

# AKTIVITAS ANTITUMOR AGEN CELECOXIB TERHADAP INVASI SEL KANKER LIDAH SP-C1 (KAJIAN INVITRO)

Harun Achmad, Mieke Satari, Roosje Oewen, Supriatno

## ABSTRAK

Invasi merupakan sifat karakteristik pada terjadinya kanker dan menunjukkan kemampuan sel kanker merusak dan mendegradasi batas antara jaringan epitel dan basal membran untuk selanjutnya menyebar ke dalam matriks ekstraseluler sekitarnya. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui adanya hambatan pada invasi sel kanker lidah SP-C1 dengan menggunakan obat kemopreventif celecoxib.

Sel kanker lidah SP-C1 pada uji in vitro diberi perlakuan dengan menggunakan obat celecoxib sebagai subyek penelitian pada konsentrasi 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, serta 0 sebagai kelompok kontrol (hanya pemberian media pertumbuhan DMEM). Pengujian eksperimental murni dilakukan selama 24 dan 48 jam dengan pengamatan dan perhitungan terhadap rerata jumlah invasi sel kanker lidah SP-C1 setelah pemberian beberapa konsentrasi celecoxib.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANAVA dengan uji berpasangan rentang Newman Keuls atau t test. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah invasi sel kanker lidah SP-C1 setelah pemberian obat celecoxib berdasarkan konsentrasi dan waktu pemberian secara statistik memberikan hasil yang signifikan. Hasil pengujian dengan ANAVA memberikan F hitung = 60,46 yang bersifat bermakna secara statistik, artinya rata-rata terjadinya jumlah invasi sel kanker lidah SP-C1 karena pemakaian celecoxib dengan konsentrasi tertentu dibandingkan tanpa celecoxib adalah berbeda. Pada Celecoxib konsentrasi nol (kontrol) adalah 24,4 dengan konsentrasi celecoxib mulai dari 5 sampai dengan 125 mengalami penurunan dari rata-ratanya 11 hingga menjadi 2,3.

Kesimpulan penelitian adalah semakin besar konsentrasi celecoxib yang diberikan akan memberikan efek yang lebih besar pula terhadap hambatan invasi sel kanker lidah SP-C1.

**Kata kunci : Invasi, Sel Kanker lidah SP-C1, Celecoxib**

## ABSTRACT

*Invasion is a characteristic of the occurrence of cancer and indicates the cancer cells' capability to destroy and degrade the border between the epithel and basal membrane to further spread into the surrounding extra-cellular matrix. The purpose of this research was to find the existence of impediment at the SP-C1 tongue cancer cell using celecoxib chemopreventive medication.*

*The SP-C1 tongue cancer cells were treated in vitro using celecoxib medication as research subject at the following concentrations 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, and 0 as control group (only DMEM growth medium treatment). Pure experimental testing was carried out for 24 and 48 hours, with observation and calculation of average number of SP-C1 tongue cancer cells.*

*The data collected were analyzed using the ANAVA test with Newman Keuls paired range test or t test. Research results indicated that the average number of SP-C1 tongue cancer cells invasion after administration of celecoxib medication based on administration concentration and time statistically yielded significant results. The ANAVA test results yielded  $F_{calc.} = 60.46$ , which was statistically significant, that is, average occurrence of the number of SP-C1 tongue cancer cells due to the use of celecoxib at certain concentrations*

*compared to that without celecoxib was different. At Celecoxib of zero (control) concentration was 24.4 with celecoxib concentration starting at 5 up to 125 experienced decline from its average 11 to become 2.3.*

*The conclusion of the research was that the greater the celecoxib concentration administered, the greater the effect on the impediment of SP-C1 tongue cancer cell invasion.*

***Keywords: Invasion, SP-C1 tongue cancer cell, celecoxib***

## **PENDAHULUAN**

Kanker merupakan pertumbuhan yang cepat dan abnormal pada sel, tidak terkontrol, dan tidak terlihat batasan yang jelas dengan jaringan yang sehat serta mempunyai sifat anaplasia, invasi, metastasis dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi.<sup>1</sup> Penyakit ini memiliki ciri-ciri adanya gangguan atau kegagalan mekanisme pengaturan multiplikasi pada organisme multiseluler sehingga terjadi perubahan perilaku sel yang tidak terkontrol. Perubahan tersebut disebabkan adanya perubahan atau transformasi genetik, terutama pada gen-gen yang mengatur pertumbuhan, yaitu protoonkogen dan gen penekan tumor. Sel-sel yang mengalami transformasi terus-menerus berproliferasi dan menekan pertumbuhan sel normal.<sup>2</sup>

Karsinoma sel skuamosa pada lidah merupakan tumor ganas yang berasal dari mukosa epitel rongga mulut dan sebagian besar merupakan jenis karsinoma epidermoid.<sup>4</sup> Karsinoma sel skuamosa lidah berkisar antara 25 sampai dengan 50 % dari semua kanker ganas di dalam mulut. Dari 441 karsinoma sel skuamosa lidah yang dilaporkan oleh Ash dan Millar, 25 % terjadi pada wanita dan 75 % terjadi pada pria dengan umur rata-rata 63 tahun. Menurut statistik dari *NCI's SEER (National Cancer Institute Surveillance Epidemiology and End Results) U.S. National Institutes of Health Cancer* diperkirakan 9,800 pria dan wanita (6,930 pria dan 2,870 wanita) didiagnosis terkena kanker lidah.<sup>5</sup> Karsinoma sel skuamosa lidah mempunyai prognosis yang jelek, sehingga diagnosa lebih awal sangat diperlukan terlebih bila telah terjadi metastase ke daerah lain (leher dan servikal). Karsinoma lidah sering dijumpai bersama-sama dengan penyakit syphilis dan premalignant seperti: leukoplakia,

erythroplasia sedangkan menurut penelitian Frazell dan Lucas kasus-kasus kanker lidah yang terjadi bagian dorsum lidah hanya 4%, tetapi lebih ganas (*Undifferentiated epidermoid carcinoma*).<sup>6</sup>

Karsinoma sel skuamosa lidah terjadi karena kehilangan kontrol pada siklus sel, yaitu *control cell survival*, dan *control cell motility*.<sup>8</sup> Proses terbentuknya karsinoma sel skuamosa merupakan proses bertahap, yang terjadi karena adanya gangguan fungsi pengatur pertumbuhan (protoonkogen dan gen penghambat tumor) sehingga terjadi peningkatan produksi *growth factors* dan jumlah reseptor permukaan sel, memacu transduksi sinyal interseluler, dan meningkatkan produksi faktor transkripsi.<sup>7,8</sup> