



TINJAUAN PUSTAKA

KOMBINASI NANOPARTIKEL QUERCETIN-KAEMPFEROL BERPOLIMER KITOSAN SEBAGAI PENATALAKSANAAN KANKER KOLOREKTAL

Anak Agung Bagus Putra Indrakusuma,¹ Aizar Vesa Prasetyo,¹
Nareswara Pawestri,¹ Ketut Adhi Pramana Sinardja,¹

ABSTRAK

Pendahuluan: Kanker kolorektal merupakan jenis kanker yang berasal dari jaringan usus besar. Secara global, jumlah kasus baru kanker kolorektal mencapai dua juta kasus dan satu juta kematian. Di Indonesia, prevalensi kanker kolorektal adalah 12,8% per 100.000 penduduk usia dewasa dengan mortalitas sebesar 9,5%. Penanganan kanker kolorektal saat ini seperti pembedahan, radioterapi, dan pemberian obat antikanker dinilai kurang efektif, karena mahal dan memicu efek samping.

Pembahasan: *Quercetin* dan *kaempferol* merupakan zat flavonoid yang dapat mengobati kanker kolorektal melalui serangkaian mekanisme pada tahapan proses karsinogenesis, yaitu menghalangi proliferasi dengan menghambat NF-kB dan memengaruhi siklus sel, meningkatkan proses apoptosis dengan memengaruhi gen CASP2, CLEC4M, dan NTRK3, serta menimbulkan efek antiangiogenesis dengan menurunkan ekspresi MMP-2 dan MMP-9. Keterbatasan modalitas ini ialah rendahnya bioavailabilitasnya, sehingga dikemas dalam bentuk nanopartikel berpolimer kitosan. *Quercetin* terdapat pada kulit bawang, sedangkan *kaempferol* terdapat pada daun bawang. Pembuatan nanopartikel kitosan *quercetin-kaempferol* menggunakan metode *top down* (maserasi). Modalitas ini diadministrasikan secara oral. Kitosan sebagai polimer akan larut saat memasuki asam lambung. Farmakokinetika dari modalitas akan dimulai dengan absorpsi oleh usus halus dan diakhiri ekskresi oleh ginjal, serta eliminasi oleh usus besar. *Quercetin* 15 μM -30 μM mampu menurunkan *cell viability* menjadi $63 \pm 1,3\%$ hingga $41 \pm 0,3\%$ sedangkan *kaempferol* 30 μM -60 μM mampu menurunkan *cell viability* menjadi $62 \pm 0,83\%$ hingga $26 \pm 0,91\%$.

Simpulan: Kombinasi *quercetin* dan *kaempferol* dapat meningkatkan proses apoptosis secara eksternal maupun internal, serta menghambat proliferasi dan angiogenesis sel kanker kolorektal.

Kata Kunci: *Kaempferol*, Kanker kolorektal, *Quercetin*

ABSTRACT

Introduction: Colorectal cancer is a type of cancer originating from the colon tissue. Colorectal cancer causes two million new cases and one million deaths globally. The prevalence of colorectal cancer in Indonesia is 12,8% per 100.000 adult population with a 9,5% mortality rate. Current treatment efforts for colorectal cancer such as surgery, radiotherapy, and administration of anticancer drugs are considered less effective due to being expensive and having side effects.

Discussion: *Quercetin* and *kaempferol* are flavonoids that could treat colorectal cancer through a series of mechanisms during its carcinogenesis by blocking proliferation through inhibiting NF-kB and affecting cell cycle, increasing apoptosis by affecting CASP2, CLEC4M, and NTRK3 genes, causing antiangiogenic effects through decreasing the expression of MMP-2 and MMP-9. The limitation of this modality is the low bioavailability, therefore it is packaged in chitosan polymerized nanoparticles. *Quercetin* is obtained from the skin of onions while *kaempferol* is obtained from leeks. The *Quercetin-kaempferol* chitosan nanoparticles were prepared using the top down method (maceration) and administered orally. Chitosan as a polymer will dissolve in gastric acid. The pharmacokinetics will begin with absorption by small intestine, excretion by kidneys, and elimination by large intestine. *Quercetin* 15 μM -30 μM was able to reduce cell viability to $63 \pm 1.3\%$ to $41 \pm 0.3\%$, meanwhile *kaempferol* 30 μM -60 μM was able to reduce cell viability to $62 \pm 0.83\%$ to $26 \pm 0.91\%$.

Conclusion: Combination of *quercetin* and *kaempferol* can increase apoptosis process externally and internally, also inhibit proliferation and angiogenesis of colorectal cancer cells.

Keyword: Colorectal cancer, *Kaempferol*, *Quercetin*

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal merupakan jenis kanker yang berasal dari jaringan usus besar, terdiri dari kolon dan/atau rektum.^[1] Gejala dari penyakit ini seperti terdapat darah dalam tinja, perubahan kebiasaan buang air besar (termasuk diare dan sembelit), anemia, penurunan berat badan, serta sakit perut atau nyeri.^[2]

Menurut *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) 2018, kanker kolorektal sangat mudah ditemui di dunia. Kanker kolorektal telah mengakibatkan dua juta kasus baru dan satu juta kematian. Kanker kolorektal sering terjadi di negara berkembang yang mengadopsi budaya barat.^[3] Kasus kanker kolorektal di Indonesia adalah 12,8% per 100.000 penduduk usia dewasa dengan jumlah kematian sebanyak 9,5% dari seluruh kasus

kanker.^[4] Insiden kanker kolorektal juga cenderung lebih sedikit pada wanita dibandingkan dengan pria.^[5]

Penanganan kanker kolorektal yang tersedia sekarang dapat dilakukan melalui beberapa mekanisme seperti pembedahan (operasi), radioterapi, dan pemberian obat antikanker. Namun, hal tersebut dinilai masih kurang efektif dari segi biaya yang mahal dan efek samping yang ditimbulkan.^[6-10]

Quercetin dan *kaempferol* dapat memengaruhi berbagai tahapan dalam proses karsinogenesis dengan menghalangi proliferasi, menghambat kerja protein NF-kB (*Nuclear Factor kappa B*), dan meningkatkan proses apoptosis dengan memengaruhi gen *Caspase 2* (CASP2), *C-Type Lectin Domain Family 4 Member M* (CLEC4M), dan

¹ Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase 3 (NTRK3).^[11,12] Flavonoid *quercetin* banyak ditemukan pada kulit bawang merah (*Allium cepa*), sedangkan flavonoid *kaempferol* banyak ditemukan pada daun bawang (*Allium fistulosum*). Zat flavonoid ini dapat diolah dengan bantuan nanopartikel berpolimer kitosan untuk meningkatkan efektivitas atau bioavailabilitas, kemudian diberikan ke pasien dengan bentuk obat oral.^[13] Berdasarkan beberapa studi *in vitro* dengan *quercetin* dan *kaempferol*, ditemukan sebuah kelebihan dari dua modalitas ini yang tidak menyebabkan resistansi pada sel kanker seperti halnya pengobatan modern.^[14,15] Selain itu, karena kedua zat ini mampu menyerang kanker pada tahap dan mekanisme yang berbeda, kombinasi nanopartikel flavonoid *quercetin* dengan *kaempferol* berpolimer kitosan dapat menjadi modalitas alternatif dalam penatalaksanaan kanker.^[16,17]

