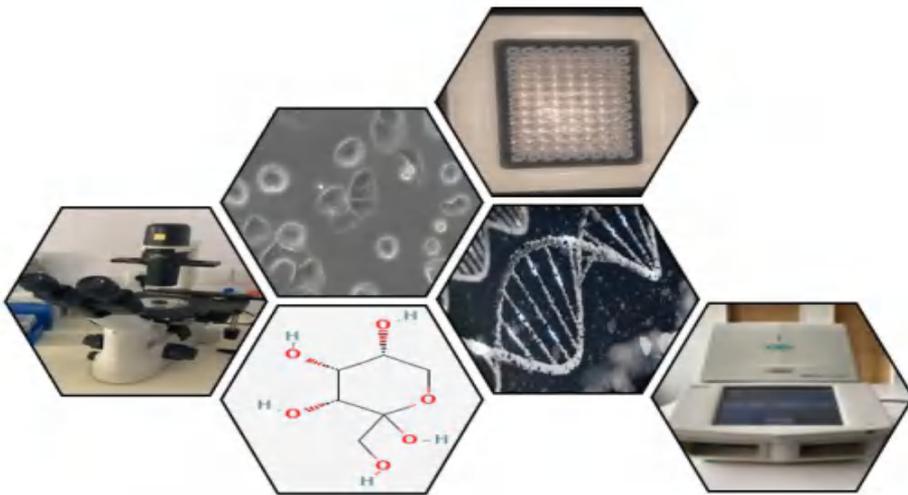


TESIS

EFEK D-PSICOSE TERHADAP PROLIFERASI DAN EKSPRESI GEN ENZIM ANTIOKSIDAN SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WiDr

THE EFFECT OF D-PSICOSE ON PROLIFERATION AND ANTIOXIDANT ENZYME GENE EXPRESSION IN WiDr COLORECTAL ADENOCARCINOMA CELLS



**INDAH DESTI PRATIWI
P062221002**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**EFEK D-PSICOSE TERHADAP PROLIFERASI DAN EKSPRESI GEN
ENZIM ANTIOKSIDAN SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WiDr**

**INDAH DESTI PRATIWI
P062221002**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**EFEK D-PSICOSE TERHADAP PROLIFERASI DAN EKSPRESI GEN
ENZIM ANTIOKSIDAN SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WiDr**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

**INDAH DESTI PRATIWI
P062221002**

Kepada



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

TESIS

EFEK D-PSICOSE TERHADAP PROLIFERASI DAN EKSPRESI GEN ENZIM ANTIOKSIDAN SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WIDr

INDAH DESTI PRATIWI

P062221002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Dua Puluh Sembilan bulan Agustus tahun Dua Ribu Dua Puluh Empat dan dinyatakan telah Memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 197701212003122003

dr. Ilhamuddin Azis, M.Si, M.Kes, Ph.D, Sp.KJ
NIP. 197909202006041013

Ketua Program Studi S2
Ilmu Biomedik,

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med. Ed
NIP. 19640218199032002



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med. Ed
NIP. 19640218199032002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Efek D-psicose terhadap Proliferasi dan Ekspresi Gen Enzim Antioksidan Sel Adenokarsinoma Kolorektal WiDr" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Dr.dr. Ika Yustisia, M.Sc. sebagai Pembimbing Utama dan dr. Ilhamuddin Azis, M.Si., M.Kes., Ph.D., Sp.KJ (K) sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Agustus 2024

Yang menyatakan,



Indah Desti Pratiwi



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahrabbi'lalamin. Rasa syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyusun dan menyelesaikan tesis yang berjudul **“EFEK D-PSICOSE TERHADAP PROLIFERASI DAN EKSPRESI GEN ENZIM ANTIOKSIDAN SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WiDr”** penulis akhirnya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc.** selaku Pembimbing Utama dan **dr. Ilhamuddin Azis, M.Si., M.Kes., Ph.D., Sp.KJ (K)**, selaku Pembimbing Pendamping, serta kepada Tim Penguji tesis saya **dr. Lia Hafiyani, M.Pharm.Sci., Ph.D, Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D., Sp.Biok(K)**, dan **Dr. dr. Syahrjuita Kadir, M.Kes, Sp.THT** yang telah memberi kesediaan waktu, saran serta bimbingan sejak masa perkuliahan hingga penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program magister serta para dosen program magister Ilmu Biomedik dan staf akademik.

Kepada BPPSDMK KEMENKES saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa Tubel SDM Kesehatan yang diberikan selama menempuh program pendidikan Magister. Kepala Laboratorium Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC) Makassar yang sudah banyak membantu dalam proses penelitian Tesis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta atas sembah sujud, doa, kesabaran, motivasi, dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis atas kepercayaan dan pengorbanan yang telah diberikan kepada saya selama masa Pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada suami tercinta, anak-anak, kakak dan adik tersayang. Dan terakhir terimakasih juga kepada teman – teman S2 Ilmu Biomedik angkatan 2022, yang saya banggakan atas semua ilmu dan bantuannya selama proses perkuliahan. Demikianlah dari penulis, mohon maaf dan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah Subhanahu wata'ala senantiasa membalas kebaikan kalian semua dan semoga tesis ini dapa bermanfaat bagi kita semua. Aamiin

Penulis,

Indah Desti Pratiwi



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ABSTRAK

INDAH DESTI PRATIWI. **Efek D-psicose terhadap proliferasi dan ekspresi gen enzim antioksidan sel adenokarsinoma kolorektal WiDr** (dibimbing oleh Ika Yustisia dan Ilhamuddin Azis)

