

Ekspresi CYP1A1 dan GST μ hepatosit terinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena dan pengaruh pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbens*

CYP1A1 and GST μ expression of hepatocytes induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and the influence of ethanolic extract of *Gynura procumbens*

Iwan Sahrial Hamid^{1*}, Sugiyanto², Edy Meiyanto² dan Sitarina Widyarini³

¹ Farmakologi FKH Unair

² Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

³ Patologi FKH Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Sitokrom P450 (CYP) dan glutathione S-transferase merupakan sistem enzim yang mempunyai pengaruh biologik pada karsinogen. Demikian pula, enzim ini diduga berkaitan dengan perkembangan kanker payudara, sehingga menjadi target potensial untuk senyawa kemopreventif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan ekspresi CYP1A1 dan GST μ di antara kelompok perlakuan. Ekspresi CYP1A1 dan GST μ ditentukan secara kuantitatif dari jaringan hepar tikus galur *Sprague dawley* betina, umur 40 hari sejumlah 18 ekor. Dilakukan pengelompokan secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan. Kelompok base line (tanpa pemberian DMBA dan ekstrak etanolik), kelompok induksi kanker dengan DMBA, dua kelompok perlakuan diberi DMBA setelah pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbens* dengan dua dosis, yaitu dosis 300 dan 750 mg/kg BB. Dua kelompok perlakuan terakhir hanya diberi perlakuan terdiri dari dua dosis ekstrak etanolik tanpa inisiasi DMBA. Pemberian ekstrak dilakukan selama tiga minggu dan inisiasi DMBA dilakukan pada minggu ke dua dan ke tiga dari awal pemberian ekstrak. Pengamatan ekspresi CYP1A1 dan GST μ dilakukan dengan metode imunohistokimia. Ekspresi CYP1A1 pada kelompok perlakuan DMBA menunjukkan jumlah yang tertinggi secara signifikan ($p < 0,05$) dibanding kelompok perlakuan yang lain. Sebaliknya pada ekspresi GST μ menunjukkan jumlah yang paling rendah ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* 300 mg/kg BB dapat menghambat ekspresi CYP1A1 lebih kuat dibanding kelompok yang lain dan induksi level GST μ . Kesimpulan yang diambil adalah bahwa ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* mempunyai kemampuan berperan sebagai *blocking agent* dalam mencegah inisiasi tahap karsinogenesis, sehingga dapat dipakai sebagai agen kemopreventif pada karsinogenesis mammae.

Kata kunci : *Gynura procumbens*, kanker payudara, kemopreventif, CYP1A1, GST μ

Abstract

The cytochrome P-450 (CYP) and glutathione S-transferase (GST) enzyme systems may influence the biological effects of carcinogens. As such, these enzymes may predict the developmental risk of breast cancer, as well as be potential targets for chemoprevention. The purpose of this study was to compare the expression of CYP1A1 and GST μ between treatment groups. Expression of CYP1A1 and GST μ was quantified in liver tissue from 18 female Sprague Dawley rats aged 40 days, which randomly divided into six treatment groups. Those are base line group (without DMBA and ethanolic extract

treatment), DMBA induced cancer group, the other two groups was administrated by DMBA after treated by ethanolic extract in two different doses, 300 mg /kg BW and 750 mg/kg BW. The last two groups were given two doses of extract ethanolic only, without initiated of DMBA. The ingestion of the extract was carried for three weeks and the ingestion of DMBA was performed twice in the third week. The expression CYP1A1 and GST was quantified by immunohistochemistry. CYP1A1 expression was significantly higher ($P < 0.05$) in cancer group (DMBA) as compared with other groups. On the other hand, GST expression was lower in cancer group ($P < 0.05$). Result of this study demonstrated that ethanolic extract leaves of *G. procumbens* in 300 mg/kg BW dose could inhibit CYP1A1 stronger than are other and induced GST μ level. Has effect on ethanolic extract leaves of *G. procumbens* has ability in played role of as *blocking agent* in preventing initiation stage of carcinogenesis, therefore it should be taken into account for chemopreventing agent in mammary carcinogenesis.