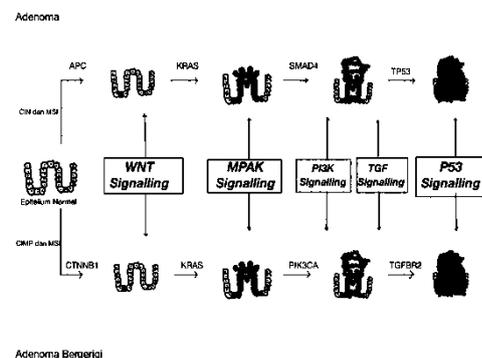
PEMBAHASAN

Patogenesis Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal biasanya tumbuh dari polip adenomatosa atau polip yang memiliki potensi untuk berkembang menjadi kanker. Perubahan polip menjadi kanker kolorektal sendiri dipengaruhi oleh banyak faktor seperti mutasi gen, perubahan epigenetik, dan perubahan inflamatori.^[18] Oleh sebab itu, kanker kolorektal memiliki patogenesis yang cukup kompleks.

Polip adenomatosa berdasarkan bentuknya terbagi menjadi dua, yaitu adenoma dan adenoma bergerigi, sehingga pada perubahan polip tersebut untuk menjadi kanker memiliki perbedaan. Pertama, pada adenoma biasanya disebabkan oleh *Chromosome Instability* (CIN) dan *Microsatellite Instability* (MSI). Pada adenoma, kinerja *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) yang merupakan *tumor suppressor* menurun, APC sendiri dalam *Wnt signaling pathway* berperan sebagai pengikat β -catenin agar sel tidak dalam kondisi aktif. Proses transkripsi yang merupakan titik awal pembelahan dipicu oleh akumulasi β -catenin dalam *Wnt Pathway* di dalam nukleus. Selanjutnya, mutasi akan diikuti oleh mutasi Ki-ras 2 (KRAS) yang membuat KRAS tersebut selalu dalam posisi aktif, sehingga proliferasi akan terus terjadi dan mengganggu *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) signaling (Dapat dilihat pada **Gambar 1**).^[19]

MAPK sendiri memiliki peran dalam meregulasi *SMAD Family Member 4* (SMAD4), protein yang bekerja sebagai mediator pada *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β) signaling yang menstimulasi terbentuknya *Cyclin-Dependent Kinase* (CDK) inhibitor dan *Phosphoinositide 3-Kinase* (PI3K) signaling. Dua perubahan tersebut memicu perubahan lagi pada TP53, yang berperan penting dalam regulasi p53 yang merupakan pemicu apoptosis. Pada adenoma bergerigi biasanya disebabkan oleh *CpG Island Methylator Phenotype* (CIMP) dan MSI. Mutasi diawali pada *Catenin Beta 1* (CTNNB1) yang berperan dalam pembentukan β -catenin. Selanjutnya, mutasi juga akan terjadi pada KRAS dan tentunya akan mengganggu *MAPK signaling*. Namun, pada adenoma bergerigi akan terjadi mutasi PI3KCA yang merupakan komponen dari *PI3K signaling pathway*, dan yang terakhir akan terjadi mutasi pada TGFBR2 yang berperan dalam pembentukan TGF- β .^[19]



Gambar 1. Patogenesis Kanker Kolorektal.^[19]

Quercetin

Quercetin adalah zat yang termasuk dalam subkelas flavonoid. Zat ini berperan sebagai fitoestrogen, antioksidan, antiinflamasi, antihistamina untuk mencegah alergi serta sebagai antikanker dengan menghambat proliferasi dan mendorong proses apoptosis.^[20,21] *Quercetin* banyak terkandung dalam bawang (*Allium cepa*), teh hijau (*Camellia sinensis*), apel (*Malus domestica*), dan sayuran hijau.^[22]

Quercetin digunakan sebagai modalitas, karena sudah diuji dalam penelitian mengenai peran *quercetin* sebagai antitumor sel kanker kolon, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.^[23] Mekanisme antikanker *quercetin* pada kanker kolon dapat terjadi pada peningkatan proses apoptosis, penghambatan proliferasi sel, metastasis, dan angiogenesis.^[24] Zat *quercetin* menghambat kerja protein NF- κ B, mengaktifkan p53 dengan memengaruhi gen Bcl-2 dan Bax, serta memfosforilasi *Adenosine Monophosphate Protein Activated Kinase* (AMPK) yang mengakibatkan terjadinya apoptosis sel kanker kolon.^[12,25] *Quercetin* juga mengubah jalur Wnt/ β -catenin dan menghambat ekspresi gen c-Myc, cyclin, dan CKD, protein yang berperan langsung dalam proliferasi sel.^[26] Penghambatan metastasis dan angiogenesis terjadi akibat *quercetin* yang menurunkan ekspresi gen *Matriks Metalloproteinase 2* (MMP-2), *Matrix Metalloproteinase 9* (MMP-9), dan meningkatkan ekspresi *E-cadherin*.^[27]

Kaempferol

Kaempferol merupakan salah satu zat flavonoid yang memiliki peran hampir sama dengan *quercetin*, yaitu sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker.^[28] *Kaempferol* dapat menstimulasi apoptosis, menghambat angiogenesis, dan menjaga kelangsungan hidup sel normal.^[29] Zat ini banyak ditemukan di *blueberry* (*Vaccinium corymbosum*), brokoli (*Brassica oleracea Var italica*), kubis (*Brassica oleracea*), daun bawang (*Allium fistulosum*), kelompok kacang – kacang, dan lainnya.^[29]

Sebagai antikanker, *kaempferol* memengaruhi tahapan yang hampir sama dengan *quercetin* untuk kanker kolorektal, yaitu apoptosis dan proliferasi sel. Kedua zat ini memiliki mekanisme yang berbeda. *Kaempferol* meningkatkan ekspresi gen CASP2 dan NTRK3 yang berperan sebagai *tumor suppressor* untuk apoptosis sel kanker.^[30,31] Selain itu, zat flavonoid ini memiliki pengaruh yang hampir sama dengan *quercetin*, yaitu terhadap jalur Wnt/ β -catenin, serta meningkatkan ekspresi gen CLEC4M.^[32] Penelitian lain menyatakan bahwa, *kaempferol* juga dapat meningkatkan ekspresi gen

p21 dan p53, mengaktifkan fosforilasi p38, dan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) untuk mendukung proses apoptosis.^[33]

Kombinasi antara *quercetin* dan *kaempferol* digunakan sebagai modalitas, karena sudah terbukti dari penelitian sebelumnya, bahwa efektivitas gabungan *quercetin* dan *kaempferol* ini meningkat secara signifikan dibandingkan saat diaplikasikan sendiri. *Quercetin* dan *kaempferol* dapat bekerja sama secara sinergis dan mampu secara efektif memengaruhi mekanisme penting dalam pertumbuhan sel kanker kolon.^[14] Kedua zat flavonoid ini juga memengaruhi proses apoptosis secara eksternal maupun internal dan berikatan dengan beberapa reseptor yang penting dalam kelangsungan hidup sel kanker seperti DR4, DR5 (*Death Receptor*), *Fas receptor*, dan AhR (*Aryl hydrocarbon Receptor*). Walaupun demikian, bioavailabilitas *quercetin* dan *kaempferol* ini perlu ditingkatkan dengan diolah dan dienkapsulasi terlebih dahulu sebelum diberikan sebagai modalitas.^[34]

