* 18: 1117-1121, 1998.
- Lu, X, Mu, E, Wei, Y, Riethdorf, S. Yang, Yuan, Yan, Hua, Tiede. 2011. Metastatic Cell Will Take Any Help They Can Get. *Cancer Cell.* 20: 701-714.
- Ma, Xiaomei, and Herbert Yu. 2007. Global Burden of Cancer. *Yale J Biol Med.* 79(3-4): 85-94.
- Macmillan. 2012. *Signs and Symptoms of Cancer.* <http://www.macmillan.org.uk/Cancerinformation/Aboutcancer/Signssymptoms.aspx>. Diakses tanggal 7 Februari 2013.
- Metodiewa D, Jaiswal AK, Cenas N, Dickancaité E, Segura-Aguilar J. 1999. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Radic Biol Med.* 26(1-2):107-116.
- Miean, H. K.; Mohamed, S. 2001. Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Topical Plants. *J. Agri. Food Chem.* 49:3106-3112.
- Minn, A.J, G.P. Gupta, D. Padua, P. Bos, D.X. Nguyen, D. Nuyten, B. Kreike, Y. Zhang, Y. Wang, H. Ishwaran. 2007. Lung Metastasis Genes Couple Breast Tumor Size and Metastatic Spread. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 6740-6745.
- Moran, Alberto, Paloma Ortega, Carmen de Juan, Tamara Fernandez-Marcelo, Cristina Frias, Andres Sanchez-Pernaute, et al. 2010. Review: Differential colorectal carcinogenesis: Molecular Basis and Clinical Relevance. *World J Gastrointest Oncol.* 2(3): 151-158.
- Murota K and Terao J. 2003. Antioxidative Flavonoid Quercetin: Implication of Its Intestinal Absorption and Metabolism. *Arch Biochem Biophys.* 417: 12-7.
- National Cancer Institute. 2004. *Biological Therapy.* NIH Publication No. 04-5406.
- National Cancer Institute. 2010. In : Altekruse SF, Kosary CL, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Ruhl J, Howlander N, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Cronin K, Chen HS, Feuer EJ, Stinchcomb DG, Edwards BK (eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2007.*
- National Cancer Institute. 2012. *Cancer Classification.* <http://training.seer.cancer.gov/disease/categories/classification.html>. Diakses tanggal 1 Januari 2013.

- National Cancer Institute. 2012. *Understanding Cancer Series: Cancer*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/cancer/AllPages>. Diakses tanggal 3 Desember 2012.
- Nijveldt, R.J., E. van Nood, D.E.C van Hoorn, P.G. Boelens, K. Van Norren & P.A.M. van Leeuwen. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74:418-425.
- Okugawa, Y., C. Miki, Y. Toiyama, Y. Koike, T. Yokoe, S. Saigusa, K. Tanaka, Y. Inoue, S. Ohigashi, M. Kusunoki. 2009. Serum Soluble VCAM-1 as a Valuable Prognostic Marker in Colorectal Carcinoma. *Gastrointestinal Cancer*. 54(2): 146-158.
- O'Leary KA, Day AJ, Needs PW *et al.* 2001. Flavonoid Glucuronides are Substrates for Human Liver β -Glucuronidase. *FEBS Lett.* 503:103-106.
- Packard RR, Libby P. 2008. Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. *Clin Chem*. 54(1):24-38.
- Packer, Lester. 1999. NF-kB Activation. <http://www.thaiwave.com/networkantioxidants/nfkb.htm>. Diakses tanggal 28 Februari 2013.
- Parvathy, M., Umamaheswari, A., 2007. *Cytotoxic Effect of Moringa oleifera Leaf Extracts on Human Multiple Myeloma Cell Lines*. Ayya Acade Baby Nagar India. *Trends in Medical Reseach* 2 (1):44-50.
- Piao, Mei Jing *et al.* 2011. *Antioxidant Effects of the Ethanol Extract from Flower of Camellia Japonica via Scavenging of Reactive Oxygen Species and Induction of Antioxidant Enzymes*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3127137/>. Diakses tanggal 30 Agustus 2011.
- Pradipta IS, Nikodemus TW, Susilawati Y. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Xanton dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) 64-77.
- Pugalendhi, P. dan S. Manoharan. 2010. Chemopreventive Potential of Genistein and Daidzein in Combination during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) Induced Mammary Carcinogenesis in Sprague-Dawley Rats. *Pak. J. Biol. Sci.* 13: 279-286.
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. *Dose translation from animal to human studies revisited*. *Faseb J.* 2007;22:659-661.
- Robbins, Kumar, Cotran. 2007. *Robbins Basic Pathology 7th ed.* EGC: Jakarta.
- Ruco, P.A. de Laat, C. Matteucci, S. Bernasconi, F.M. Sciacca, T.H. van der Kwast, H.C. Hoogsteden, S. Uccini, A. Mantovani, M.A. Versnel. 1996.

Expression of ICAM-1 and VCAM-1 in Human Malignant Mesothelioma. *J. Pathol.* 179: 266–271.

Rüegg C (2006) Leukocytes, Inflammation, and Angiogenesis in Cancer: Fatal Attractions. *J Leukoc Biol.* 80:682–684.