Key words : *Gynura procumbens*, breast cancer, Chemopreventive, CYP1A1, GST μ

Pendahuluan

Beberapa upaya penatalaksanaan penyakit kanker masih banyak menemui kendala yang mengakibatkan kurangnya keberhasilan dalam mencegah dan mengobati kanker (Novalina, 2003). Penemuan tanaman obat yang menunjukkan efek farmakologis terhadap kanker, mendorong beberapa peneliti untuk melakukan eksplorasi bahan bioaktif dari tanaman tersebut (Walaszek, *et al.*, 2004). Salah satu tanaman yang menjadi alternatif peneliti untuk diketahui aktivitasnya sebagai obat kanker adalah daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens*), karena ekstrak bahan tersebut mengandung senyawa yang dapat menghambat karsinogenesis (Heyne, 1987; Thomas, 1989). Flavonoid golongan flavon dan flavonol dalam fraksi etil asetat ekstrak etanolik *G. procumbens* dapat menghambat pertumbuhan sel myeloma dan sel vero. Flavonoid golongan flavon/flavonol adalah senyawaaktif yang berpotensi sebagai antikarsinogenik (Sugiyanto *et al.*, 2003).

Salah satu senyawa karsinogen penyebab kanker adalah golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) (Bowman and Rand, 1989). Salah satu senyawa PAH adalah 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA). DMBA sudah banyak dipakai sebagai senyawa karsinogen dalam berbagai penelitian sebelumnya untuk menginduksi kanker payudara tikus (Singletary *et al.*,

1997; Anderson *et al.*, 1999 ; Kubatka *et al.*, 2002). Mekanisme aktivasi DMBA melibatkan enzim sitokrom P-450 dan atau peroksidase menjadi intermediate reaktif yang dapat merusak DNA yaitu terbentuknya epoksid dihidrodiol (Melendez-Colon *et al.*, 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Singletary *et al* (1997) telah membuktikan bahwa DMBA mampu menginduksi terjadinya tumor pada kelenjar mammae tikus betina . DMBA akan diubah oleh enzim fase I, sitokrom P450 (CYP) menjadi *ultimate carcinogen* berupa senyawa epoksida elektrofil yang merupakan metabolit aktifnya (Rowlands *et al.*, 2001). Metabolit epoksida dapat membentuk *DNA adduct* dan menyebabkan mutasi, akibatnya terbentuklah kanker (Weimer *et al.*, 2000).

Senyawa metabolit reaktif yang dapat menyebabkan mutasi pada DNA dapat segera dikeluarkan dari dalam tubuh dengan proses metabolisme fase II, yaitu konjugasi dengan glutation yang dikatalisis oleh enzim Glutation S-Transferase (GST). Dengan adanya peningkatan enzim GST ini, maka senyawa karsinogen akan mengalami detoksifikasi sehingga cepat diekskresikan dan tidak sempat mengalami tahap-tahap perkembangan selanjutnya menjadi kanker. Penelitian yang telah dilakukan pada tikus menunjukkan hasil rerata jumlah nodul per tikus (*tumour multiplicity*) mengalami penurunan dibanding kelompok kontrol

positif, dari 3,43 menjadi 0,90 pada pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbens* dosis 250 mg/kg BB dan menjadi 1,11 pada pemberian dosis 750 mg/kg BB (Rizali dan Auerkari, 2003). Hasil tersebut menunjukkan bahwa daun *Gynura procumbens* memberikan efek hambatan pada karsinogenesis.

Berdasarkan latar belakang penelitian yang akan dilakukan maka perlu dilakukan penelitian yang berlandaskan penggunaan tanaman obat *Gynura procumbens* sebagai antikarsinogenesis. Pengamatan yang relevan adalah ekspresi sitokrom P450 isoform CYP1A1 dan GST μ .

Metodologi

Bahan

Daun sambung nyawa (*G. procumbens*) diperoleh dari daerah Ngaglik, Sleman, Yogyakarta dan telah dideterminasi di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM. Daun dikeringkan di sinar matahari dengan ditutup kain hitam, setelah kering dibuat bentuk serbuk. Serbuk daun diekstrak menggunakan metode maserasi dengan etanolik 96 % hingga menjadi ekstrak etanolik. Bahan karsinogen untuk pembuatan kanker payudara menggunakan DMBA (7,12-dimetilbenz-(a)antrasena) (Sigma Chem.co). Bahan imunohistokimia meliputi *Biotinylated Goat Anti Polyvalent* (Biotin), Streptavidin Peroxidase (Streptavidin), *Large Volume Ultra V Block* (normal serum), Antibodi GST μ (CAT # GST ANTI 2) dan CYP1A1 (CAT # P1A1PT), phosphate buffer saline 10 %, *Counterstain* haematoxylin dan eosin, H₂O₂ 3 %, diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB). Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berjumlah 18 ekor berumur 40 hari dengan berat antara 60-70 gram.

Prosedur penelitian

Hewan coba dibagi kedalam enam kelompok perlakuan dimana masing-masing perlakuan terdiri dari tiga ekor tikus. Kelompok I merupakan kelompok kontrol DMBA 20 mg/kg BB. Kelompok II dan III adalah kelompok ekstrak *G. procumbens* dosis 300 dan 750 mg/kg BB yang diberikan setiap hari selama 3 minggu + DMBA 20 mg/kg BB. Kelompok IV

dan V adalah kelompok yang hanya diberi ekstrak dosis 300 dan 750 mg/kg BB. Kelompok VI merupakan kelompok kontrol (*base line*), dimana pada kelompok ini tidak diberi perlakuan apapun. Pemberian DMBA dilakukan pada minggu ketiga sebanyak 2 kali seminggu selama lima minggu dengan dosis 20 mg/kg BB. Pada akhir minggu ketiga semua hewan dikorbankan melalui dislokasi leher, dilakukan bedah untuk dikoleksi organ hepar.

Pemotongan organ hepar secara frozen sections

Sebelum tahap pemotongan diusahakan suhu cetakan menjadi sama dengan suhu *cryostat* (-20 °C). Cetakan jaringan diletakkan di piringan untuk spesimen pada *cryostat*. Posisi cetakan diatur agar sejajar dengan mata pisau, kemudian dipotong sampai jaringan yang diinginkan tampak. Ketebalan dari potongan yang diinginkan biasanya 5 μ m. Potongan tersebut ditempatkan di *Fisher Superfrost* dan dikeringkan dalam suhu kamar selama satu malam. Slide difiksasi dengan cara direndam pada larutan aseton dingin (-20 °C) selama 2 menit dan disimpan pada suhu kamar kemudian dapat dilanjutkan untuk tahap selanjutnya.

Prosedur pewarnaan Imunohistokimia

Slide dari organ dikeringkan dan dilabel dengan pena anti air. Slide kemudian difiksasi dalam larutan aseton di *freezer* selama 10 menit lalu cuci dengan larutan PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Kemudian slide ditetesi larutan H₂O₂ 3 % selama 20 menit untuk menghentikan aktivitas enzim peroksidase dalam jaringan lalu dicuci dengan air selama 5 menit. Slide dibilas lagi sebanyak 2 kali dalam PBS masing-masing selama 5 menit.

Selanjutnya ditetesi dengan normal serum (*blocking*) selama 5 menit dan setelah itu ditetesi antibodi primer (antibodi GST μ anti-rat atau antibodi CYP1A1 anti-rat) dan biarkan selama 60 menit pada suhu kamar. Setelah antibodi dibuang, slide dicuci dalam larutan PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Tetesi slide dengan biotin selama 5 menit lalu cuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Kemudian slide ditetesi dengan streptavidin dan

dibiarkan selama 5 menit, lalu dicuci lagi menggunakan larutan PBS yang baru selama 5 menit sebanyak 2 kali. Slide selanjutnya ditetesi dengan DAB dan dibiarkan selama 8 menit, lalu dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Slide direndam dalam larutan HE selama 4 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Langkah terakhir dilakukan *mounting* dan ditunggu sampai mengering.

Pengamatan preparat IHC dilakukan dengan menghitung persentase sel yang mengekspresikan CYP1A1 atau GST μ di sitoplasmanya dalam 3 lapang pandang, kemudian dirata-rata. Data yang diperoleh pertama dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, bila distribusinya normal dilakukan uji statistik ANAVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Duncan* dengan taraf kepercayaan 95 %.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh perlakuan terhadap ekspresi CYP1A1 pada hepar hewan uji

Karsinogen DMBA yang merupakan senyawa hidrokarbon aromatik dapat menginduksi CYP1A1 melalui interaksinya dengan AhR (*Arylhydrocarbon Receptor*) (Le Blanc and Dauterman, 2001). Saat DMBA berinteraksi dengan AhR, Enzim CYP1A1 akan mengubah substratnya berupa DMBA menjadi bentuk reaktifnya berupa diol-epoksida DMBA. Komplek diol-epoksida dan AhR ini bertanslokasi ke nukleus dan menginduksi transkripsi berbagai gen termasuk CYP (Heidel *et al.*, 2000). Karena itu pada kelompok kontrol positif DMBA persentase ekspresi CYP1A1 sangat tinggi bila dibanding dengan kelompok lainnya, karena tidak ada senyawa-senyawa yang mampu menghambat aktivasi CYP1A1 oleh DMBA.

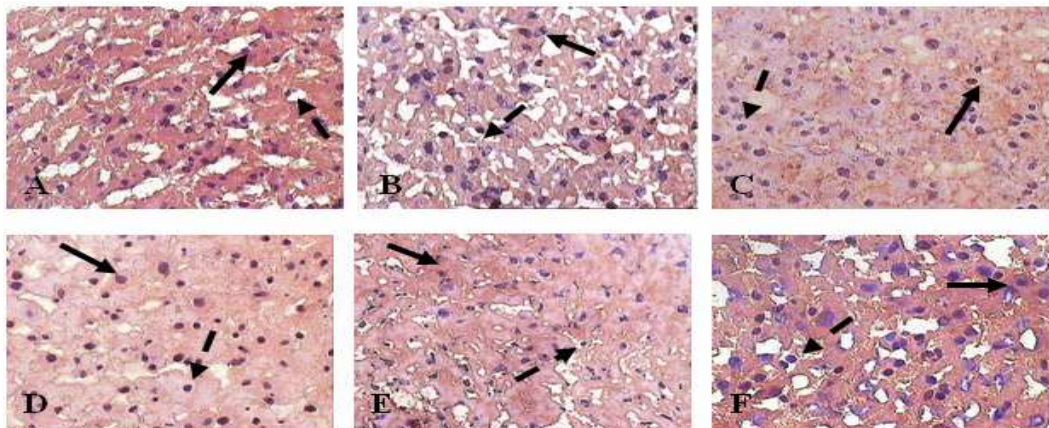
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun *G. procumbens* dosis 300 dan 750 mg/kg BB mampu menghambat ekspresi CYP1A1 secara nyata (Gambar 1; Tabel I). Daun *G. procumbens* mengandung senyawa flavonoid, sterol tak jenuh, triterpen, polifenol dan minyak atsiri (Sudarto dan Pramono, 1985). Rerata ekspresi GST μ setiap kelompok perlakuan pengamatan ekspresi CYP1A1 menunjukkan

perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Zhai, *et al.* (1998) bahwa beberapa senyawa flavonoid memiliki potensi dan selektifitas yang tinggi untuk menghambat isoenzim CYP1A. Flavonol kaempferol dan kuersetin secara signifikan dapat menghambat CYP1A1 secara *in vitro* pada kultur hepatosit tikus (Zhang *et al.*, 2006).

Beberapa inhibitor transkripsi CYP1A1 diketahui berfungsi dengan menempel pada *binding site* dari AhR, memblokir ligan lain untuk menempel, karena itu dapat mencegah aktivasi AhR. (Santostefano *et al.*, 1993; Ciolino *et al.*, 1998 ; Khan *et al.*, 2006). Tidak menutup kemungkinan senyawa-senyawa yang mengandung flavonoid seperti *G. procumbens* juga bertindak sebagai AhR antagonis yang menghambat sinyal transduksi yang diinduksi AhR. Hal ini tampaknya sesuai dengan pendapat Wattenberg (1996), Ciolino *et al.* (1998), dan Singh *et al.* (1998) yang menyatakan bahwa penghambatan dari sinyal transduksi yang dimediasi AhR atau aktivitas enzim CYP1A1 adalah mekanisme penting dalam efek kemopreventif dari beberapa bahan dari pakan yang juga dihubungkan dengan penurunan resiko karsinogenesis. Apigenin telah diketahui dapat menurunkan ekspresi sitokrom P450 pada hepar mencit terinduksi Benzo(a)piren, dengan berikatan pada AhR (*Arylhydrocarbon Receptor*) yang merupakan faktor transkripsi (Khan *et al.*, 2006).

Pengaruh perlakuan terhadap ekspresi GST μ pada hepar

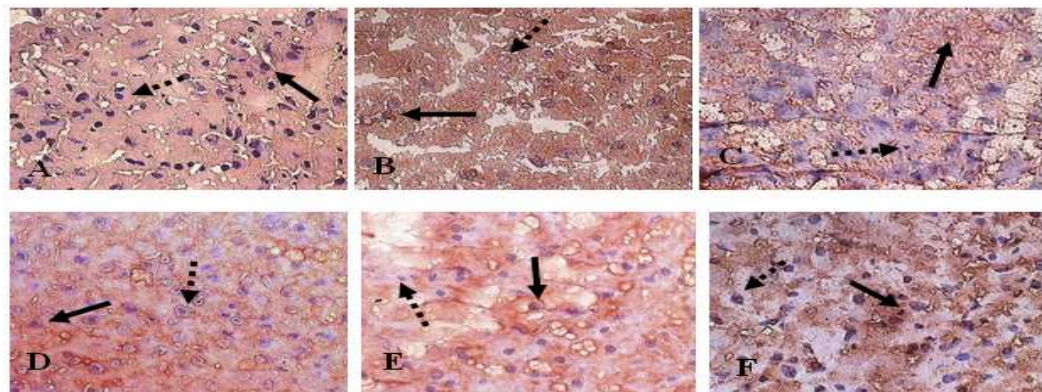
Terlihat bahwa ekstrak daun *G. procumbens* dosis 300 mg/kg BB mampu meningkatkan ekspresi GST secara signifikan (Gambar 2; Tabel I). Hal ini sesuai dengan pendapat Russo *et al.* (2005) yang menyebutkan bahwa agen-agen kemopreventif ini dapat berperan sebagai *blocking agent* yang berefek pada fase inisiasi,



Gambar 2. Gambaran hasil pengecatan imunohistokimia sel hepar tikus terhadap ekspresi CYP1A1, menggunakan anti bodi CYP1A1 Setelah pemberian ekstrak etanol *Gynura procumbens*

Keterangan:

Banyaknya sel yang mengekspresikan protein CYP1A1 ditunjukkan dengan jumlah sel yang berwarna coklat pada sitoplasma (panah utuh) dan tidak mengekspresikan CYP1A1 (panah putus). Gambar di atas menunjukkan hepatosit tikus kelompok perlakuan: A) DMBA ; (B) ekstrak 300 mg/kg BB + DMBA; (C) ekstrak dosis 750 mg/kg BB + DMBA; (D) ekstrak dosis 300 mg/kg BB; (E) ekstrak dosis 750 mg/kg BB ; (F) kontrol (base line) dengan perbesaran 40x lensa objektif.



Gambar 2. Gambaran hasil pengecatan imunohistokimia sel hepar tikus terhadap ekspresi GST μ menggunakan anti bodi GST μ Setelah pemberian ekstrak etanol *Gynura procumbens*

Keterangan:

Banyaknya sel yang mengekspresikan protein GST μ ditunjukkan dengan jumlah sel yang berwarna coklat pada sitoplasma (panah utuh) dan tidak mengekspresikan GST μ (panah putus-putus). Gambar di atas menunjukkan hepatosit tikus kelompok perlakuan: A) DMBA ; (B) ekstrak 300 mg/kg BB + DMBA; (C) ekstrak dosis 750 mg/kg BB + DMBA; (D) ekstrak dosis 300 mg/kg BB; (E) ekstrak dosis 750 mg/kg BB ; (F) kontrol (base line) dengan perbesaran 40x lensa objektif.

Tabel I. Ekspresi CYP1A1 setiap kelompok perlakuan

Perlakuan	DMBA	Gyn 300 + DMBA	Gyn 750 + DMBA	Gyn 300	Gyn 750	K.Kontrol
Mean±SD	58,6 ^a ±22,9	31,1 ^{bc} ±10,5	33 ^b ± 7,4	15,5 ^{bc} ±6,4	15,5 ^{bc} ± 3	10,3 ^c ±2,8

Keterangan :

notasi berupa superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Tabel II. Ekspresi GST μ setiap kelompok perlakuan

Perlakuan	DMBA	Gyn 300 + DMBA	Gyn 750 + DMBA	Gyn 300	Gyn 750	Base line
Mean±SD	23,6 ^a ±11,2	65,6 ^c ±9,3	45,8 ^b ±5,1	32 ^{ab} ±10,7	38,8 ^{ab} ±10,7	34,9 ^{ab} ±4,3

Keterangan :

notasi berupa superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

yaitu dengan jalan meningkatkan detoksifikasi senyawa-senyawa karsinogen melalui peningkatan ekspresi GST.

Ekspresi GST pada kelompok perlakuan ekstrak + DMBA terlihat lebih tinggi jika dibanding kelompok kontrol negatif ekstrak meskipun tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Hal ini diduga berhubungan dengan sifat DMBA sebagai *bifunctional inducer* dimana senyawa ini dapat menginduksi enzim metabolisme fase I dan fase II melalui aktivasi *aryl hydrocarbon receptor* dan Nrf2 (Nguyen *et al.*, 2003). Metabolit DMBA yang dihasilkan akan mengaktifasi jalur Nrf2-ARE, yang menginduksi enzim-enzim metabolisme fase II, termasuk enzim GST (Zhang *et al.*, 2004). Tampak juga bahwa kelompok perlakuan ekstrak dosis 750 mg/kg BB + DMBA tidak mampu menaikkan ekspresi GST sebanyak kelompok perlakuan ekstrak dosis 300 mg/kg BB + DMBA. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis 750 mg/kg BB yang cukup tinggi mampu menginduksi GST dalam jumlah yang sangat tinggi, namun hal ini menyebabkan ekstrak tersebut dikonjugasi sendiri oleh GST dalam jangka waktu yang cukup pendek. Banyak dari senyawa yang menginduksi GST adalah

substrat untuk GST itu sendiri atau merupakan hasil metabolisme sitokrom P450 yang dapat bertindak sebagai substrat GST (Hayes and Pulford, 1995). Sebagai contoh, hesperetin 50 μ M meningkatkan aktivitas GST dan menunjukkan penurunan aktivitas pada konsentrasi yang lebih tinggi. Menurut Yen *et al.* (2003), konsentrasi flavonoid juga berpengaruh pada peningkatan dan penurunan aktivitas GST.

Mekanisme kenaikan GST mempunyai beberapa kemungkinan sebagai berikut. Menurut Le Blanc and Dauterman (2001), metabolit reaktif hasil reaksi reduksi-oksidas menginduksi GST melalui ARE atau *Electrophile Response Element* (EpRE), sehingga memacu transkripsi gen. Dalam hal ekspresi GST, *inducer* GST sebagian besar akan mempengaruhi aktifitas transkripsi gen GST melalui *Antioxidant-Responsive Element* (ARE), *Xenobiotik-Responsive Element* (XRE), *GST P Enhancer 1* (GPE) atau *Glucocorticoid-Rensonsive Element* (GRE). Pada awalnya Nrf2 berikatan dengan protein Keap1. Keap1 berada di sitoplasma dan berikatan dengan aktin. Disosiasi antara Nrf2 dengan Keap1 mengawali terjadinya translokasi Nrf2 ke nukleus. Selanjutnya akan terjadi heterodimerisasi dengan

Maf kecil dan berikatan dengan ARE, yang pada akhirnya akan menghasilkan aktivasi transkripsi dari gen-gen yang mengalami regulasi tersebut, termasuk GST (Itoh *et al.*, 1999).

Kemungkinan juga pengaturan GST secara *in vivo* melibatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), karena tidak hanya beberapa induser mempunyai kemampuan yang kuat untuk membangkitkan radikal bebas oleh siklus redoks, tetapi H₂O₂ menunjukkan kemampuan induksi GST pada sel tumbuhan dan mamalia. Induksi GST oleh ROS tampaknya menunjukkan respon adaptif seperti enzim detoksifikasi beberapa senyawa toksik carbonyl-, peroxide-, dan hasil metabolit yang mengandung epoksid pada sel akibat stres oksidatif (Hayes and Pulford, 1995).