Nanopartikel Kitosan

Pemberian obat secara oral merupakan cara yang paling sering dilakukan di masyarakat. Namun, dalam mekanisme obat dapat sampai ke organ yang diinginkan, yaitu kolon ataupun rektum tidaklah mudah.^[35] Sistem gastrointestinal memiliki perbedaan pH dan aktivitas enzim yang sangat signifikan, sehingga pendistribusian obat menjadi terhambat. Selain itu, sedikitnya jumlah enzim yang ada pada usus besar menyebabkan penguraian obat menjadi lebih sulit. Penatalaksanaan kanker kolorektal sendiri, memerlukan obat spesifik yang dapat langsung menyerang bagian usus atau kolon. Mekanisme kerja obat diharapkan agar tidak mengalami pelepasan pada saat masih berada di dalam lambung maupun di usus halus. Maka dari itu, dalam metode enkapsulasi dipilihlah teknik enkapsulasi nanopartikel kitosan.

Enkapsulasi dengan metode nanopartikel sendiri memiliki keuntungan, yaitu dapat melindungi modalitas yang dienkapsulasi dari peningkatan adhesi mukosa, enzim yang bersifat degradatif, dan peningkatan retensi di gastrointestinal.^[36] Enkapsulasi *quercetin* dan *kaempferol* menggunakan nanopartikel bertujuan untuk meningkatkan bioavailabilitas dari kedua modalitas tersebut dalam penyerapan oleh sel kanker. Pada sel kanker biasanya terjadi kerusakan pada pembuluh darah. Hal tersebut, menyebabkan pecahnya pembuluh darah, sehingga mengakibatkan sulitnya modalitas untuk bisa terakumulasi pada daerah sekitar sel tersebut. Oleh karena itu, diperlukan enkapsulasi menggunakan nanopartikel.^[37] Selain itu, enkapsulasi menggunakan nanopartikel juga bertujuan agar molekul lebih stabil, karena molekul dengan muatan yang tinggi akan sulit untuk bisa menembus melalui sel epitel, sedangkan jika ukurannya kecil maka akan mudah untuk melakukan transportasi melalui *tight junction* pada sel.^[38]

Enkapsulasi menggunakan kitosan dipilih untuk memastikan nanopartikel tepat sampai dan dapat diabsorpsi dengan baik pada kolon. Kitosan merupakan polisakarida yang tidak dapat dicerna pada sistem gastrointestinal bagian atas. Kitosan juga merupakan kopolimer yang terdiri dari 2-amino-2-deoksi-d-glukosa dan 2-asetamido-2-deoksi-d-

glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -(1-4) yang merupakan ikatan glikosidik. Ikatan glikosidik tersebut nantinya akan dihidrolisis oleh mikroorganisme yang ada di kolon. Polisakarida kemudian mengalami asimilasi dan degradasi yang akan menghancurkan kerangka dari polimer tersebut. Hal tersebut akan mengakibatkan polisakarida mengalami penurunan berat molekul dan kehilangan daya untuk mengikat obat di dalamnya yang menyebabkan terjadi pelepasan obat tepat pada kolon.^[37] Percobaan telah dilakukan pada tikus untuk mengetahui efektivitas enkapsulasi modalitas menggunakan nanopartikel kitosan. Percobaan tersebut dilakukan dengan mengobservasi volume tumor yang ada pada tikus percobaan. Hasil dari percobaan tersebut menunjukkan bahwa, bioavailabilitas modalitas yang dienkapsulasi dengan nanopartikel kitosan yang berada di daerah sekitar kanker jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bioavailabilitas modalitas tanpa enkapsulasi apapun. Selain itu, modalitas dengan metode enkapsulasi nanopartikel kitosan dapat mengurangi volume tumor pada tikus secara signifikan.^[39]

Bioavailabilitas Nanopartikel Kitosan

Dari sebuah studi, ditemukan bahwa volume tumor hewan yang diobati dengan nanopartikel *quercetin* lebih berkurang dari kelompok yang diobati dengan *quercetin* saja. Dalam kelompok kontrol penyakit, ukuran tumor terus meningkat. Pada akhir minggu ke-5 volume tumor kelompok perlakuan nanopartikel *quercetin*-kitosan berkurang 62,86%, sedangkan pada tikus yang diobati dengan *quercetin*, persentase regresi tumor adalah 31,13%. Ketersediaan *quercetin* di lokasi tumor sangat rendah, karena stabilitasnya yang buruk dan tidak larut dalam cairan tubuh. Oleh karena itu, *quercetin* dienkapsulasi dengan nanopartikel polimer untuk meningkatkan administrasi *quercetin* ke tumor.^[39]

Pembuluh darah dan limfatik yang buruk dari lingkungan mikro tumor membantu nanopartikel untuk mencapai lokasi tumor melalui efek permeabilitas dan retensi yang ditingkatkan atau penargetan pasif. Kitosan merupakan polimer alami, biokompatibel, tidak beracun, dan dapat terurai secara hayati. Nanopartikel memiliki morfologi permukaan dan ukuran nano (100-200 nm), sehingga jika diformulasikan akan dengan mudah keluar dari pembuluh darah tumor, terakumulasi di lingkungan tumor, dan perlahan-lahan melepaskan *quercetin*.^[39]

Akumulasi *quercetin* memicu apoptosis sel kanker dan secara signifikan menurunkan ukuran tumor. Pada tikus yang diberi perlakuan *quercetin* saja, ketersediaan hayati *quercetin* pada lokasi tumor lebih sedikit. Tidak ada penurunan berat badan yang signifikan pada tikus yang diobati dengan *quercetin* dan nanopartikel *quercetin*-kitosan. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan berat badan yang signifikan pada akhir minggu ke-5. Hal tersebut disebabkan oleh beban tumor dan morbiditas hewan yang tinggi. Dalam kelompok perlakuan, berat badan tikus dipertahankan atau sedikit meningkat yang menunjukkan tidak ada toksisitas sistem pengiriman. Data histopatologi organ vital tikus yang diobati dengan nanopartikel *quercetin*-kitosan tidak menunjukkan perubahan jaringan.^[39]

Mekanisme Konstruksi Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan

Proses pembuatan nanopartikel umumnya dibagi menjadi dua metode, yaitu proses *bottom up* dan *top down*. Metode *bottom up* meliputi proses ketika komponen yang lebih kecil dari dimensi atom atau molekul berkumpul bersama, sesuai dengan prinsip fisik alami atau kekuatan pendorong yang diterapkan secara eksternal, untuk memunculkan sistem yang lebih besar dan lebih terorganisir. Metode *top down* adalah proses yang dimulai dari bagian besar dengan menggunakan alat khusus untuk membuat struktur yang lebih kecil, sering disebut dengan teknik maserasi. Metode *top down* lebih sering digunakan karena mudah dan hemat biaya.^[38]

Kulit bawang dan daun bawang sebagai sumber flavonoid *quercetin-kaempferol* dipotong menjadi kecil-kecil, lalu dikeringkan. Sampel yang telah kering, kemudian digiling sampai halus menjadi serbuk yang siap untuk diekstraksi. Kemudian dilakukan maserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam berulang-ulang sebanyak tiga kali pada suhu kamar. Ekstrak diperoleh melalui penyaringan memakai kertas saring. Etanol lalu diuapkan menggunakan evaporator *buchi* untuk menghasilkan ekstrak murni yang kental.^[39]

Ekstrak seberat 1 gram diambil dan dilarutkan dalam 35 ml etanol. Selanjutnya, ditambahkan 15 ml akuades dalam gelas beker 2.000 ml. Campurkan kitosan dalam 100 ml asam asetat glasial 1% dan larutan *Sodium Tripolyphosphate* (NaTPP) sebanyak 350 ml. Proses pengadukan memakai *magnetic stirrer* selama \pm dua jam.^[40] *Quercetin* 15 μ M-30 μ M mampu menurunkan *cell viability* menjadi $63 \pm 1,3\%$ hingga $41 \pm 0,3\%$. *Kaempferol* 30 μ M-60 μ M mampu menurunkan *cell viability* menjadi $62 \pm 0,83\%$ hingga $26 \pm 0,91\%$. Rentang konsentrasi tersebut menunjukkan kemampuan modalitas dalam menghambat karsinogenesis.^[41]

Koloid nanopartikel kitosan-NaTPP kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Langkah selanjutnya adalah proses pembekuan, padatan yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam *freezer* ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) selama \pm dua hari. Setelah itu, lakukan pemindahan ke dalam lemari es ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).^[42]

Mekanisme Administrasi Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan

Setelah melalui proses konstruksi, cara pemberian obat juga harus diperhitungkan karena menyangkut proses absorpsi pada tubuh, sehingga efek yang diinginkan bisa optimal. Secara umum, pemberian obat dapat berefek sistemik pada tubuh atau lokal pada bagian tertentu saja. Pemberian obat untuk efek sistemik dapat melalui empat cara, yaitu oral, sublingual, intramuskular, dan intravena.^[42] Nanopartikel *quercetin-kaempferol* merupakan modalitas alami yang menggunakan mekanisme administrasi secara oral, yaitu pemberian obat dengan cara menelannya lewat mulut.^[43]

Pemberian obat secara oral dinilai lebih aman, murah, dan mudah untuk dilakukan. Namun, metode ini memiliki kelemahan dari sisi bioavailabilitasnya karena harus melalui serangkaian proses pencernaan khususnya pada lambung. Oleh sebab itu, diperlukan suatu mekanisme enkapsulasi berupa polimer untuk meningkatkan bioavailabilitas obat. Kitosan sebagai salah satu metode enkapsulasi dipilih menjadi polimer, karena kemampuannya

sebagai pelindung dalam penghantaran obat telah diketahui dengan baik.^[44]

Farmakokinetika Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan

Setelah diadministrasikan per oral, maka jalur selanjutnya yang akan dilalui oleh modalitas ini adalah lambung. Kitosan sebagai polimer (pelindung) dari nanopartikel *quercetin-kaempferol* akan larut pada asam lambung dengan pH 4,5. Hal ini menyebabkan modalitas dilepaskan ke saluran pencernaan lainnya sebagai tahap jalur farmakokinetika lanjutan.^[45]

Jalur selanjutnya yang akan dilalui oleh obat ini meliputi usus halus, sistem peredaran darah, ginjal, dan usus besar. Nanopartikel ini kemudian akan melalui usus halus, menembus pelindung mukosa hingga mencapai epitel penyerapan. Mekanisme ini dilakukan melalui difusi pasif. Setelah melalui proses penyerapan pada usus halus, maka obat akan masuk ke sistem peredaran darah khususnya vena porta hepatica. Di sini, akan terjadi proses metabolisme obat yang menurunkan bioavailabilitasnya oleh hati. Hasil metabolisme di hati akan dibawa ke jantung, kemudian diedarkan ke target sel yang diinginkan.^[46]

Kemudian obat akan mengalami tahapan ekskresi oleh ginjal yang meliputi proses filtrasi oleh glomerulus dan kapsula bowman, reabsorpsi oleh tubulus kontortus proksimal, augmentasi oleh tubulus kontortus distal, dan dikumpulkan oleh tubulus kontortus kolektivus. Ekskresi ini bertujuan untuk membuang zat sisa dari metabolisme obat. Hasil ekskresi tersebut selanjutnya akan dikeluarkan dalam bentuk urin.^[47]

Sebagian nanopartikel yang tidak diserap oleh usus halus akan mengalami proses eliminasi di usus besar dan diekskresikan bersama dengan feses. Mekanisme eliminasi di usus besar ini dilakukan oleh mikroflora pada kolon.^[48]

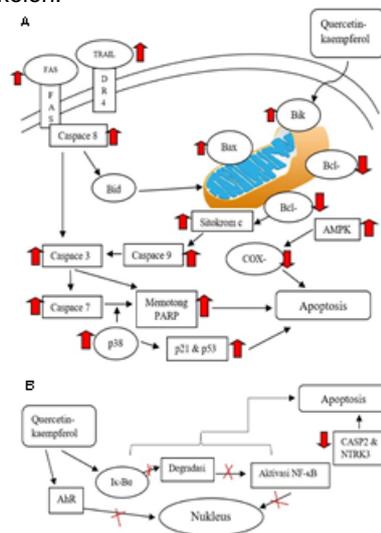
Farmakodinamika Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan pada Proses Apoptosis

Quercetin dan *kaempferol* akan berikatan dengan reseptor – reseptor tertentu dan melakukan perannya sebagai antikanker dengan memengaruhi proses apoptosis, proliferasi, metastasis, dan angiogenesis.^[24,32,33] *Quercetin* dan *kaempferol* memengaruhi proses apoptosis melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik. Proses apoptosis sel secara ekstrinsik menggunakan reseptor *Tumor Necrosis Factor Receptors* (TNF-R). Pada sel kanker yang resistan terhadap *TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand* (TRAIL), peran obat nanopartikel *quercetin-kaempferol* ini adalah menyebarkan DR4 dan DR5 ke membran plasma, meningkatkan ekspresi *Fas Ligand* (FASLG), dan meningkatkan sensitivitas sel terhadap TRAIL sehingga proses apoptosis dapat terjadi. FASLG akan merekrut *caspase 8*. Pada jalur ekstrinsik terjadi peningkatan *caspase 3* sebagai *caspase* eksekusiner dan *caspase 8* sebagai *caspase* inisiator, karena *caspase* merupakan proenzim inaktif yang menghasilkan enzim untuk apoptosis (Dapat dilihat pada **Gambar 2A**).^[47,48]