Salah satu kanker dengan prevalensi tertinggi memiliki insidensi 1,9 juta kasus baru setiap tahun adalah kanker kolorektal. *D-psicose* memiliki efek antioksidan dengan cara mengikat oksidan dan meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase (GPx) superoksida dismutase (SOD) serta katalase (CAT). Penelitian ini untuk menguji efek *D-Psicose* terhadap ekspresi gen enzim antioksidan, SOD, GPx, dan CAT dan proliferasi galur sel adenokarsinoma kolorektal, WiDr. Dilakukan beberapa percobaan, dengan memasukkan sel ke dalam sumuran 96-well plate dan 6-well plate dan diberi perlakuan 12,5 dan 25 mM *psicose* (Psi), 12,5 dan 25 mM fruktosa (Fruk) serta kontrol *high glucose* (HG) dan *low glukose* (LG). Dilakukan pengamatan pada sel Kanker WiDr pada 0, 24, 48, dan 72 jam. Uji MTT dilakukan untuk mengevaluasi viabilitas sel kanker WiDr. Kemudian, dilakukan uji ekspresi gen dari CAT, GPx1, dan SOD2. Data dianalisis dengan uji Anova dan Kruscal wallis. Terjadi penurunan proliferasi sel WiDr yang ditumbuhkan di dalam medium LG, Psi1, Psi2 dan Fruk2. sedangkan pada Fruk1 mengalami peningkatan proliferasi setelah 72 jam. Uji viabilitas menunjukkan penurunan signifikan ($p < 0,05$) seluruh perlakuan dibandingkan dengan kontrol HG, dengan urutan dari yang terbesar Fruk2, Psi2, Fruk1, LG dan Psi1. Hasil *relative fold change* ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) menunjukkan ekspresi gen pada SOD seluruh kelompok mengalami penurunan signifikan dibandingkan HG, pada GPx dan CAT hanya Psi1 dan Psi2 yang mengalami peningkatan ekspresi yang signifikan. *D-psicose* dapat menurunkan ekspresi gen dari SOD, dan meningkatkan ekspresi gen GPx dan CAT serta menghambat proliferasi pada sel kanker WiDr.

Kata Kunci : D-psicose, sel WiDr, kanker kolorektal, ekspresi gen enzim antioksidan.

	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ABSTRACT

INDAH DESTI PRATIWI, Effect of D-psicose on proliferation and gene expression of antioxidant enzymes in WiDr colorectal adenocarcinoma cells (supervised by Ika Yustisia and Ilhamuddin Azis)

Among the highest prevalence cancers with, an incidence of 1.9 million new cases each year is colorectal cancer. D-psicose has antioxidant effects by binding oxidants and increasing the activity of glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) enzymes. This study was to determine the effects of D-Psicose on antioxidant enzyme gene expression (SOD, GPx, and CAT) and proliferation of WiDr colorectal adenocarcinoma cells. Several experiments were carried out by putting cells into 96 and 6-well plates and treated with 12.5 and 25 mM, psicose (Psi) 12.5 and 25 mM, Fructose (Fruc), and high glucose (HG) and low glucose (LG) controls. WiDr Cancer cells were observed at 0, 24, 48, and 72 hours. MTT assay was performed to evaluate cancer cell proliferation and viability. Then CAT, GPx1, and SOD2 gene expression tests were conducted. Data were analyzed using the ANOVA and Kruscal Wallis test. There was a decrease in the proliferation of WiDr cells grown in LG, Psi1, Psi2, and Fruc2 medium, while Fruc1 increased proliferation after 72 hours. The viability test showed a significant decrease ($p < 0.05$) in all treatments compared to HG control, with the order of the largest Fruc2, Psi2, Fruc1, LG, and Psi1. The results of relative fold change ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) showed that gene expression in SOD in all groups decreased significantly compared to HG; in GPx and CAT, only Psi1 and Psi2 experienced a significant increase in expression. D-psicose can reduce gene expression of SOD, increase gene expression of GPx and CAT and inhibit proliferation in WiDr cancer cells.

Keywords: D-psicose, WiDr cells, colorectal cancer, antioxidant enzyme gene expression.

	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian	8
1.5. Kerangka Teori	9
1.6. Kerangka Konsep	10
1.7. Hipotesis	10
BAB II. METODE PENELITIAN	11
2.1 Uji Proliferasi dengan MTT Assay	11
2.2 Ekspresi Gen SOD, GPx, dan CAT RT-PCR	16
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
3.1. Hasil	19
3.2. Pembahasan	22
BAB IV. PENUTUP	25
4.1. Kesimpulan	25
4.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	29



DAFTAR TABEL

Nomor Urut		Halaman
1.	Komposisi Medium Kultur Sel	12
2.	Komposisi Medium Perlakuan Pertumbuhan Sel	14



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Tahapan dan perkembangan kanker kolorektal	2
2. Perbedaan sel normal dan sel kanker dalam jalur glikolisis	3
3. Struktur Kimia D-Glukosa, D-Fruktosa, dan D-Psikosa	5
4. Pola proliferasi sel WiDr	19
5. Viabilitas Sel WiDr	20
6. Tingkat ekspresi relative mRNA SOD, GPx, dan CAT	21



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut		Halaman
1.	Surat Izin Etik Penrlitian	29
2.	Surat Izin Penelitian	30
3.	Analisis Data	31