Mekanisme lain yang dapat menjelaskan peningkatan ekspresi enzim GST oleh ekstrak etanolik daun *G. procumbens* adalah melalui aktivasi faktor transkripsi dengan respon elemen GRE. Kemungkinan senyawa sterol dalam ekstrak dengan kerangka steroid, dapat berinteraksi secara spesifik dengan glucocorticoid reseptor (GR) dan membentuk kompleks dengan reseptor tersebut. Komplek steroid – GR akan mengenali sekuen spesifik yang

disebut GRE, kemudian berikatan. Aktivasi GRE mengawali transkripsi gen-gen yang bertanggungjawab mengkode enzim GST. Dalam hal ini GR berfungsi sebagai aktivator transkripsi. Harbone (1996) dan Ren *et al.* (2003) menyatakan flavonoid dapat bertindak sebagai inhibitor si GST μ didapat pada dosis 300 mg/kg BB.

GST atau dapat pula memiliki efek induksi terhadap GST, bergantung jenis dan konsentrasi flavonoidnya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa efek penghambatan ekstrak etanolik *Gynura procumbens* terjadi pada fase inisiasi karsinogenesis yaitu pembentukan senyawa prokarsinogen menjadi karsinogen. Hal tersebut terjadi melalui mekanisme *blocking agent* yaitu menghambat ekspresi CYP1A1 serta mampu menginduksi enzim fase II (GST). Dosis optimum untuk menghambat ekspresi CYP1A1 dan menginduk.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada Program Hibah Bersaing XVI PP2M DIKTI yang telah membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anderson, L. E., Boorman, G. A., Morris, J. E., Sasser, L. B., Mann, P. C., Grumbein, S. L., Hailey, J. R., Mc Nally, A., Sills, R. C., and, Haseman, J. K. 1999. Effect of 13 weeks Magnetic Fields Exposure on DMBA-Initiated Mammary Gland Carcinomas in Female Sprague-Dawley Rats, *Carcinogenesis*, 20 (8), 1615-1620.
- Bowman, W. C., and M. J., Rand. 1989, Neoplastic Disease and Anticancer Drugs, in *Text Book of Pharmacology*, 2nd Ed, Blackwell Scientific Publications, Melbourne, 1- 23.
- Ciolino, H. P., Daschner P. J., Wang, T. T., and Yeh, G. C., 1998 . Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 56: 197-206.
- Harborne, J. B. 1996. The Flavonoids : *Advances In Research Since*, Chapman and Hall, London.

- Hayes, J. D., and Pulford, D. J. 1995. S-Transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprevention and drug resistance. *Biochem Mol Biol.* 30(6) : 445-600.
- Heidel, S. M., Mac Williams, P. S., Baird, W. M., Dashwood, W. M., Buters, J. T. M., Gonzalez, F. J., Larsen, M. C., Czuprynski, C. J., and Jefcoate, C. R., 2000. Cytochrome P4501B1 Mediates Induction of Bone Marrow Cytotoxicity and Preleukemia Cells in Mice Treated with 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, *Cancer Research*, 60, 3454-3460.
- Heyne, K. 1987. *Tanaman Berguna Indonesia*, jilid II, cetakan pertama, diterjemahkan oleh Badan Litbang Departemen Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, p. 1029.
- Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J. D., and Yamamoto. M., 1999. Keap1 Repress Nuclear Activation of Antioxidant Responsive Elements By Nrf2 Through Binding To The Amino-Terminal Neh2 Domain, *Carcinogenesis*, 13, (1), 76-86.
- Khan, T. H., Jahangir, T., Prasad, L., and Sultana, S. 2006. Inhibitory Effect of Apigenin on Benzo(a)pyrene-mediated Genotoxicity in Swiss Albino Mice, *J. Pharm. Pharmacol.*, 58(12), 1655-1660.
- Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers I., Bojkova B., Kalicka K., Adamekova E., Markova M., Chamilova, M. and Cermakova, M., 2002. Variability of Mammary Carcinogenesis Induction in Female Sprague-Dawley and Wista: Han Rats : the Effect of Season and Age, *Physiol. Res.* , 51,633-640.
- Le Blanc., G.A., and W.C., Dauterman. 2001. Conjugation and Elimination of Toxicants, in Hodgson, E., dan Smart, R., C., *Introductions to biochemical Toxicology*, 3rd ed., A John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Melendez-Colon,V., Luch,A., Seidel, A., and Baird, W. M., 1999. Cancer Initiation by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Results from Formation of Stable DNA Adducts rather than Apurinic Sites, *Carcinogenesis*, 20 (10), 1885-1891.
- Novalina. 2003. *Penggunaan Tanaman Obat Sebagai Upaya Alternatif dalam Terapi Kanker. Pengantar ke Falsafah Sain*. PPS Institut Pertanian Bogor.
- Nguyen, Sherrat and Pickett. 2003. Transcriptional Regulation of the Rat GSTA2 and NQO1 Genes by Bifunctional and Monofunctional Inducers, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 233-260, diambil dari <http://www.eohsi.rutgers.edu>, diakses pada Juni 2004.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., and Zhang, L., 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Review*, 23 (4): 519-534.
- Rizali, E. dan Auerkari Elza, I., 2003. Teknik Pewarnaan Silver (AgNOR) Sebagai Salah Satu Cara Menentukan Aktivitas Proliferasi Sel Tumor dan Apoptosis, *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia*, 10(3), 41-45.
- 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
- Russo, M., Tedesco, I., Iacomino, G., Palumbo, R., Galano, G., and Russo, G.L., 2005. Dietary Phytochemicals in Chemoprevention of Cancer, *Curr. Med. Chem. - Immun., Endoc. and Metab. Agents*, 5, 61-72.