Quercetin dan *kaempferol* juga akan berikatan dengan beberapa reseptor, yaitu *Raf-1 Proto-Oncogene* (RAF1), *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MEK), dan AhR. AhR adalah faktor transkripsi dengan ligan yang dapat aktif jika

berinteraksi dengan senyawa kimia sintetis dan alami. AhR mengatur regulasi dan ekspresi dari sitokrom P450 (CYP1) yang dapat mengaktifkan prokarsinogenik. *Quercetin* berperan sebagai antagonis dari reseptor ini dengan menghambat transformasi AhR.^[48,49]

Pada jalur intrinsik, mitokondria merupakan mediator utama. Kelompok protein Bcl-2 yang berperan penting dalam apoptosis sel terletak di membran luar mitokondria. Terdapat dua kelompok protein, yaitu proapoptosis (Bax, Bid, Bik) dan anti-apoptosis (Bcl-2, Bcl-xL) dan perbandingan dari kedua kelompok ini memengaruhi banyaknya sitokrom c yang dilepas di sitoplasma. Sitokrom c ini nantinya akan berikatan dengan *Apoptotic Protease Activating Factor-1* (APAF1). Selain itu, *caspase 8* dari jalur ekstrinsik memotong Bid agar dapat menembus pada mitokondria dan sinyal apoptosis dari sitoplasma diteruskan sampai ke mitokondria. Nanopartikel *quercetin-kaempferol* akan meningkatkan protein gen Bax, Bik, dan Bid, serta menurunkan regulasi protein Bcl-2 dan Bcl-xL. Perubahan kelompok protein Bcl-2 ini mengakibatkan perubahan permeabilitas membran luar mitokondria, sehingga sitokrom c dilepaskan dari mitokondria dan memicu aktivasi *caspase 9* sebagai *caspase* inisiator, serta *caspase 3* dan *caspase 7* sebagai *caspase* eksekusioner di jalur intrinsik. Sekelompok molekul ini, dengan distimulasi aktivasi p38, akan memotong protein PARP yang berujung pada apoptosis.^[12,36,48,49] *Kaempferol* juga dapat meningkatkan apoptosis dengan memengaruhi ROS, menstimulasi fosforilasi p38, dan mengaktifasi gen *tumor suppressor*, p21 dan p53 yang mendukung proses apoptosis pada sel kanker kolon.^[35]



Gambar 2. Farmakodinamika Nanopartikel Kitosan

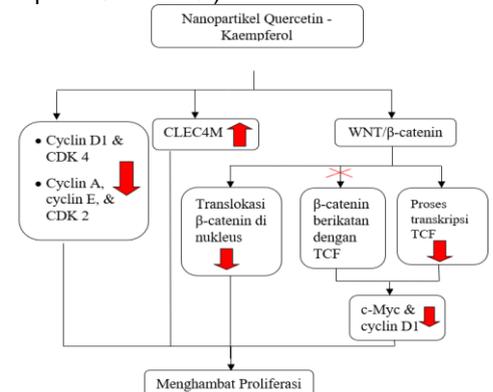
Quercetin-Kaempferol pada Proses Apoptosis.

Faktor transkripsi NF-Kb merupakan penghambat utama apoptosis dan dapat meningkatkan proliferasi sel. NF-kB memerlukan degradasi Iκ-Bα agar dapat aktif dan mengikat DNA di nukleus.^[50] *Quercetin* dapat menghambat

degradasi Iκ-Bα, yang mengakibatkan NF-kB menetap di sitoplasma dalam bentuk inaktif.^[12] Peningkatan juga terjadi pada fosforilasi AMPK, yang secara tidak langsung mengurangi ekspresi *Cyclooxygenase-2* (COX-2). COX-2 dapat menghambat respon imun tubuh (*dendritic cells*, *natural killer cells*, dan sel limfosit T), sehingga berakibat sel kanker resistan terhadap apoptosis.^[12,50] Ekspresi gen CASP2 dan NTRK3 merupakan *tumor suppressor*, yang berperan dalam regulasi biologis dan perkembangan sel tumor juga mengalami penurunan setelah terpapar *quercetin-kaempferol*. Hal ini, mengakibatkan terjadinya apoptosis sel (Dapat dilihat pada **Gambar 2B**).^[13,31,32]

Farmakodinamika Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan pada Proses Proliferasi

Nanopartikel *quercetin* dan *kaempferol* juga memengaruhi proses proliferasi sel. Berdasarkan penelitian, *quercetin* dan *kaempferol* memiliki efek sinergis jika digabung, terutama dalam menghambat proliferasi sel. Kedua zat ini memberhentikan siklus sel di fase G1 dengan menurunkan ekspresi gen CDK4 dan protein subunit *cyclin* D1, CDK2 dan protein subunit *cyclin* A dan E, serta di fase G2 dengan menghambat aktivasi gen CDK 1 dan *cyclin* B1 melalui penurunan gen *Cdc25c*. Selain itu, flavonoid seperti *quercetin* dan *kaempferol* juga menekan pembentukan sel kanker kolon baru dengan memengaruhi jalur *Wnt/β-catenin*, jalur yang paling banyak diregulasi di kanker kolon.^[50] Zat flavonoid dapat meningkatkan jumlah *β-catenin* di sitoplasma dan menurunkan translokasinya di nukleus. Perubahan pada jalur *Wnt/β-catenin* ini berakibat pada penurunan ekspresi dari protein c-Myc dan *cyclin* D1 di nukleus, protein yang berperan dalam siklus sel.^[12] *Quercetin* menghalangi ikatan antara *β-catenin* dengan faktor transkripsi TCF, sedangkan *kaempferol* menekan proses transkripsi TCF pada kanker kolon yang mengalami mutasi pada *Antigen Presenting Cell* (APC).^[51] *Kaempferol* juga dapat meningkatkan regulasi gen CLEC4M yang mendukung adhesi dan lokalisasi sel (Dapat dilihat pada **Gambar 3**).



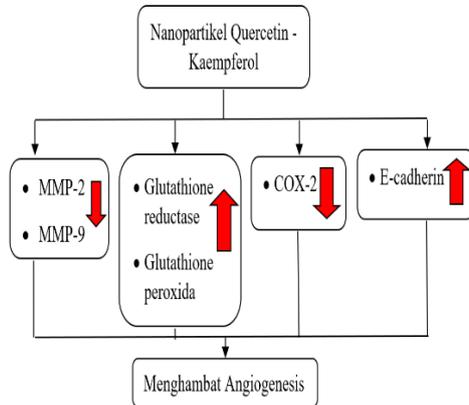
Gambar 3. Farmakodinamika Nanopartikel Kitosan

Quercetin-Kaempferol pada Proses Proliferasi.

Farmakodinamika Nanopartikel *Quercetin-Kaempferol* Berpolimer Kitosan pada Proses Angiogenesis

Menurut beberapa penelitian, zat flavonoid terutama *quercetin* menimbulkan efek

antiangiogenesis pada sel kanker. *Quercetin - kaempferol* menurunkan aktivitas dan ekspresi protein MMP-2 dan MMP-9, salah satu protein yang dibutuhkan dalam proses angiogenesis, pada sel kanker kolon yang belum maupun sudah mengalami metastasis. Selain itu, *quercetin - kaempferol* juga dapat meningkatkan aktivitas *glutathione reductase* dan *glutathione peroxidase* sebagai antioksidan, menekan COX-2, meregulasi *Toll-Like Receptor* (TLR), serta meningkatkan ekspresi *E-cadherin* (Dapat dilihat pada **Gambar 4.**)^[24,27,52,53]



Gambar 4. Farmakodinamika Nanopartikel Kitosan *Quercetin-Kaempferol* pada Proses Angiogenesis.

Efek Klinis *Quercetin* terhadap Kanker Kolorektal

Penelitian terkait efek klinis dari nanopartikel *quercetin-kaempferol* dengan polimer kitosan terhadap kanker kolorektal sendiri masih belum dilakukan. Sementara itu, penelitian terkait efek klinis pada masing-masing flavonoid telah dilakukan. Laju pembelahan yang tidak terkontrol adalah ciri dari sel kanker. Berdasarkan penelitian, *quercetin* dapat membantu menghambat pembelahan pada kanker dalam proses *Epithelial-Mesenchymal Transition* (EMT). EMT sendiri sangat berguna untuk masa pertumbuhan yang terkait dengan rekognisi aktin sitoskeleton, kehilangan kepolaran pada apikal-basal. Dalam penelitian tersebut menggunakan SW480 cells sebagai sampel penelitian, lalu akan dilakukan perbandingan terhadap fungsi dari *quercetin*. Sampel pertama adalah SW480 yang hanya diberikan DMSO, lalu sampel kedua diberikan *quercetin* dengan konsentrasi yang beragam selama 48-72 jam. Hasil pada sampel yang diberikan *quercetin* dapat menginduksi terbentuknya *E-cadherin* yang berfungsi sebagai penghambat terjadinya replikasi dan menghambat terbentuknya *twist1*, protein yang memulai proses transkripsi. Pada sel yang tidak diberikan perlakuan khusus *E-cadherin* tidak terjadi apa-apa. Selain itu, untuk menambah variasi perbandingan juga ditambahkan

variasi lain berupa penambahan TGF- β 1 pada sel SW480.^[54]

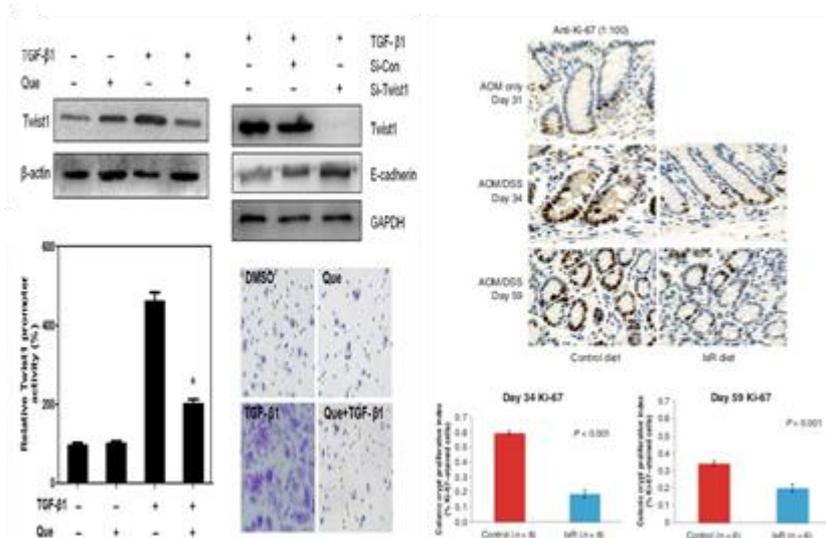
Quercetin menghalangi TGF- β 1 untuk bekerja dan menyebabkan sintesis dari *Twist1* berkurang. *E-cadherin* banyak ditemukan di dalam sel yang diberikan *quercetin* dan TGF- β 1 ke dalamnya. Dalam sintesis, TGF- β 1 mensekresikan *Twist1*, tetapi dihalangi oleh *quercetin* dengan cara menghambat kerja dari *Twist1* promotor. Dalam penelitian tersebut diberikan *Wester blotting* agar dapat dilihat. *Quercetin* dan TGF- β 1 memiliki keterkaitan dalam memengaruhi aktivitas dari *Twist1* promotor (Dapat dilihat dalam **Gambar 5.**) Dalam mekanismenya *quercetin* menghambat kerja dari promotor *Twist1*.^[54]

Dalam penelitian juga dilakukan pengamatan terhadap pengaruh *quercetin* dalam perpindahan sel SW480. Pada sampel dengan pemeriksaan menggunakan metode *transwell chamber* terlihat bahwa, *quercetin* dapat mencegah pergerakan dari SW480 yang telah diinduksi. Namun, untuk menghindari perpindahan yang paling efisien adalah dengan menggunakan *quercetin* bersama dengan TGF- β 1.^[54]

Efek Klinis *Kaempferol* terhadap Kanker Kolorektal

Efek yang ditimbulkan dari *kaempferol* tidaklah jauh berbeda. *Kaempferol* merupakan golongan flavonoid. Golongan ini berperan dalam mengurangi proliferasi. Hal ini dibuktikan dengan percobaan terhadap tikus yang telah diberikan *Dextran Sodium Sulfate* (DSS) yang berperan sebagai agen iritasi kolon.^[55]

Tikus tersebut nantinya akan mengalami proliferasi dan dijadikan sebagai kelompok kontrol pada percobaan. Sel kolon milik tikus akan diambil dan diidentifikasi di bawah mikroskop dengan pewarnaan pada Ki-67 yang berperan sebagai protein yang menginduksi terjadinya proliferasi apabila jumlah protein ini banyak di dalam sel maka akan terjadi proliferasi pada sel tersebut (Dapat dilihat pada **Gambar 5.**). Pada kelompok eksperimen diberikan flavonoid pada hari ke-31 untuk membuktikan flavonoid dapat mengurangi terjadinya proliferasi pada sel kanker. Pada percobaan ini kelompok eksperimen dengan pemberian flavonoid menunjukkan jumlah proliferasi yang lebih sedikit yaitu 16% dengan penyebaran yang lebih sedikit dan pada kelompok kontrol terjadi proliferasi sebanyak 63% (Dapat dilihat pada **Gambar 5.**). Pada hari ke-59 eksperimen menunjukkan bahwa tikus yang disuntikkan DSS dapat pulih sepenuhnya, hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dapat mengurangi proliferasi pada sel kanker.^[55]



Gambar 5. Efek Klinis *Quercetin-Kaempferol* terhadap Kanker Kolorektal.^[54,55]

SIMPULAN

Quercetin dan *kaempferol* merupakan senyawa yang dapat memberikan berbagai efek terhadap tubuh, terutama sebagai antikanker. Kedua senyawa ini dapat meningkatkan proses apoptosis secara ekstrinsik maupun intrinsik, serta menghambat proliferasi dan angiogenesis sel kanker dengan memengaruhi beberapa reseptor (DR4, DR5, FAS, dan AhR) dan memengaruhi ekspresi berbagai gen yang berperan dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel (c-Myc, cyclin, CKD, CASP2, NTRK3, CLEC4M, p21, p53, MMP-2, MMP-9, dan E-cadherin). *Quercetin* dan *kaempferol* digabungkan karena telah terbukti dapat bekerja secara sinergis dan memiliki efek yang meningkat secara signifikan. Efek utama yang ditimbulkan dari kedua modalitas tersebut adalah pengurangan efek proliferasi pada sel yang terserang kanker dan pencegahan terjadinya transformasi dari bentuk polip ke adenoma. Adapun keterbatasan dari tinjauan pustaka ini adalah tidak didapatkan secara rinci terkait masa kerja obat dan *clinical trial*. Oleh sebab itu, penelitian klinis dapat dikembangkan ke depannya.

SARAN

Perlu adanya evaluasi mendalam dan penelitian lebih lanjut khususnya terkait dosis, masa kerja obat, lama terapi nanopartikel *quercetin-kaempferol* berpolimer kitosan, sehingga dapat direalisasikan pada masyarakat. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait efek gabungan *quercetin* dan *kaempferol* sebagai antikanker sehingga dapat mengetahui lebih jelas efek samping dari interaksi kedua senyawa ini dan meminimalisasinya sebelum diberikan kepada pasien. Perlu adanya evaluasi mendalam dan penelitian lebih lanjut terkait efek klinis modalitas sehingga indikator keamanan penggunaan obat dapat tercapai.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Cancer Society. Colorectal cancer facts & figures 2017-2019.
2. Hulaima IS, Carolia N. OAINS sebagai kemoprolifaksis kanker kolorektal. *Majority*. 2016;5(1).
3. Campos FG. Colorectal cancer in young adults:

- A difficult challenge. *World J Gastroenterol*. 2017;23(28). doi:10.3748/wjg.v23.i28.5041
4. Taggarshe D, Rehil N, Sharma S, Flynn JC, Damadi A. Colorectal cancer: are the “young” being overlooked? *Am J Surg*. 2013;205(3). doi:10.1016/j.amjsurg.2012.10.016
5. Komite Penanggulangan Kanker Nasional. Pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana kanker kolorektal. <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PNPKkolorektal.pdf>. Published July 2018.
6. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterol Rev*. 2018;14(2). doi:10.5114/pg.2018.81072
7. Husna T. Pengaruh sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap sel MCF-7 dan sel T47D. 2018.
8. Basyid F, Adi K. Segmentasi citra medis untuk pengenalan objek kanker menggunakan metode active contour. *Youngster Phys J*. 2014;3(3).
9. Deng R, Shi L, Zhu W, Wang M, Guan X, Yan D, et al. Pharmacokinetics-based dose management of 5-Fluorouracil clinical research in advanced colorectal cancer treatment. *Mini-Reviews Med Chem*. 2020;20(2). doi:10.2174/1389557519666191011154923
10. Zils K, Wilhelm M, Reeh T, Bielack S. Bullous variant of acral erythema in a child after high-dose methotrexate. *Pediatr Hematol Oncol*. 2012;29(4). doi:10.3109/08880018.2012.665982
11. Kumar DRN, George VC, Suresh PK, Kumar RA. Cytotoxicity, apoptosis induction and anti-metastatic potential of *Oroxylum indicum* in human breast cancer cells. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2012;13(6). doi:10.7314/apjcp.2012.13.6.2729
12. Zhang X-A, Zhang S, Yin Q, Zhang J. *Quercetin* induces human colon cancer cells apoptosis by inhibiting the nuclear factor-kappa B Pathway. *Pharmacogn Mag*. 2015;11(42). doi:10.4103/0973-1296.153096
13. Budisan L, Gulei D, Jurj A, Braicu C, Zanoaga O, Cojocneanu R, et al. Inhibitory effect of CAPE and *kaempferol* in colon cancer cell lines—possible implications in new therapeutic