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Keterangan/Arti
μ	Mikro
%	persen
°C	derajat Celsius
ACC	adenokarsinoma kolorektal
AMPK	mitogen-activated protein kinase
APC	adenomatous polyposis coli
ATP	Adenosin Triphosphate
CAT	Katalase
CIMP	CpG island methylator phenotype
COX	siklooksigenase
CPT	carnitine palmitoyltransferase
DAEase	D-allulose 3-epimerase
DTEases	D-tagatose 3-epimerase
EGFR	epidermal growth factor receptor
FDA	Food and Drug Administration
Fruc	Fruktosa
FSA	fatty acid synthase
GLUT	Glucose Transporter Type
GPx	Glutathione peroksidase
GRAS	Generally Recognized of Safe
H2O2	Hidrogen Peroksida
HG	High Glucose
HK	Hektokinase
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LG	Low Glucose
LOX	lipoksigenase
MSI	microsatellite Instability
Psi	Psicose
ROS	Reactive Oxygen Species
SGLT1	sodium-dependent glucose co-transporter 1
SOD	superoksida dismutase
	World Health Organization



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah salah satu masalah kesehatan terbesar dan penyebab kematian nomor dua di dunia (Rebecca L, et al., 2019). Satu dari enam kematian disebabkan oleh kanker. Jenis kanker pada pria dengan prevalensi tertinggi adalah kanker paru-paru, prostat, kolorektal, lambung dan hati sedangkan pada wanita, kanker payudara, kolorektal, paru-paru, serviks, tiroid (WHO, 2022).

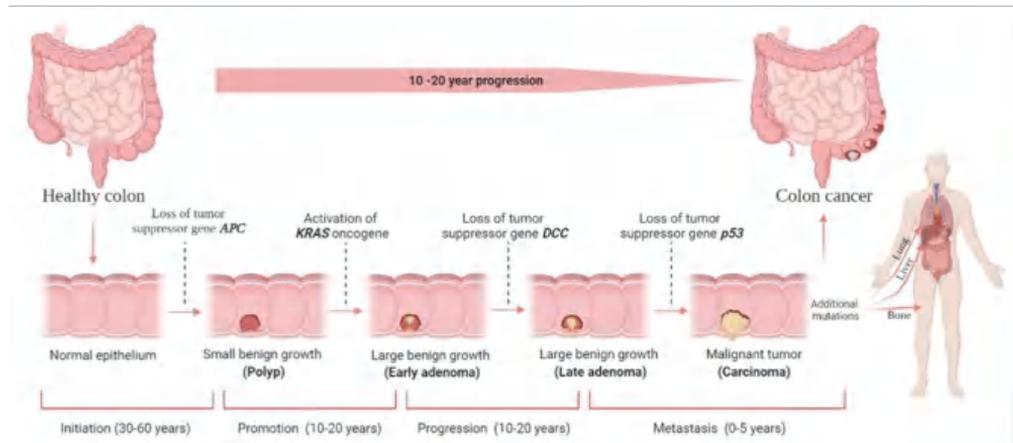
Jenis kanker yang berkaitan dengan sistem pencernaan yaitu kanker kolorektal yang mencakup kolon dan rektum (Marco AHL et al, 2019). Kanker kolorektal termasuk salah satu kanker dengan prevalensi tertinggi memiliki insidensi 1,9 juta kasus baru setiap tahun (WHO, 2020). Kanker Kolorektal atau Kanker Usus Besar merupakan suatu tumor maligna yang muncul dari jaringan epitel dari kolon atau rektum. Kanker kolorektal ditujukan pada tumor ganas yang menyerang jaringan usus besar (kolon) dan rektum (bagian usus paling bawah sampai anus/dubur). Penyebab kanker kolorektal masih belum diketahui, kasus dominan disebabkan oleh mutasi herediter, sebuah fenomena yang menunjukkan bahwa faktor lingkungan seperti gaya hidup, pola makan, dan komunitas mikroba memicu tumorigenesis. Dalam hal ini, yang paling sering terjadi setelah perolehan mutasi pada gen *adenomatous polyposis coli* (APC) yang memicu rangkaian peristiwa yang mengarah ke dalam ciri khas kanker (Dougherty MW, 2023)

Kanker kolorektal terjadi dengan asal mula polip yang merupakan pertumbuhan non neoplastik yang berkembang di lapisan mukosa kolon dan rektum. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan hipermetilasi gen yang menyimpang, terutama pada kanker kolorektal. Hipermetilasi gen ini dapat mengakibatkan matinya gen penekan tumor, sehingga mengakibatkan terbentuknya kanker kolorektal (Zannah SJ et al, 2021). Pada proses adenoma-karsinoma, perubahan genetik pada onkogen dan gen penekan tumor terjadi secara berurutan dari epitel normal ke epitel diplastik. Dalam hal proses inilah yang dapat menyebabkan perkembangan kanker kolorektal/*colorectal cancer* (CRC). Pada saat epitel kelenjar normal menjadi adenokarsinoma dan terakumulasi, maka hal inilah yang menyebabkan terjadinya perubahan genom baik genetik maupun epigenetik. Perubahan genetik dan epigenetik terjadi selama perkembangan kanker usus besar yang menyebabkan terjadinya aktivasi onkogen dan inaktivasi gen penekan tumor. *B-rapidly accelerated*



mengirim sinyal *epidermal growth factor receptor* (EGFR) ke *kras* (KRAS) yang merupakan suatu proto-onkogen yang *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Hal ini menyebabkan *colorectal cancer* (CRC) mengalami mutasi pada *kirsten rat* *B-rapidly accelerated fibrosarcoma* (B-Raf), sehingga memicu

jalur pensinyalan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan mendorong proliferasi serta menyebabkan kematian sel (Joufi FAA et al, 2022).



Gambar 1. Tahapan dan perkembangan kanker Kolorektal.
(Sumber : Hossain MS et al, 2022)

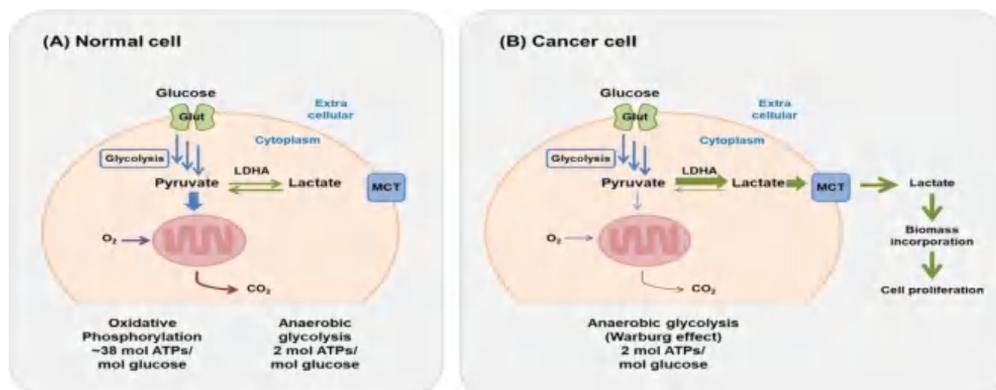
Selain itu perubahan non-genetik termasuk perubahan metabolisme yang berperan penting dalam perkembangan kanker kolorektal. Perubahan non-genetik ini ditandai dengan terjadinya proses pemrograman ulang epigenetik dan metabolik. Pemrograman ulang epigenetik adalah perubahan pada ekspresi gen yang tidak disebabkan oleh perubahan pada urutan DNA. Sedangkan pemrograman ulang metabolik adalah perubahan metabolisme sel kanker yang menyebabkan sel-sel tersebut lebih efisien dalam menggunakan energi. (Wang X, et al., 2022). Diagnosis kanker kolorektal dapat dilakukan secara bertahap, antara lain melalui anamnesis yang tepat, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang berupa pemeriksaan laboratorium, baik dari laboratorium klinik maupun laboratorium patologi anatomi (Sayuti M & Nouva N, 2019).

. Metabolisme sel pada kanker kolorektal khususnya jenis *adenocarcinoma colorectal* (ACC) memiliki perbedaan dari sel epitel kolon yang normal. Sel-sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) ini memiliki tingkat metabolisme yang tinggi dan dimediasi oleh perubahan pada jalur metabolisme glukosa, asam lemak dan protein. Pada sel-sel kolon yang normal memerlukan glukosa sebagai sumber energi utama. Glukosa dimetabolisme melalui jalur glikolisis dan siklus Krebs untuk menghasilkan *adenosin trifosfat* (ATP) (Fong Y, et al., 2022). Pada sel-sel *adenocarcinoma*



glikolisis mengalami peningkatan sehingga menghasilkan lebih *osfat* (ATP). Tingkat glikolisis pada sel-sel *adenocarcinoma* tingkat hingga 200% dibandingkan dengan sel-sel epitel kolon disebabkan oleh peningkatan ekspresi enzim glikolisis, seperti *hosphofruktokinase*.. Tingkat siklus Krebs pada sel-sel *prectal* (ACC) juga meningkat, disebabkan oleh peningkatan

ekspresi enzim siklus Krebs, seperti succinate dehidrogenase dan cytochrome c oxidase. Selain itu, sel-sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) dapat menggunakan asam lemak sebagai sumber energi untuk meningkatkan produksi *adenosin trifosfat* (ATP). Hal ini karena sel-sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) mengalami peningkatan ekspresi enzim pemecahan asam lemak, seperti carnitine palmitoyltransferase I dan fatty acid CoA synthetase (Lai L, et al., 2022). Pada sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) jalur metabolisme juga mengalami perubahan-perubahan yang menyebabkan sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) menjadi lebih bergantung pada metabolisme glukosa untuk menghasilkan energi. Perubahan-perubahan tersebut yaitu peningkatan aktivitas enzim glikolisis yang mengalami peningkatan dan hal inilah yang dapat memecah glukosa lebih cepat untuk menghasilkan energi; peningkatan ekspresi gen yang mengontrol jalur metabolisme glukosa yang dapat menyebabkan sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) menghasilkan lebih banyak enzim dan protein yang diperlukan untuk metabolisme glukosa; peningkatan resistensi insulin yang menyebabkan sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) resisten terhadap insulin sehingga sel *adenocarcinoma colorectal* (ACC) tidak dapat menggunakan glukosa darah secara efisien (Gupta S, et al., 2021).



Gambar 2. Perbedaan dalam Jalur Glikolisis antara sel normal dan sel kanker (Sumber : Kim, SHB 2021)

Proliferasi sel kanker ditandai dengan adanya perbedaan jalur metabolisme dalam sel normal. Perkembangan metabolisme abnormal sel kanker memanfaatkan jalur glikolisis dalam sel normal. Efek Warburg merupakan proses metabolisme yang utama pada sel kanker dan mempengaruhi respon seluler seperti proliferasi dan apoptosis. Efek Warburg adalah kecenderungan sel kanker menggunakan dan



kolisis bahkan dengan adanya oksigen. Dalam sel normal *adenosin trifosfat* (ATP) dengan satu molekul glukosa, sedangkan ya menghasilkan 2 *adenosin trifosfat* (ATP) (Heiden et al, 2009). dapatkan energi yang cukup, sel kanker membutuhkan lebih sa untuk bertahan hidup (Jadvar. H et al, 2016).

h sumber energi utama bagi sel-sel tubuh termasuk sel-sel er kolorektal mengalami perubahan metabolisme glukosa yang

menyebabkan sel-sel kanker tersebut menjadi lebih efisien dalam menggunakan glukosa. Jalur metabolisme yang menyebabkan sel-sel kanker menggunakan glukosa disebut jalur Warburg (Chen H, et al., 2022). Glukosa sangat dibutuhkan oleh sel kanker dalam pertumbuhan dan proliferasi (Makarem, et al., 2018). Selain *D-glucose*, *D-fructose* juga merupakan monosakarida yang penting bagi pertumbuhan sel kanker. Masuknya *D-fructose* ke dalam sel dapat mengaktifasi jalur yang berbeda dengan *D-glucose* dan bersifat suportif bagi efek Warburg. Peningkatan metabolisme *D-fructose* di dalam sel kanker mengaktifasi jalur sintesis asam urat yang dapat menghambat aconitase (enzim utama pada siklus Krebs) sehingga menginduksi disfungsi mitokondria dan memicu terjadinya peningkatan aktivitas jalur glikolisis aerobik (efek Warburg) (Nakagawa T, et al, 2020).

Penelitian di bidang metabolisme kanker berkembang pesat, namun kemajuan dalam penargetan metabolisme sel kanker masih sangat terbatas. Beberapa obat yang berbasis metabolisme untuk kanker berhasil dikembangkan dan beberapa diantaranya masih sedang menuju tahap uji klinis sehingga masih dikategorikan dengan jumlah yang sedikit. (Stine, et al, 2022). Di samping pengembangan obat yang menarget *metabolic reprogramming* kanker, pendekatan penargetan metabolisme kanker adalah melalui pembatasan ambilan *D-glucose* melalui diet rendah karbohidrat seperti diet ketogenik atau diet rendah fruktosa (Poff A, et al, 2019). Di samping itu pendekatan lainnya adalah dengan mengganti *D-glucose* atau *D-fructose* dengan monosakarida lain yang memiliki konsekuensi metabolik rendah. Pendekatan ini memiliki aspek preventif kanker yang tinggi sehingga dapat diarahkan untuk terapeutik. Terutama manusia yang secara umum menyukai makanan manis. Tanpa adanya indikasi maka akan sulit membuat program diet rendah gula pada orang sehat. Sehingga monosakarida pengganti gula konvensional dapat menjadi solusi alternatif (Chen Z, et al, 2022).

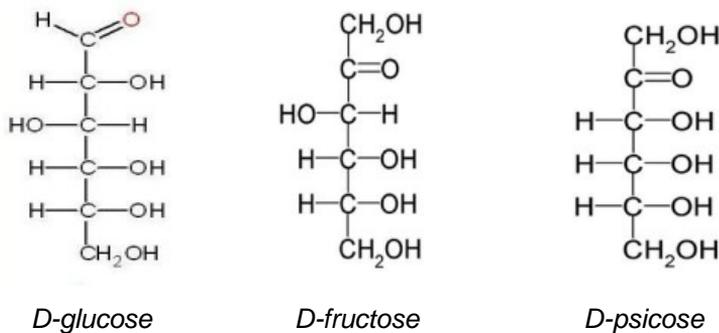
Gula langka (*rare sugar*) didefinisikan sebagai monosakarida dan turunannya yang jarang ditemukan di alam. Namun kemajuan teknologi dalam produksi gula langka dalam skala besar memungkinkan berbagai studi menganalisis aktivitas biologis dan manfaatnya bagi kesehatan. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa gula langka menunjukkan aktivitas yang bermanfaat termasuk anti-obesitas, anti diabetes, anti-mikroorganisme patogen, dan memiliki efek antitumor (Chen Z, et al, 2022).

D-psicose disebut juga *D-allulose* adalah gula langka alami yang didefinisikan sebagai monosakarida dan turunannya yang ada di alam dengan jumlah yang terbatas. Gula langka alami yang dapat ditemukan pada sumber alami dan komersial (Sa S et al, 2022). *D-psicose* yang sangat langka di alam, dan ditemukan dalam

... dan gandum, yang juga terdapat pada bakteri tertentu dan sedikit ... *D-psicose* tidak terdapat pada hewan. Namun, telah ... sebagai bahan makanan, seperti campuran komersial *D-glucose* ... yang dikukus ... tebu olahan dan molase bit, dan jus buah, saus ... makanan lainnya dengan proses pemanasan jangka panjang. ... se dalam berbagai bahan makanan berkaitan erat dengan ... dan waktu pemanasan selama proses pembuatan (Ayers et



D-psicose merupakan monosakarida ketohexose dengan rumus molekul $C_6H_{12}O_6$ dan berat molekul (CAS No. 551-68-8) masing-masing adalah 180,16 g/mol. Yang merupakan produk epimerisasi *D-fructose* bioaktif pada posisi C-3 yang pertama kali berasal dari antibiotik Psicofura-sembilan. Memiliki satu gugus keton yang bertindak sebagai agen pereduksi (Wei ZJ et al, 2021). Secara sistematis dinamakan D-ribo-2-hexulose oleh *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC). Dibuat sebagai bubuk kristal putih, tidak berbau, melalui sistem orto-belah ketupat, dan mengkristal hanya sebagai bD-piranosida dengan 1C (mengandung satu gugus keton, bertindak sebagai pereduksi D-ketosa (Zhang et al, 2016).



Gambar 3. Struktur Kimia *D-glucose*, *D-fructose* dan *D-psicose*
 Sumber : (Wei ZJ et al, 2021)

D-psicose merupakan epimer dari *D-fructose*, termasuk dalam jenis gula langka yang telah memperoleh status *Generally Recognized of Safe* (GRAS) oleh *Food and Drug Administration* (FDA) (Chen Z, et al., 2022). Monosakarida ini pun telah dipasarkan dan digunakan sebagai pengganti gula bagi individu yang menjalani diet ketogenik. Studi menunjukkan *D-psicose* tidak bersifat teratogenik dan efek toksik diperkirakan baru akan muncul pada dosis di atas 5000 mg/kg/hari (Gao X, et al., 2022). *D-psicose* memiliki sifat anti-obesitas melalui penghambatan lipogenesis dengan cara menurunkan aktivitas *fatty acid synthase* (FSA) dan peningkatan aktivitas β -oksidasi serta *carnitine palmitoyltransferase* (CPT) pada jaringan adiposa). Selain itu *D-psicose* memiliki efek anti-hiperglikemia dengan cara menghambat aktivitas glukokinase dan glukosa 6-fosfatase. *D-psicose* juga memiliki efek antioksidan dengan cara mengikat oksidan dan meningkatkan aktivitas *superoksida dismutase* (SOD) serta *katalase* (CAT) (Chen Z et al, 2022). Zeng Y et al., (2022) menyatakan bahwa *D-psicose* dapat bertindak sebagai antioksidan potensial



Optimized using
 trial version
www.balesio.com

h satu jenis pemanis fungsional baru memiliki sifat rendah kalori tinggi, meningkatkan tekstur dan rasa makanan, memiliki fungsi mengurangi lemak dan menurunkan berat badan, sebagai *psicose* juga memiliki nilai aplikasi penting dalam makanan,

kesehatan, medis, dan bidang lainnya. Manisnya *D-psicose* benar-benar mirip dengan *D-fructose*. Namun, kebalikan dari *D-fructose*, karena ketika diserap ke dalam tubuh, jarang dimetabolisme, sehingga memiliki karakteristik nol kalori. Pada saat yang sama, itu juga dapat menekan aktivitas enzim yang berhubungan dengan sintesis lipid mengurangi obesitas perut (Chen Z et al, 2022). Penyerapan dan metabolisme *D-psicose* ditemukan bahwa sekitar 70% *D-psicose* diserap di usus kecil tanpa dimetabolisme menjadi energi dan kemudian disekresikan melalui urin dalam waktu 24 jam. Selain itu, sebagian kecil *D-psicose* dipindahkan ke usus besar, dan jarang melalui proses fermentasi dan jarang difermentasi di usus buntu (Zhang et al, 2016). Meskipun *D-glucose*, *D-fructose* dan *D-allulose* dimediasi oleh transporter yang sama yaitu *glucose trans-porter 2* (GLUT2), akan tetapi penyerapan dan penghabisan monosakarida dalam enterosit usus manusia dimediasi oleh transporter yang berbeda dan terletak secara terpisah pada membran brush border dan membran basolateral. Penyerapan *D-glucose* dimediasi oleh transporter aktif *sodium-dependent glucose co-transporter 1* (SGLT1), sedangkan *D-allulose* serta *D-fructose*, masuk ke dalam enterosit melalui transporter pasif *glucose transporter 5* (GLUT5) (Zhang et al, 2016).

Fungsi *D-psicose* sebagai pemanis rendah kalori, memiliki rasa manis setara dengan 70% sukrosa, dan energinya hanya 0,3% sukrosa sehingga dapat digunakan sebagai pengganti sukrosa yang ideal. Dapat menurunkan gula darah dengan menghambat aktivitas glikosidase; dapat mengurangi akumulasi lemak dengan menghambat aktivitas lipase hati; serta meningkatkan kualitas makanan (Chen Z et al, 2022). Fungsi fisiologis *D-psicose* berbeda-beda, seperti efek anti-hiperglikemik, efek anti-hiperlipidemia, efek anti-inflamasi, efek neuroprotektif, aktivitas pemulungan *reactive oxygen species* (ROS) dan efek terapeutik terhadap aterosklerosis. Selain itu, juga dapat meningkatkan sifat pembentuk gel pada makanan, meningkatkan kenikmatan rasa makanan, dan mengurangi tingkat oksidasi yang terjadi melalui reaksi Maillard selama pengolahan makanan (Zhang et al, 2016).

Stres oksidatif adalah fenomena yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara produksi dan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel dan jaringan serta kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif tersebut. *reactive oxygen species* (ROS) memiliki beberapa peran fisiologis yaitu sebagai sinyal sel dan biasanya dihasilkan sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen. Pemicu stres lingkungan (misalnya UV, radiasi pengion, polutan, dan logam berat) dan xenobiotik (misalnya obat antiblastik) berkontribusi besar dalam meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), sehingga



ketidakseimbangan yang menyebabkan kerusakan sel dan jaringan (Pizzino G et al, 2017). Radikal superoksida, *hidrogen peroksida* (H_2O_2), dan *oksigen singlet* (1 O_2) umumnya didefinisikan sebagai *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan sebagai produk sampingan dari sistem biologis *hidrogen peroksida* (H_2O_2) (Pizzino G et al, 2017). Proses seperti fosforilasi protein, aktivasi beberapa faktor transkripsi, dan diferensiasi, semuanya bergantung pada produksi *reactive*

oxygen species (ROS) yang tepat dan keberadaannya di dalam sel yang perlu dijaga pada tingkat rendah. Ketika produksi *reactive oxygen species* (ROS) meningkat, mereka mulai menunjukkan efek berbahaya pada struktur seluler penting seperti protein, lipid, dan asam nukleat. Sejumlah besar bukti menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat bertanggung jawab, dengan tingkat kepentingan yang berbeda-beda, dalam permulaan dan/atau perkembangan beberapa penyakit (misalnya kanker, diabetes, gangguan metabolisme, aterosklerosis, dan penyakit kardiovaskular) (Pizzino G et al, 2017).