Rowlands, J. C., Ling He, Hakkak, R., Ronis, M. J. J., and Badger, T. M. 2001. Soy and Whey Proteins Downregulate DMBA-Induced Liver and Mammary Gland CYP1 Expression in Female Rats. *Journal of Nutrition.* 131: 3281-3287.

Santoso, Adeline. 2011. Pengaruh Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Per Oral Terhadap Penurunan Jumlah Cd 68 Makrofag Pada Kolon Tikus Wistar Yang Diinduksi DMBA (*7,12-dimethylbenz(a)anthracene*). Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Shin, J. Kim, B. Ryu, S.G. Chi, H. Park. 2006. Caveolin-1 is Associated with VCAM-1 Dependent Adhesion of Gastric Cancer Cells to Endothelial Cells. *Cell. Physiol. Biochem.* 17: 211–220.

Siddhuraju, P., Becker, K. 2003. *Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (M. oleifera Lam.) Leaves.* J. Agric. Food Chem. 51, 2144-2155

Siregar, Gontar Alamsyah. 2007. *Deteksi Dini dan Penatalaksanaan Kanker Usus Besar.* Pidato Pengukuhan. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Solimun. 2001. *Diktat Metodologi Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks.* Malang: Universitas Brawijaya.

Suganuma, Masami, Sachiko Okabe, Michael W. Marino, Ayako Sakai, Eisaburo Sueoka, Hirota Fujiki. 1999. Essential Role of Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) in Tumor Promotion as Revealed by TNF- α -deficient Mice. *Cancer Res.* 59:4516.

Sulistyo, hidayat.2008. Inhibisi Aktivitas Proliferasi Sel Dan Perubahan Histopatologik Epitelial Mukosa Nasofaring Mencit C3h Dengan Pemberian Ektrak Benalu Teh. Tesis. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Suriawiria. 2005. *Manfaat Daun Kelor*, <http://keris.blogs.ie/2005/03/15/manfaatdaun-kelor>. Diakses tanggal 10 November 2011.

Therik, Johannis W. D.. 2008. Hasil Pemeriksaan Kandungan Zat Gizi Kelor Varietas Lokal Jenis Kelor Hijau (H) dan Merah (M) per 100 g Tepung

Daun Kelor Oter Kapsul Berdasarkan Hasil Uji Kimia. Surabaya: Balai Besar Laboratorium Kesehatan.

Total Kesehatan Anda. 2008. Kanker Hati. [Http://www.totalkehatananda.com/kankerhati8.html](http://www.totalkehatananda.com/kankerhati8.html). Diakses tanggal 9 Desember 2011.

Tribolo S, Lodi F, Connor C, Suri S, Wilson VG, Taylor MA, Needs PW, Kroon PA, Hughes DA. 2007. Comparative Effects of Quercetin and Its Predominant Human Metabolites on Adhesion Molecule Expression in Activated Human Vascular Endothelial Cells. *Atherosclerosis*. 197(1):50-56.

Tsaknis, John dan Stavros Lalas. 2002. Extraction and Identification of Natural Antioxidant from the Seeds of the *Moringa oleifera* Tree Variety of Malawi. *JAOCS*. 79(7) :677-683.

Uno S, Dalton TP, Derkenne S, Curran CP, Miller ML, Shertzer HG, and Nebert DW. 2004. Oral exposure to Benzo[a]pyrene in the Mouse: Detoxication By Inducible Cytochrome P450 is More Important Than Metabolic Activation. *Mol Pharmacol*. 65:1225-1237.

Van Wetering, N. van den Berk, J.D. van Buul, F.P. Mul, I. Lommerse, R. Mous, J.P. ten Klooster, J.J. Zwaginga, P.L. Hordijk. 2003. VCAM-1-mediated Rac Signaling Controls Endothelial Cell-cell Contacts and Leukocyte Transmigration. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 285: C343-C352.

Vellaichamy, L., Balakrishnan, S., Panjamurthy, K., Manoharan, S., Linsa, M.A.. 2009. Chemopreventive Potential Of Piperine in 7,12-*Dimethylbenz[A]Anthracene*-Induced Skin Carcinogenesis In Swiss Albino Mice. *Environ Toxicol Pharmacol*. 28: 11-18.

Verma AK, Johnson JA, Gould MN. 1988. Inhibition of 7,12-*Dimethylbenz(a)anthracene*- and *N-Nitrosomethylurea*-Induced Rat Mammary Cancer by Dietary Flavonol Quercetin. *Cancer Res* 48: 5754-5758.

Violi F, Pignatelli P and Pulcinelli FM. 2002. Synergism Among Flavonoids In Inhibiting Platelet Aggregation and H₂O₂ Production. *Circulation* 105: e53.

Waris, Gulam, Haseeb Hasan. 2006. Reactive Oxygen Species: Role in the Development of Cancer and Various Chronic Conditions. *Journal Of Carcinogenesis*. 5(14): 1-8.

Weimer, T. L., Reddy, A. P., Harttig, U., Alexander, D., Stamm, S. C., Miller, M. R., Baird, W., Hendricks, J., and Bailey, G., 2000. Influence of b-Naphthoflavone on 7,12- *Dimethylbenz[a]anthracene* Metabolism, DNA Adduction, and Tumorigenicity in Rainbow Trout. *Toxicological Sciences*. 57: 217-228.

Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. 2006. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 38:787-793.

WHO. 2011. *Cancer*. <http://www.who.int/topics/cancer/en/>. Diakses pada tanggal 1 Desember 2011.

Winarno. 2006, *Tanaman Obat-Obatan Tradisional*. www.digilib.ac.id/ind/pd.obattradisional/view&=8933.php/id. Diakses 17 November 2011.

Winterbone, M. S., Tribolo, S., Needs, P.W., Kroon, P. A. and Hughes, D. A. 2009. Physiologically Relevant Metabolites of Quercetin Have No Effect On Adhesion Molecule Or Chemokine Expression In Human Vascular Smooth Muscle Cells. *Atherosclerosis*. 202: 431–438.

Wittchen, Erika S. 2009. Endothelial Signaling in Paracellular and Transcellular Leukocyte Transmigration. *Front Biosci.* 14: 2522–2545.

Worthley, DL., dan Leggett BA. 2010. Colorectal Cancer: Molecular Features and Clinical Opportunities. *Clin. Biochem. Rev.* Vol. 31: 31-38.

Wu, Han-Chung, De-Kuan Chang, and Chia-Ting Huang. 2006. Targeted Therapy for Cancer. *J. Cancer Mol.* 2(2): 57-66.

Yang K, Lamprecht SA, Liu Y *et al.* 2000. Chemoprevention Studies Of The Flavonoids Quercetin And Rutin In Normal And Azoxymethane-Treated Mouse Colon. *Carcinogenesis*. 21: 1655-1660.

Yordi, Estela Guardado, Enrique Molina Pérez, Maria João Matos, and Eugenio Uriarte Villares. 2012. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. *Nutrition*. 12:23-48.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mayya Mumtaz Maharani

NIM : 0910710094

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Februari 2013

Yang membuat pernyataan

(Mayya Mumtaz Maharani)

NIM. 0910710094

LAMPIRAN

Lampiran 1: *Test of Normality* (Uni Normalitas Data)

Tests of Normality							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
kadar VCAM-1 (ng/ml)	Knegatif	.219	4	.	.980	4	.903
	Kpositif	.307	4	.	.914	4	.505
	P-1	.279	4	.	.854	4	.239
	P-2	.237	4	.	.924	4	.558
	P-3	.190	4	.	.979	4	.898

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 2: *Test of Homogeneity of Variances* (Uni Homogenitas Varian)

Test of Homogeneity of Variances			
kadar VCAM-1 (ng/ml)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.874	4	15	.167

Lampiran 3: Uji ANOVA

ANOVA					
kadar VCAM-1 (ng/ml)					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.233	4	.058	5.993	.004
Within Groups	.146	15	.010		
Total	.379	19			

Lampiran 4: *Post Hoc Test*

Multiple Comparisons

kadar VCAM-1 (ng/ml)
Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Knegatif	Kpositif	-.23375 [*]	.06973	.030	-.4491	-.0184
	P-1	-.16525	.06973	.177	-.3806	.0501
	P-2	.06400	.06973	.886	-.1513	.2793
	P-3	-.06450	.06973	.883	-.2798	.1508
Kpositif	Knegatif	.23375 [*]	.06973	.030	.0184	.4491
	P-1	.06850	.06973	.859	-.1468	.2838
	P-2	.29775 [*]	.06973	.005	.0824	.5131
	P-3	.16925	.06973	.161	-.0461	.3846
P-1	Knegatif	.16525	.06973	.177	-.0501	.3806
	Kpositif	-.06850	.06973	.859	-.2838	.1468
	P-2	.22925 [*]	.06973	.034	.0139	.4446
	P-3	.10075	.06973	.610	-.1146	.3161
P-2	Knegatif	-.06400	.06973	.886	-.2793	.1513
	Kpositif	-.29775 [*]	.06973	.005	-.5131	-.0824
	P-1	-.22925 [*]	.06973	.034	-.4446	-.0139
	P-3	-.12850	.06973	.387	-.3438	.0868
P-3	Knegatif	.06450	.06973	.883	-.1508	.2798
	Kpositif	-.16925	.06973	.161	-.3846	.0461
	P-1	-.10075	.06973	.610	-.3161	.1146
	P-2	.12850	.06973	.387	-.0868	.3438

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 5: *Homogeneous Subsets*

kadar VCAM-1 (ng/ml)

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P-2	4	.5678		
Knegatif	4	.6318	.6318	
P-3	4	.6962	.6962	.6962
P-1	4		.7970	.7970
Kpositif	4			.8655
Sig.		.387	.177	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 6: Penimbangan Berat Badan, Pemberian Pakan dan Minum Tikus, dan Pembersihan Kandang Tikus



Lampiran 7: Pembedahan dan Pengambilan Darah



Lampiran 8: Pengukuran Kadar VCAM-1 dengan metode ELISA