- strategies. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5). doi:10.3390/ijms20051199
14. Jaramillo Carmona S, López S, Abia R, Arcos R, Araujo A, Bejarano G, et al. Combination of *quercetin* and *kaempferol* enhances in vitro cytotoxicity on human colon cancer (HCT-116) cells. *Rec Nat Prod.* 2014;8(3).
 15. Steen N Van Der, Deben C, Deschoolmeester V, Wouters A, Lardon F, Rolfo C, et al. Better to be alone than in bad company: The antagonistic effect of cisplatin and crizotinib combination therapy in non-small cell lung cancer. *World J Clin Oncol.* 2016;7(6). doi:10.5306/wjco.v7.i6.425
 16. Wang Z, Wang N, Chen J, Shen J. Emerging glycolysis targeting and drug discovery from Chinese medicine in cancer therapy. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2012;2012. doi:10.1155/2012/873175
 17. Wang S, Zhang J, Chen M, Wang Y. Delivering flavonoids into solid tumors using nanotechnologies. *Expert Opin Drug Deliv.* 2013;10(10). doi:10.1517/17425247.2013.807795
 18. Grady WM, Markowitz SD. The molecular pathogenesis of colorectal cancer and its potential application to colorectal cancer screening. *Dig Dis Sci.* 2014;60(3). doi:10.1007/s10620-014-3444-4
 19. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung J, Boelens P, et al. Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Prim.* 2015;1. doi:10.1038/nrdp.2015.65
 20. Brodowski KM. Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *Eur J Biol Res.* 2017;7(2). doi:10.5281/zenodo.545778
 21. Hashemzaei M, Far AD, Yari A, Heravi RE, Tabrizian K, Taghdisi S, et al. Anticancer and apoptosis-inducing effects of *quercetin* in vitro and in vivo. *Oncol Rep.* 2017;38(2). doi:10.3892/or.2017.5766
 22. Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. *Medicines.* 2018;5(3). doi:10.3390/medicines5030093
 23. Li Y, Zhang T, Chen G. Flavonoids and colorectal cancer prevention. *Antioxidants.* 2018;7(12). doi:10.3390/antiox7120187
 24. Darband SG, Kaviani M, Yousefi B, Sadighparvar S, Pakdel FG, Attari JA, et al. *Quercetin*: a functional dietary flavonoid with potential chemo-preventive properties in colorectal cancer. *J Cell Physiol.* 2018;233(9). doi:10.1002/jcp.26595
 25. Kim H-S, Wannatung T, Lee S, Yang WK, Chung Sh, Lim JS, et al. *Quercetin* enhances hypoxia-mediated apoptosis via direct inhibition of AMPK activity in HCT116 colon cancer. *Apoptosis.* 2012;17(9). doi:10.1007/s10495-012-0719-0
 26. Vadde R, Radhakrishnan S, Eranda Karunathilake Kurundu H, Reddivari L, Vanamala JKP. Indian gooseberry (*Emblica officinalis Gaertn.*) suppresses cell proliferation and induces apoptosis in human colon cancer stem cells independent of p53 status via suppression of c-Myc and cyclin D1. *J Funct Foods.* 2016;25. doi:10.1016/j.jff.2016.06.007
 27. Song Y, Han M, Zhang X. *Quercetin* suppresses the migration and invasion in human colon cancer Caco-2 cells through regulating toll-like receptor 4/Nuclear Factor-kappa B pathway. *Pharmacogn Mag.* 2016;12(46). doi:10.4103/0973-1296.182154
 28. Sak K. Cytotoxicity of dietary flavonoids on different human cancer types. *Pharmacogn Rev.* 2014;8(16). doi:10.4103/0973-7847.134247
 29. Calderon-Montano J, Burgos-Moron E, Perez-Guerrero C, Lopez-Lazaro M. A review on the dietary flavonoid *kaempferol*. *Mini-Reviews Med Chem.* 2011;11(4). doi:10.2174/138955711795305335
 30. Puccini J, Dorstyn L, Kumar S. Caspase-2 as a tumour suppressor. *Cell Death Differ.* 2013;20(9). doi:10.1038/cdd.2013.87
 31. Luo Y, Kaz AM, Kanngurn S, Welsch P, Morris SM, Wang J, et al. NTRK3 is a potential tumor suppressor gene commonly inactivated by epigenetic mechanisms in colorectal cancer. Scott HS, ed. *PLoS Genet.* 2013;9(7). doi:10.1371/journal.pgen.1003552
 32. Na H, Liu X, Li X, Zhang X, Wang Y, Wang Z, et al. Novel roles of DC-SIGNR in colon cancer cell adhesion, migration, invasion, and liver metastasis. *J Hematol Oncol.* 2017;10(1). doi:10.1186/s13045-016-0383-x
 33. Choi J-B, Kim J-H, Lee H, Pak J-N, Shim BS, Kim S-H. Reactive oxygen species and p53 mediated activation of p38 and caspases is critically involved in *kaempferol* induced apoptosis in colorectal cancer cells. *J Agric Food Chem.* 2018;66(38). doi:10.1021/acs.jafc.8b02656
 34. Abotaleb M, Samuel S, Varghese E, Varghese S, Kubatka P, Liskova A, et al. Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers (Basel).* 2018;11(1). doi:10.3390/cancers11010028
 35. Saboktakin MR, Tabatabaie RM, Maharramov A, Ramazanov MA. Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch-chitosan nanoparticles as drug delivery system to the colon. *Int J Biol Macromol.* 2011;48(3). doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.10.005
 36. Gamboa JM, Leong KW. In vitro and in vivo models for the study of oral delivery of nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013;65(6). doi:10.1016/j.addr.2013.01.003
 37. Baksi R, Singh DP, Borse SP, Rana R, Sharma V, Nivsarkar M. In vitro and in vivo anticancer efficacy potential of *Quercetin* loaded polymeric nanoparticles. *Biomed Pharmacother.* 2018;106. doi:10.1016/j.biopha.2018.07.106
 38. Iqbal P, Preece JA, Mendes PM. Nanotechnology: the “top-down” and “bottom-up” approaches. *Supramol Chem.* 2012. doi:10.1002/9780470661345.smc195
 39. Kurniasari D, Atun S. Pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada berbagai variasi komposisi kitosan. *J Sains Dasar.* 2017;6(1). doi:10.21831/jsd.v6i1.13610
 40. Riahi-Chebbi I, Souid S, Othman H, Haoues M, Karoui H, Morel A, et al. The phenolic compound *kaempferol* overcomes 5-fluorouracil resistance in human resistant LS174 colon cancer cells. *Sci Rep.* 2019;9(1).

- doi:10.1038/s41598-018-36808-z
41. Sulanjani I, Andini MD, Halim M. *Dasar-dasar farmakologi 1*. 1st ed. (Nila A, ed.). Direktorat Pembinaan SMK; 2013.
 42. Colombo M, de Lima Melchiades G, Michels LR, Figueiró F, Bassani VL, Teixeira HF, et al. Solid dispersion of *kaempferol*: formulation development, characterization, and oral bioavailability assessment. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(3). doi:10.1208/s12249-019-1318-y
 43. Muxika A, Etxabide A, Uranga J, Guerrero P, de la Caba K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *Int J Biol Macromol*. 2017;105(2). doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.087
 44. Lu H, Yang G, Ran F, Gao T, Sun C, Zhao Q, et al. Polymer-functionalized mesoporous carbon nanoparticles on overcoming multiple barriers and improving oral bioavailability of Probuco. *Carbohydr Polym*. 2020;229. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115508
 45. de Oliveira Pedro R, Hoffmann S, Pereira S, Goycoolea FM, Schmitt CC, Neumann MG. Self-assembled amphiphilic chitosan nanoparticles for *quercetin* delivery to breast cancer cells. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;131. doi:10.1016/j.ejpb.2018.08.009
 46. Khan F, Niaz K, Maqbool F, Hassan F, Abdollahi M, Venkata K, et al. Molecular targets underlying the anticancer effects of *quercetin*: an update. *Nutrients*. 2016;8(9). doi:10.3390/nu8090529
 47. Lee H, Cho H, Yu R, Lee K, Chun H, Park J. Mechanisms underlying apoptosis-inducing effects of *kaempferol* in HT-29 human colon cancer cells. *Int J Mol Sci*. 2014;15(2). doi:10.3390/ijms15022722
 48. Fuchs O. Transcription factor NF- κ B inhibitors as single therapeutic agents or in combination with classical chemotherapeutic agents for the treatment of hematologic malignancies. *Curr Mol Pharmacol*. 2010;3(3). doi:10.2174/1874467211003030098
 49. Liu B, Qu L, Yan S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell Int*. 2015;15(1). doi:10.1186/s12935-015-0260-7
 50. Chen B-J, Wu Y-L, Tanaka Y, Zhang W. Small molecules targeting c-Myc oncogene: promising anti-cancer therapeutics. *Int J Biol Sci*. 2014;10(10). doi:10.7150/ijbs.10190
 51. Park S, Choi J. Inhibition of β -catenin/Tcf signaling by flavonoids. *J Cell Biochem*. 2010;110(6). doi:10.1002/jcb.22654
 52. Ademosun AO, Oboh G, Passamonti S, Tramer F, Ziberna L, Boligon AA, et al. Phenolic composition of orange peels and modulation of redox status and matrix metalloproteinase activities in primary (Caco-2) and metastatic (LoVo and LoVo/ADR) colon cancer cells. *Eur Food Res Technol*. 2016;242(11). doi:10.1007/s00217-016-2694-0
 53. Xiao X, Shi D, Liu L, Wang J, Xie X, Kang T, et al. *Quercetin* suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling. Tao Q, ed. *PLoS One*. 2011;6(8). doi:10.1371/journal.pone.0022934
 54. Feng J, Song D, Jiang SY, Yang XH, Ding TT, Zhang H, et al. *Quercetin* restrains TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition by inhibiting Twist1 and regulating E-cadherin expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;498(1):132-138. doi:10.1016/j.bbrc.2018.02.044
 55. Saud SM, Young MR, Jones-Hall YL, Ileva L, Egbuomwan MO, Wise J, et al. Chemopreventive activity of plant flavonoid isorhamnetin in colorectal cancer is mediated by oncogenic src and -catenin. *Cancer Res*. 2013;73(17). doi:10.1158/0008-5472.can-13-0525