Secara fisiologis maupun patologis (ROS) diproduksi oleh mitokondria, O₂ dibentuk oleh respirasi sel oleh *lipoksigenase* (LOX) dan *siklooksigenase* (COX) selama metabolisme asam arakidonat, dan oleh sel endotel dan inflamasi. Terlepas dari kenyataan bahwa organel-organel ini memiliki kapasitas pemulungan *reactive oxygen species* (ROS) intrinsik, dimana hal ini cukup untuk memenuhi kebutuhan seluler untuk membersihkan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) yang diproduksi oleh mitokondria. Sel menyebarkan sistem pertahanan antioksidan terutama berdasarkan komponen enzimatik, seperti *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), dan *glutathione peroksidase* (GPx), untuk melindungi diri dari kerusakan sel yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS) (Pizzino G et al, 2017).

Penelitian sebelumnya menunjukkan hasil yang masih bervariasi dari pengaruh *D-psicose* terhadap proliferasi sel. Jiang et al. menunjukkan bahwa *D-psicose* memiliki efek anti tumor yang potensial dengan menghambat pertumbuhan dan penyebaran sel kanker dengan berbagai cara, termasuk mencegah angiogenesis, apoptosis, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Jiang, et al., 2020). Wei et al. memperoleh hasil *D-psicose* dapat menginduksi efek toksik pada sel otot dengan cara meningkatkan kadar senyawa oksigen reaktif (Wei ZJ, et al., 2021). Wang et al, menemukan bahwa *D-psicose* dapat menghambat sel kanker payudara (Wang et al, 2022). Secara umum masih sedikit data terkait peran *D-psicose* terhadap sel kanker.

Berdasarkan uraian tersebut diatas, sehingga mendorong peneliti untuk melakukan penelitian dengan menginvestigasi efek penambahan *D-psicose* dengan variasi konsentrasi pada proliferasi dan ekspresi gen enzim antioksidan sel adenokarsinoma kolorektal WiDr.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :



a efek suplementasi monosakarida *D-fructose* vs. *D-psicose* ekspresi mRNA *superoksida dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase* (GPx), dan *katalase* (CAT) sel kanker WiDr?
-*psicose* dapat menghambat proliferasi sel kanker WiDr?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan dalam penelitian ini yaitu:

- 1.3.1 Menganalisis ekspresi mRNA *superoksida dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* (GPx), dan *katalase* (CAT) sel kanker WiDr yang ditumbuhkan pada medium pertumbuhan dengan penambahan monosakarida *D-fructose* vs. *D-psicose*.
- 1.3.2 Menganalisis kemampuan proliferasi sel kanker WiDr yang ditumbuhkan pada medium pertumbuhan dengan penambahan monosakarida *D-fructose* vs. *D-psicose*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bidang Keilmuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih baik tentang bagaimana *D-psicose* mempengaruhi sel kanker kolorektal khususnya di bidang Kedokteran dan Biokimia serta Biologi sehingga penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan penelitian lanjutan yang dapat digunakan sebagai strategi baru untuk pencegahan atau pengobatan kanker kolorektal.

1.4.2 Peneliti

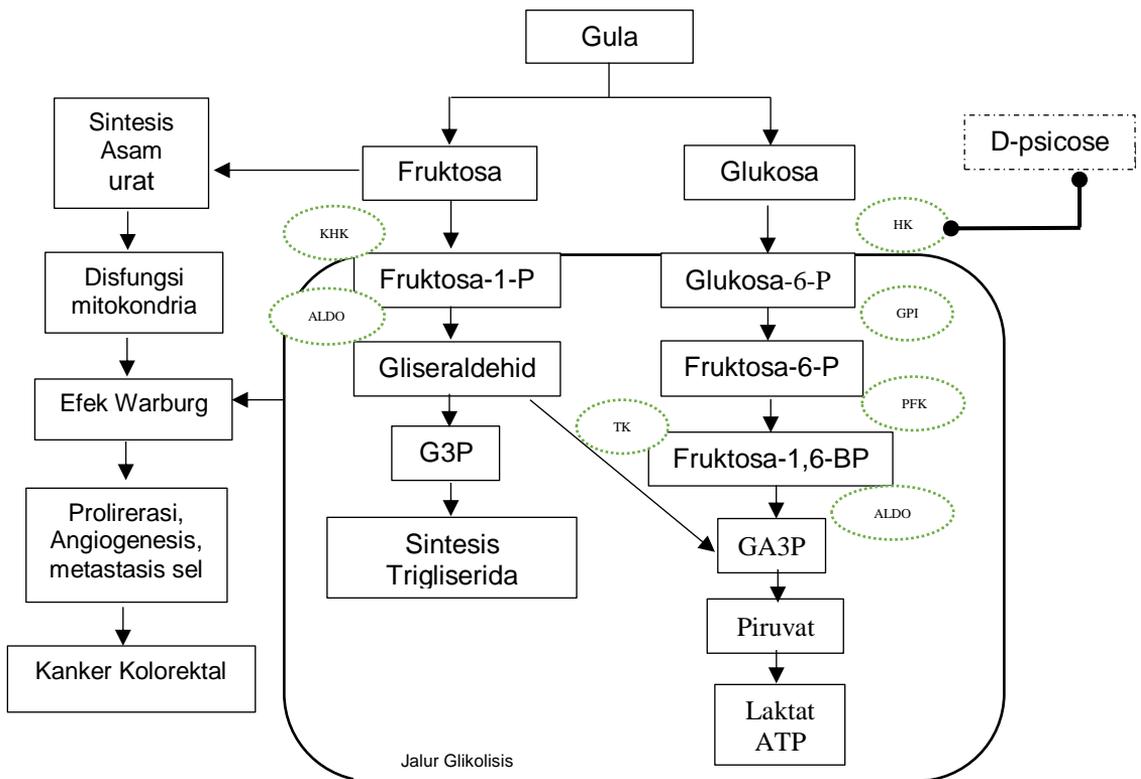
Membantu peneliti untuk meningkatkan keterampilan dan pengetahuan dalam bidang penelitian kanker serta pengakuan dalam komunitas ilmiah.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi terhadap masyarakat untuk lebih memahami kanker kolorektal dan potensi manfaat *D-psicose* dalam pencegahan dan pengobatan kanker ini, sehingga memberikan kontribusi dalam peningkatan kualitas hidup penderita kanker kolorektal.



1.5 Kerangka Teori



Keterangan :

- : Variabel yang diteliti
- : Variabel yang tidak diteliti
- : Menghambat
- : Berhubungan

Gula merupakan salah satu faktor resiko penyebab kanker. Glukosa salah satu jenis gula yang merupakan sumber energi utama bagi sel-sel tubuh termasuk sel kanker.

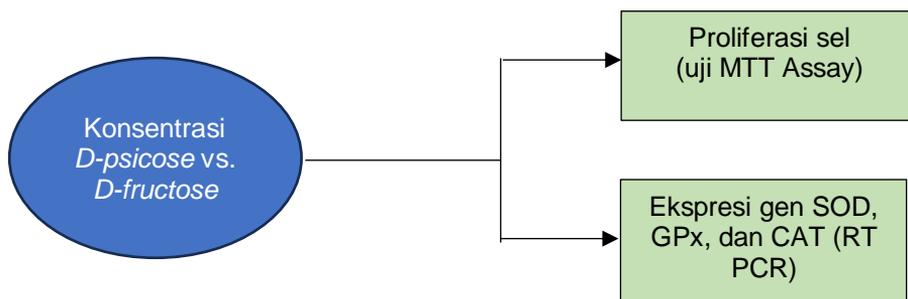


Optimized using
trial version
www.balesio.com

ditentukan oleh sel kanker dalam pertumbuhan dan proliferasi. Kanker dengan pertumbuhan yang tak terkendali sehingga akan glukosa secara berlebih melalui jalur glikolisis (efek an glukosa yang berlebih menyebabkan peningkatan aktivitas Glukosa, Fruktosa juga merupakan monosakarida yang penting l kanker. Masuknya fruktosa ke dalam sel dapat mengaktifasi dengan glukosa dan bersifat supotif bagi efek Warburg.

Peningkatan metabolisme fruktosa di dalam sel kanker mengaktifasi jalur sintesis asam urat yang dapat menghambat aconitase (enzim utama dalam siklus krebs) sehingga menginduksi disfungsi mitokondria dan memicu terjadinya peningkatan aktivitas jalur glikolisis aerobik (efek warburg). Fruktosa mengalami glikolisis yang lebih cepat dibanding glukosa karena pada proses katalisis tidak melewati enzim pengendali *Posfofruktokinase* (PFK) yang mengontrol reaksi katabolisme glukosa. Jalur glikolisis fruktosa melalui fruktosa 1 pospat (F1P) yang mengaktifkan *gliseraldehid* (GA) dan menghasilkan *gliserol-3-fosfat* (G3P) dan menghasilkan sintesa lipid. di samping itu *gliseraldehid* (GA) dapat masuk melalui jalur glikolisis oleh enzim *triosa kinase* (TK) menghasilkan *gliseraldehyde-3-fosfat*(GA3P) yang kemudian menjadi piruvat. Jalur glikolisis aerobick yang diaktifkan menghasilkan ATP, sintesa lipid, jalur pentose fosfat, dan produksi laktat. *D-psicose* merupakan epimer dari fruktosa yang masuk ke dalam tubuh secara difusi yang difasilitasi oleh transporter yang sama dengan fruktosa yaitu Glut 5. *D-psicose* dapat menghambat aktivitas enzim *heksokinase* (HK) yang merupakan enzim kunci dalam jalur glikolisis sehingga dapat memperlambat atau menghentikan produksi ATP sehingga diharapkan *D-psicose* dapat dibunakan sebagai inhibitor terhadap sel kanker, khususnya sel kanker kolorektal.

1.6 Kerangka Konseptual



Keterangan :

 : Variabel Bebas

 : Variabel Terikat



1.7 Hipotesis

Hipotesis yang disusun dalam penelitian ini adalah :

- 1.7.1 Terjadi penurunan tingkat ekspresi mRNA *superoksida dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase* (GPx), dan *katalase* (CAT) setelah suplementasi *D-psicose* terhadap sel kanker WiDr.
- 1.7.2 Terdapat efek penghambat proliferasi dari suplementasi *D-psicose* terhadap sel kanker WiDr.