- Santostefano M, Merchant M, Arellano L, Morrison V, Denison M. S, and S., Safe. 1993. ω -Naphthoflavone-induced CYP1A1 gene expression and cytosolic aryl hydrocarbon receptor transformation. *Mol Pharmacol* 43: 200-206.
- Singh S. V., Benson P. J., Hu X., Pal, A., Xia, H., Srivastava S. K., Awasthi, S., Zaren, H. A., Orchard, J. L., and Awasthi, Y. C., 1998. Gender-related differences in susceptibility of A/J mouse to benzo[a]pyrene-induced pulmonary and forestomach tumorigenesis. *Cancer Lett* 128: 197-204.
- Singletary, K., Macdonald, C., and Wallig, M., 1997. The Plasticizer Benzyl Butyl Phtalate (BBP) Inhibits 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced rat Mammary DNA Adduct Formation and Tumorigenesis, *Carsinogenesis* 18 (8) 1669-1673.
- Sudarto, B., dan Suwijoyo Pramono. 1985. Skrining Fitokimia Daun Dewa (*Gynura procumbens*, Luor Merr yang diduga berkhasiat sebagai anti-kanker, PPPT-UGM, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta.
- Sugiyanto, Sudarto, B., Meiyanto, E., Nugroho, A. E., dan Jenie, U. A., 2003. Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa Yang Berasal Dari Tumbuhan, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14(4), 216-225.
- Thomas, A. N. S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, hal 120-121.
- Walaszek, Z., Hanausek, M., and Slaga, T. J., 2004. Mechanisms of Chemoprevention, *Suppl. Am. Coll. Phys.*, 125, 128-133.
- Wattenberg, L. W. 1996. Inhibition of tumorigenesis in animals. *IARC Sci Publ* 139: 151-158.
- 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 β -Naphthoflavone on 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene Metabolism, DNA Adduction, and Tumorigenicity in Rainbow Trout, *Toxicological Sciences*, 57, 217-228.
- Yen, Gow-Chin, Duh, Pin-Der, Tsai, Hui-Ling, and Huang, Shih-Li. 2003. Pro-oxidative Properties of Flavonoids in Human Lymphocytes, *Biosci, Biotechnol, Biochem*, 67 (6), 1215-1222.
- Zhai, S., Dai, R., Friedman, F., and Vesta, R., 1998. Comparative Inhibition Of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 By Flavonoids, *Drug Metab. Disposition*, 26 (10): 989-992.
- Zhang, Y. and Gordon, G. B., 2004. A Strategy For Cancer Prevention : *Stimulation Of The Nrf2-ARE Signaling Pathway*, *Molecular Cancer Therapeutics*, 3 (7), 885-893.
- Zhang, F. F., Zheng, Y. F., Zhu H. J., Shen X. Y., and Zhu, X. Q., 2006. Effects of Kaempferol and Quercetin on Cytochrome 450 Activities in Primarily Cultured Rat Hepatocytes. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 35(1): 18-2.

* Korespondensi : Iwan Sahrial Hamid
 Farmakologi FKH Unair
 Email : kelana_dawley@yahoo.com