



EFEK DLBS1425 TOPIKAL BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP EKSPRESI COX-2 KORNEA TIKUS WISTAR PASCA TRAUMA BASA

Satya Utama Pragnanda¹⁾, Trilaksana Nugroho²⁾, Sri Inakawati²⁾

THE EFFECT OF TOPICAL DLBS1425 OF VARIOUS CONCENTRATIONS ON CORNEAL COX-2 EXPRESSION OF WISTAR RAT POST TRAUMA BASE

ABSTRACT

Background: Chemical trauma on the surface of the eyeball is a common problem. Strong base trauma increases the pH of the tissue, resulting in hydroxide (OH-) ions penetration into the corneal epithelial tissue causing saponification of cell membranes and tissue hydrolysis. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is an important enzyme in the synthesis of inflammatory mediator precursors. DLBS1425, a pharmaceutical fraction extract of *Phaleriamacrocarpa*, has anti-inflammatory effect. The objectives of this research was to prove topical DLBS1425 of various concentrations effect on corneal COX-2 expression of Wistar rat post trauma base.

Methods: This is a post-test only randomized controlled group design study. Twenty four Wistar mouse eyes received 1M NaOH exposure, divided into 4 groups. Group K was given Hyalub drops, while P1, P2, and P3 were given DLBS1425 drops of concentration 1×10^1 mg/ml, 1×10^0 mg/ml, and 1×10^{-1} mg/ml. After 7 days, COX-2 corneal expression was assessed immunohistochemically. Statistical analyze were Kruskal Wallis and Mann Whitney tests.

Results: Mean of COX-2 expression in group K = 4,86, P1 = 3,30, P2 = 3,73, and P3 = 4,13. There was a decrease in all treatment groups, compared to controls, where P1 has a Statistical difference significantly ($p = 0.015$).

Conclusion: DLBS1425 topical has a decreasing effect of COX-2 corneal expression of Wistar rats following basic trauma.

Keywords: Basic trauma, corneal inflammation, *Phaleriamacrocarpa*, DLBS1425, COX-2

ABSTRAK

Latar belakang: Trauma kimia pada permukaan bola mata merupakan masalah umum dengan derajat yang berbeda mulai ringan sampai berat. Trauma basa kuat meningkatkan pH jaringan, sehingga ion hidroksida (OH-) penetrasi pada jaringan epitel kornea menyebabkan saponifikasi membran sel dan hidrolisis jaringan. Cyclooxygenase-2 (COX-2) merupakan enzim yang penting dalam sintesis prekursor mediator inflamasi. Obat anti inflamasi steroid dapat menghambat hal ini, sehingga memiliki efek anti inflamasi yang poten, namun memiliki banyak efek samping. *Phaleriamacrocarpa* adalah tanaman obat asli Indonesia yang memiliki efek anti inflamasi. DLBS1425 merupakan sediaan farmasi ekstrak *Phaleriamacrocarpa* yang memiliki efek anti inflamasi. Penelitian ini bermaksud membuktikan DLBS1425 topikal berbagai konsentrasi memiliki efek terhadap ekspresi COX-2 kornea tikus Wistar pasca trauma basa.

Metode: Merupakan penelitian *post-test only randomized controlled group design*. 24 mata tikus Wistar mendapat paparan NaOH 1M, dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok K diberi tetes Hyalub, sedangkan P1, P2, dan P3 diberi tetes DLBS1425 konsentrasi 1×10^1 mg/ml, 1×10^0 mg/ml, dan 1×10^{-1} mg/ml. Setelah 7 hari, dinilai ekspresi COX-2 kornea secara imunohistokimia. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney.

Hasil: Rerata ekspresi COX-2 kelompok K=4,86, P1=3,30, P2=3,73, dan P3=4,13. Terdapat penurunan pada semua kelompok perlakuan, dibanding kontrol, dimana P1 berbeda signifikan secara statistik ($p=0,015$).

Simpulan: DLBS1425 topikal konsentrasi 1×10^1 mg/ml memiliki efek penurunan ekspresi COX-2 kornea tikus Wistar pasca trauma basa dibanding kontrol.

¹⁾ Staf Pengajar Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Kata kunci: Trauma basa, inflamasi kornea, DLBS1425, COX-2

PENDAHULUAN

Kornea merupakan struktur transparan dan avaskuler yang tersusun oleh serabut kolagen yang tersusun paralel dan menempel pada matriks ekstraseluler glikosaminoglikan. Kornea tersusun atas lima lapisan yang terdiri atas epitel, *Bowman layer*, stroma, *Descemet's membrane*, dan endothelium. Epitel kornea tersusun atas sel epitel skuamosa bertingkat dengan ukuran 5% ketebalan kornea. Lapisan stroma merupakan lapisan paling tebal pada kornea yang terdiri atas serabut kolagen. Endotel kornea tersusun atas sel hexagonal.^{1,2} Gangguan integritas lapisan kornea oleh karena trauma dapat menyebabkan terjadinya suatu reaksi inflamasi.²

Trauma kimia pada permukaan bola mata merupakan masalah umum dengan derajat yang berbeda mulai dari iritasi ringan sampai kerusakan total dari epitel kornea.¹ Trauma kimia mencapai 7-18% dari seluruh kasus trauma mata yang ada di unit gawat darurat di Amerika Serikat, sekitar 84% adalah trauma basa. Dalam studi lain dijelaskan insidensi dari trauma kimia adalah 23,4 per 10.000 orang. Dilaporkan dalam sebuah serial kasus 64 pasien dengan trauma basa, 17% nya mengalami trauma grade IV dengan luka yang berat, neovaskularisasi, dan gangguan penglihatan berat.³ Trauma basa kuat meningkatkan pH jaringan, sehingga sejumlah besar ion hidroksida (OH⁻) penetrasi pada jaringan epitel kornea menyebabkan saponifikasi dari membran sel dan hidrolisis dari matriks kornea yang terdiri atas glikosaminoglikan dan kolagen. Seiring dengan derajat cedera jaringan, terjadi peningkatan tekanan intra okuler sebagai akibat dari pelepasan prostaglandin yang bertindak sebagai mediator inflamasi.²

Inflamasi didefinisikan sebagai reaksi lokal jaringan terhadap cedera. Proses inflamasi diperlukan sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh serta penyembuhan luka yang membutuhkan komponen selular untuk membersihkan debris serta meningkatkan perbaikan jaringan. Gejala inflamasi dini ditandai dengan pelepasan berbagai mediator inflamasi.⁴ Agen atau stimulus penyebab inflamasi menyebabkan terjadinya kerusakan atau gangguan pada membran sel dan mengaktifkan jalur

siklooksigenase. Siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) yang mengkatalisis asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG) dan tromboksan (TXs), merupakan mediator penting yang terlibat dalam proses inflamasi.⁵

Kortikosteroid merupakan antiinflamasi yang secara luas digunakan selama ini, termasuk pada kasus trauma kimia basa pada kornea. Pada trauma basa terjadi pelepasan kolagenase dan protease sehingga terjadi kerusakan epitel kornea. Kerusakan epitel kornea dapat mempercepat penetrasi steroid topikal.^{6,7}

Mekanisme aksi kortikosteroid adalah menghambat jalur prostaglandin dengan menstimulasi produksi lipomodulin sehingga secara tidak langsung menghambat pelepasan asam arachidonat, mengurangi aktivitas kolagenase dan menurunkan infiltrasi PMN. Penggunaan jangka panjang memiliki efek samping.^{7,8}

Efek samping dari penggunaan steroid jangka panjang diantaranya adalah menghambat reepitelisasi dan sintesis kolagen, peningkatan tekanan intra okuler, serta pembentukan katarak.^{6,7} Oleh karena itu, diperlukan terapi antiinflamasi yang memiliki potensi seperti kortikosteroid dengan efek samping yang minimal, salah satunya terapi alami dengan tanaman herbal.⁸

Tanaman obat (*herbal medicine*) merupakan salah satu metode pengobatan alami (*back to nature*) yang banyak dipraktikkan dan dibawa ke Indonesia sejak dahulu kala oleh bangsa Cina. Mahkota dewa (*Phaleriamacrocarpa*) merupakan salah satu contoh tanaman obat yang dapat mengatasi kanker baik secara tunggal maupun ajuvan kemoterapi.⁸ Menurut Wijayakusuma (2005), mahkota dewa memiliki kandungan kimia alkaloid, terpenoid, saponin, resin, senyawa lignan (polifenol), dan flavanoid. Alkaloid merupakan senyawa organik yang berfungsi sebagai detoksikan yang menetralkan racun-racun di dalam tubuh. Saponin merupakan senyawa yang bersifat anti bakteri dan antivirus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengurangi kadar gula darah, dan mengurangi penggumpalan darah. Flavonoid adalah suatu antioksidan alam yang mempunyai aktivitas biologis, antara lain sebagai antioksidan yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi, serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal

hidroksil, superoksida, dan radikal peroksil. Menurut Sumastuti (2002) daun serta buah Mahkota dewa mengandung saponin dan flavonoid yang mempunyai efek antihistamin.⁸

Penelitian oleh Lusiana (2006) menjelaskan bahwa pada formulasi sediaan tablet effervescent Mahkota dewa mempunyai efek menghambat sel kanker rahim (*in vitro*), aktivitas antioksidan, hipoglikemik, dan antiradang.⁹ Ekstrak Mahkota Dewa memiliki efek antiproliferatif dan proapoptosis melalui jalur *eicosanoid* khususnya menurunkan ekspresi COX-2 dan Cytoplasma Phospholipid A2 (C-PLA2) dan bertindak sebagai agen antiproliferatif pada selkanker.¹⁰ DLBS1425 merupakan fraksi bioaktif terstandardisasi dari daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang memiliki efek anti proliferasi, anti inflamasi, dan anti angiogenik.¹⁰

Obat-obat mata dapat diberikan melalui berbagai rute sesuai dengan target terapinya. Namun secara khusus pemberiannya dapat dikelompokkan secara topikal, periokuler, intrakameral, dan intravitreal.⁵ Di antara berbagai rute pemberian obat tersebut, pemberian obat secara topikal lebih banyak dipilih untuk jenis penyakit ekstraokuler, terutama untuk penyakit/lesi yang terletak di permukaan bola mata.⁵

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap kanker payudara, DLBS1425 memiliki efek terapeutik. Sel yang dimiliki oleh payudara, gaster, kolon dan prostat memiliki sel yang sama pada permukaan bola mata yaitu sel epitel dan sel skuamosa, maka DLBS1425 diharapkan dapat digunakan juga sebagai terapi pada penyakit-penyakit mata.¹⁰

Kisaran dosis *in vitro* yang dilaporkan dapat menghambat proliferasi tergantung dari dosis yang digunakan yaitu 5 – 100 µg/mL atau 5 x 10⁻³ mg/mL - 1 x 10⁻¹ mg/mL, namun secara *in vivo* belum pernah dilaporkan.¹⁰ Berdasarkan kisaran dosis *in vitro* yang terbesar, dilakukan eksperimen dengan berbagai dosis kelipatan 10 mg/ml yaitu 1 x 10⁻¹ mg/mL, 1 x 10⁰ mg/mL, dan 1 x 10¹ mg/ml.^{11,12}

Penelitian ini adalah salah satu rangkaian penelitian efek DLBS1425 di bidang oftalmologi. Di bidang oftalmologi, belum ada penelitian yang menjelaskan efek Mahkota Dewa terhadap ekspresi COX-2 pada kornea mata secara *in vivo*. Sebelum sampai pada tahap penelitian Mahkota Dewa sebagai terapi topikal, penelitian ini akan meneliti

efek DLBS1425 topikal berbagai konsentrasi terhadap ekspresi COX-2 pada kornea mata tikus pasca trauma basa.

METODE

Penelitian ini merupakan suatu uji eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only randomized controlled group design* yang menggunakan hewan coba tikus wistar yang diberikan perlakuan DLBS 1425 topikal dengan berbagai konsentrasi pasca trauma basa pada kornea.

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang berusia 6–8 minggu atau mempunyai berat badan 150 – 200 gram yang dikembangbiakkan dan dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

Tikus diadaptasikan selama satu minggu kemudian diberikan perlakuan trauma basa dengan cara kornea mata kanan tikus sampel yang sudah di anestesi topikal, mendapat paparan NaOH 1M dengan diameter 1 mm pada sentral kornea selama 20 detik dan diberikan irigasi aqua steril sampai pH netral.

Setelah mendapat trauma basa pada kornea mata kanan dilakukan randomisasi menjadi 4 kelompok masing-masing berisi 6 tikus, dimana kelompok kontrol diberikan tetes mata hyalub, kelompok perlakuan I diberikan tetes mata DLBS1425 topikal konsentrasi 1x10¹mg/dl, kelompok perlakuan II diberikan DLBS1452 topikal konsentrasi 1x10⁰ mg/dl, dan kelompok perlakuan III diberikan DLBS1452 topikal konsentrasi 1x10⁻¹ mg/dl. Seluruh kelompok diberikan tetes mata dengan frekuensi satu tetes setiap 4 jam selama 7 hari.

Cara pembuatan sediaan DLBS1425 topikal:^{11,12}

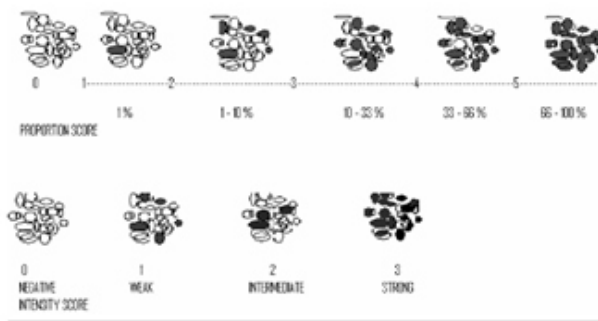
- Kapsul DLBS1425, 150 mg ditambahkan ke dalam tetes mata Hyalub 5 ml, konsentrasi menjadi 1 ml = 30 mg
- Diencerkan lagi dengan Hyalub sebanyak 3 kali, konsentrasi menjadi 1 ml = 10 mg (1 x 10¹ mg/ml)
- Diencerkan dengan Hyalub sebanyak 10 kali, konsentrasi menjadi 1 ml = 1 mg (1 x 10⁰ mg/ml)
- Diencerkan dengan Hyalub sebanyak 10 kali, konsentrasi menjadi 1 ml = 0,1 mg (1 x 10⁻¹ mg/ml)

Pada hari ke 8, seluruh tikus dieuthanasia

dengan sedasi chloroform kemudian dilanjutkan dengan *cervical dislocation*. Mata kanan dienukleasi bulbi, kemudian kornea dieksisi dan dimasukkan ke dalam *buffer formalin*.

Ekspresi COX-2 pada kornea dinilai dengan pemeriksaan imunohistokimia dimana sediaan jaringan kornea tikus terfiksasi dalam formaldehid 4% selama 10 menit pada suhu ruangan dan diblok dengan PBS yang mengandung 10% *goat serum*, 0,3M glisin, 1% BSA, dan 0,1% *tween* dan diinkubasi dalam suhu 37°C selama 48 jam. Pengecatan antibodi dilakukan selama satu hari pada suhu 4°C.²³

Kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan penilaian semi kuantitatif yang menilai kuantitas dan distribusi dari pewarnaan reagen COX-2 *monoclonal antibody* dari *Biocare Medical* dengan menggunakan *Allred scoring* sebagai berikut:^{24,25}



Dimana baris atas *proportion score* : menunjukkan proporsi sel yang terwarna (hitam) dibandingkan dengan yang tidak terwarna (putih), menggunakan skala 0-5 seiring dengan proporsi yang bertambah.

Baris bawah *intensity score* : menunjukkan intensitas sel yang terwarna (hitam) menggunakan skala 0-3 seiring dengan intensitas yang bertambah.

Proporsi dan intensitas ini kemudian dijumlahkan dengan total antara 0-8. *Score* 0-2 dianggap negatif, dan *score* 3-8 dianggap positif.

HASIL

Setelah sampel didapatkan, dilakukan preparasi dengan *parafin block* kemudian dibuat sediaan *slide* mikroskop untuk pemeriksaan imunohistokimia dengan pemberian reagen imunohistokimia COX-2 di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang. Hasil

pengecatan imunohistokimia dibaca ekspresi COX-2 nya oleh ahli Patologi Anatomi di Laboratorium Diagnostik Waspada dengan menggunakan *Allred score*.

Terdapat perbedaan ekspresi COX-2 pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rata-rata ekspresi COX-2 pada kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Distribusi data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikatakan normal apabila didapatkan $p > 0,05$, sedangkan sebaran data tidak normal apabila didapatkan $p < 0,05$. Kemudian homogenitas data diukur dengan uji *Levene*, dimana dikatakan data homogen apabila nilai $p > 0,05$.

Uji normalitas pada kelompok kontrol dan P1 (dosis 1,10¹) didapatkan hasil sebaran data tidak normal dengan nilai $p < 0,05$, sedangkan uji normalitas pada kelompok P2 (dosis 1,10⁰) dan P3 (dosis 1,10⁻¹) didapatkan hasil yang normal dengan nilai $p > 0,05$. Uji homogenitas menunjukkan sebaran data homogen dengan nilai $p > 0,05$.

Ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol memiliki perbedaan bermakna dibandingkan kelompok perlakuan, dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p = 0,045$ (nilai $p < 0,05$). Dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Dari uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok P1 dosis 1,10¹ dengan nilai $p = 0,015$ (nilai $p < 0,05$), sedangkan perbandingan antara kelompok-kelompok lainnya tidak bermakna secara signifikan dengan nilai $p > 0,05$.

DISKUSI

Pengamatan terhadap kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan adanya efek DLBS1425 topikal terhadap reaksi inflamasi, yang digambarkan dengan rendahnya ekspresi COX-2 pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Perbedaan ekspresi COX-2 yang didapatkan berbeda signifikan secara statistik dengan nilai $p = 0,015$ pada kelompok P1 dengan dosis 1 x 10¹ mg/ml.

Bonazzi (2000) dalam studinya menerangkan bahwa trauma pada kornea yang menyebabkan hipoksia menunjukkan peningkatan protein dan mRNA COX-2 pada sel endotel. Studi ini juga

Tabel 1. Karakteristik ekspresi COX-2 kornea setiap kelompok

Kelompok	N	Mean	Median	Min	Max
Kontrol	6	4,8667	5,4000	3,20	5,60
1,10 ¹	6	3,3000	3,1000	2,60	4,80
1,10 ⁰	6	3,7333	3,6000	2,60	5,00
1,10 ⁻¹	6	4,1333	4,2000	3,00	4,80
Total	24	4,0083	4,0000	2,60	5,60

Tabel 2. 000000

Grup	Mean	Median	Normalitas <i>p</i>	Homoge- nitas Trans.
Kontrol	4,87	5,4	0,041 ¹	0,033 ¹
1,10 ¹	3,3	3,1	0,022 ¹	0,076 ¹
1,10 ⁰	3,73	3,6	0,823 ¹	0,838 ¹
1,10 ⁻¹	4,13	4,2	0,322 ¹	0,153 ¹

¹uji Saphiro-Wilk ($p > 0,05$), ² uji Levene ($p > 0,05$)

Tabel 3. 000000

Grup	Kruskal Wallis (<i>p</i>)	Kontrol	Mann Whitney 1,10 ¹	1,10 ⁰	1,10 ⁻¹
Kontrol		-	0,015**	0,076	0,169
1,10 ¹	0,045*		-	0,170	0,124
1,10 ⁰				-	0,332
1,10 ⁻¹					-

*uji Kruskal Wallis ($p < 0,05$); **uji Mann Whitney ($p < 0,05$)

menunjukkan pada kondisi hipoksia terdapat peningkatan ekspresi COX-2 saja, sementara pada kondisi normal (*normoxia*) baik COX-1 dan COX-2 berkontribusi sama, pada produksi mediator inflamasi PGE2.²⁶ Pembentukan Prostaglandin dari Asam Arakidonat dilakukan oleh enzim *cyclooxygenase*. *Cyclooxygenase* adalah enzim fungsional yang menempel pada membran yang mengkatalisis jalur metabolisme yang menghasilkan Prostaglandin dan Tromboxan. COX adalah protein integral yang ditemukan terutama di membran mikrosomal. COX-1 dan 2 terletak di *reticulum endoplasma*, COX 2 konsentrasi tertinggi terletak pada *nuclear envelope*.¹⁹⁻²¹

Peningkatan COX-2 memacu sintesis prostaglandin, memacu angiogenesis, menghambat apoptosis, meningkatkan potensi metastasis,

COX-2 berhubungan dengan proses karsinogenesis. Tingginya ekspresi COX-2 sering didapatkan pada makrofag distroma, dilaporkan infiltrasi makrofag pada kornea tikus terjadi pada hari ke 4 sampai 5 setelah inflamasi terjadi karena trauma kimia dan pergerakan makrofag sesuai dengan neovaskularisasi. Sitokin radang IL-1B dapat menginduksi infiltrasi makrofag berisi COX-2 dan atau sel radang lain di kornea.^{20,27,28}

Dong (2008) menemukan bahwa ekspresi dari COX-2, protein dan mRNA VEGF mulai meningkat pada satu hari setelah trauma basa, mencapai puncaknya pada hari ke 4, dan menurun pada hari ke 7, dan menurun secara signifikan pada hari ke 14.²³ Penelitian sebelumnya oleh Connors (1997) pada mata kelinci menemukan bahwa sintesis jalur eicosanoid mencapai puncak pada hari ke 7 setelah

trauma, kemudian menurun jadi 50% pada hari ke 15 pasca trauma.²⁹ Shi, *et al.* (2010) melaporkan bahwa infiltrasi sel radang terjadi di stroma pada hari pertama, pada hari ke 7, sel radang dan pembuluh darah terletak di stroma dan endotel kornea tikus. Jumlah sel radang meningkat pada hari ke 3, neovaskularisasi terjadi pada hari ke 7. Namun baik inflamasi dan neovaskularisasi hilang pada hari ke 14.³⁰

Penelitian yang dilakukan oleh Tjandrawinata, dkk, kisaran dosis *in vitro* yang dilaporkan dapat menghambat proliferasi sel kanker tergantung dari dosis yang digunakan yaitu 5 – 100 µg/mL atau 5 x 10⁻³ mg/mL - 1 x 10⁻¹ mg/mL, namun belum pernah dilaporkan secara *in vivo*.¹⁰ Berdasarkan kisaran dosis *in vitro* yang terbesar, penelitian ini dilakukan dengan berbagai dosis kelipatan 10 mg/ml yaitu 1 x 10⁻¹ mg/mL, 1 x 10⁰ mg/mL, dan 1 x 10¹ mg/ml.^{11,12}

Perbedaan ekspresi COX-2 yang didapatkan berbeda signifikan secara statistik dengan nilai $p=0,015$ pada kelompok P1 dengan dosis 1 x 10¹ mg/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Tandrasasmita, dkk dimana DLBS 1425 mempengaruhi siklus sel dengan cara memacu p21 sebagai *cycle cell inhibitor* sehingga menurunkan ekspresi gen NF-κB.³¹ NF-κB menginduksi faktor transkripsi yang berfungsi sebagai regulator penting dari proses imunitas dan inflamasi, yaitu *nitric oxide synthase* (INOS) dan *inducible cyclooxygenase* (COX-2).^{31,32}

DLBS1425 merupakan fraksi etil asetat yang diekstrak dari metanol dengan berat 14,3% dari berat total ekstraksi metanol. Secara fisik, padat berwarna coklat kekuningan dan memiliki bau khas. Komponen utamanya adalah Phalerin (20,26%), Proliverenol, dan Sylmarin.³³⁻³⁶

Phalerin merupakan ekstrak dari *pericarp* dan *mesocarp* yang menunjukkan aktivitas anti inflamasi yang bermakna dengan persentasi penghambatan 63,4% dan 69,5%.³⁴

Proliverenol adalah ekstrak fraksi bioaktif dari buah *Phaleria macrocarpa*. Pada inflamasi NF-κB *pathway* memiliki fungsi vital. Proliferenol menurunkan ekspresi NF-κB.³⁵

Silymarin adalah suatu flavonoid antioksidan yang sedang dikembangkan sebagai agen inhibitor terhadap enzim COX-2.³⁶

DLBS1425 menginduksi fase istirahat siklus sel dan mempengaruhi profil siklus sel dengan menurunkan proporsi sel di fase S dan G2/M

dengan mengubah ekspresi p21 sebagai *cell cycle inhibitor*. Perubahan ini menyebabkan penurunan ekspresi gen NF-κB. Penurunan ini akan menyebabkan ekspresi mRNA HER-2/*neu*, COX-2, dan cPLA₂ ikut menurun, sehingga reaksi radang pada jaringan juga berkurang.^{10,31}

Keterbatasan penelitian ini adalah kesulitan dalam pembuatan marker batas lesi di kornea tikus wistar, karena ukurannya kecil dan juga posisi lesi yang tidak bisa benar-benar tepat di sentral kornea karena saat perlakuan hewan coba bergerak-gerak. Hal ini memungkinkan ekspresi COX-2 yang tampak tidak dapat mewakili keadaan yang sebenarnya.

SIMPULAN

DLBS1425 topikal konsentrasi 1 x 10¹ mg/dl memiliki efek penurunan terhadap ekspresi COX-2 kornea tikus wistar pasca trauma basa yang bermakna, dan DLBS1425 memiliki potensi sebagai antiinflamasi topikal.

Adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan dosis 1 x 10¹ mg/ml dapat digunakan sebagai dasar pengembangan DLBS 1425 sebagai terapi antiinflamasi alternatif untuk kornea mata. Kiranya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksikologi DLBS 1425 topikal di kornea mata.

Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan efek antiinflamasi DLBS 1425 topikal dengan obat antiinflamasi paten untuk kornea mata.

DAFTAR PUSTAKA

1. Skuta, Gregory L. *External disease and cornea*. Section 8. American Academy of Ophthalmology. San Fransisco. 2011: 6,9,353.
2. Krachmer, Jay, *et al.* *Cornea 2nd Edition*. Volume 1B. Elsevier Mosby. Philadelphia. 2011: 1285.
3. Schrage N., *et al.* *Chemical Ocular Burn : New Understanding and Treatments*. Springer. United State of America. 2011. Hal 40-57.
4. Baratawidjaja, Karnen Garna. *Imunologi Dasar*. Edisi 7. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2006 : 140.
5. Garg, Ashok, *et al.* *Clinical Applications of Antibiotics and Anti-inflammatory Drugs in Ophthalmology*. Jaypee Brothers Publishers. India. 2007 : 325,395.
6. Yang, Chong-Qing, Wen Sun, Yang-Shun Gu. *A Clinical Study of the Efficacy of Topical Corticosteroids on Dry Eye*. Journal of Zhejiang University SCIENCE B. 7(8) : 675-678. Hangzhou, China. 2006.

7. Eslani, Medi, Alireza Baradaran-Rafii, Asadolah Movahedan, Ali R. Djalilian. *The Ocular Surface Chemical Burn*. Journal of Ophthalmology Volume 2014 Article ID 196827. Hindawi Publishing Corporation. 2014.
8. Davis, A R, Q H Ali, W A Aclimandos, P A Hunter. *Topical Steroid Use in the Treatment of Ocular Alkali Burns*. British Journal of Ophthalmology. 81 : 732-734. 1997.
9. Dwi A.,Septiyanti. Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak methanol daging buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Akademi Analis Farmasi dan Makanan. Indonesia. 2013.
10. Tjandrawinata, Raymond R, et al. DLBS1425, a *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Extract confers anti proliferative and proapoptosis effects via eicosanoid pathway. Journal of Experimental Therapeutics and Oncology. Vol 8. P.187-201. 2010.
11. Aurelian,Amy. *Efek DLBS1425 topikal berbagai konsentrasi terhadap derajat proliferasi sel goblet dan sekresi musin mata kelinci*. Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK Undip/RS dr.Kariadi. Semarang. 2013.
12. Bolia. *Efek DLBS1425 topikal berbagai konsentrasi terhadap derajat proliferasi epitel kelenjar Meibom mata kelinci*. Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK Undip/RS dr. Kariadi. Semarang. 2013.
13. Krachmer, Jay H., et al., *Cornea : Fundamentals, Diagnosis, and Management*. Elsevier inc. United State of America.2011.
14. Holland, Edward J., et al., *Ocular Surface Disease : Medical and Surgical Management*. Springer. United States of America .2011. Hal 17-18.
15. Lisegang,TJ; Skuta GL; Cantor LB. *Basic and Clinical Course. Section 2. Fundamentals and Principles of Ophthalmology*. San Fransisco : The Foundation of American Ophthalmology; 2013:297
16. Hanson, Anna F. *The rat's eyes*. Available from: <http://www.ratbehavior.org/Eyes.htm>. 2010.
17. Ja Lee, Koon, et al., *Accelerating repaired basement membrane after bevacizumab treatment on alkali-burned mouse cornea*. Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology. South Korea. 2012.
18. Kenchegowda, Sachidananda, Haydee E.P. Bazan. *Significance of Lipid Mediators in Corneal Injury and Repair*. Neuroscience Center of Excellence and Department of Ophthalmology Louisiana State University, New Orleans. Journal of Lipid Research Vol.51. 2010.
19. Brock, Thomas G., Marc Peters-Golden. *Activation and Regulation of Cellular Eicosanoid Biosynthesis*. The Scientific World Journal. 1273-84. 2007.
20. Claria, Joan. *Cyclooxygenase-2 Biology*. Current Pharmaceutical Design. Bentham Science Publishers. Vol. 9. p2177-90. 2003.
21. Tripathi, Trivendra, Hassan Alizadeh, *Significance of arachidonic acid in ocular infections and inflammation*. North Texas Eye Research Institute,University of North Texas. Journal of Inflammation & Cell Signaling. Vol.1.e301. 2014.
22. Saufi, Ahmad, *Ligans in Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. and in *Linum flavum var compactum* L.Heinrich-Heine-Universitat. Dusseldorf, Germany. 2007.
23. Dong, Yuan, et al. *COX-2 and its inhibitor Celecoxib in corneal neovascularization*. International Journal of Ophthalmology, Vol.1, No.1, 2008.
24. Qureshi, Asim, Shahid Perves. *Allred scoring for ER reporting and it's impact in clearly distinguishing ER negative from positive breast cancers*. Journal Pakistan Medical Association.Pakistan.2010.60(5),350-353.
25. Choudury, Kingshuk Roy, et al. *A Robust Automated Measure of Average Antibody Staining in Immunohistochemistry Images*. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Volume 58(2). P.95-107. 2010.
26. Bonazzi, Albino, et al. *Regulation of Cyclooxygenase-2 by Hypoxia and Peroxisome Proliferators in the Corneal Epithelium*. The Journal of Biological Chemistry. New York,USA. 2000. Vol.275, No.4, Issue of January 28, pp.2837-2844.
27. Lee, I-Ta, et al. *Cooperation of TLR2 with MyD88, PI3K, and Rac1 in Lipoteichoic Acid-induced Cpla2/cox-2-Dependent Airway Inflammatory Responses*. American Society for Investigative Pathology. The American Journal of Pathology, Vol.176, No.4. 2010.
28. Kuwano, Takashi, et al. *Cyclooxygenase 2 is a key enzyme for inflammatory cytokine-induced angiogenesis*. The FASEB Journal. Vol 18. January 2004.
29. Conners, Michael S., et al., *Alkali Burn Induced Synthesis of Inflammatory Eicosanoids in rabbit Corneal Epithelium*. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Vol.38, No.10. 1997.
30. Shi, Wei Yun, et al. *Features of corneal neovascularization and lymphangiogenesis induced by different etiological factors in mice*. Graefes Arch Clinical Experimental Ophthalmology Journal. 2010.
31. Tandrasasmita, Olivia M., et al. *Induction of cellular apoptosis in human breast cancer by DLBS 1425, a Phaleria macrocarpa compound extract, via downregulation of PI3-kinase/AKT and eicosanoid pathway*. Journal of Cancer Biology and Therapy Vol.10 issue 8, 814-823. 2010.
32. Yamamoto, Yumi, Richard B. Gaynor. *Therapeutic potential in inhibition of the NF-Kb pathway in the treatment of inflammation and cancer*. The Journal of Clinical Investigation. Vol 107, No.2. p.135-40.2001.
33. Easmin, Mst.Sabina, et al. *Bioactive compounds and advanced processing technology: Phaleria macrocarpa (sheff.) Boerl, a review*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Society of Chemical Industry.2014.
34. Othman,Siti Nur Atiqah, Satyajit Dey Sarker, Lutfun Nahar, Norazah Basar. *The ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological properties of Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Tang Humanitas Medicine Journal. Volume 4, Issue 4. 2014.
35. Berlian, Guntur, Olivia Mayasari Tandrasasmita, Raymond Rubianto Tjandrawinata. *Standardized bioactive fraction of Phaleria macrocarpa (Proliverenol) prevents ethanol-induced hepatotoxicity via down-regulation of NFkB-TNFa-caspase-8 pathway*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Dexa Laboratory of Biomolecular Science.2016.
36. Mustafida, Roat Yeti, Al Munawir, Rosita Dewi. *Efek Antiangiogenik Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) pada membran Korio Alantois (CAM) Embrio Ayam*. E-Jurnal Pustaka Kesehatan. Vol.2, no,1. 2014.

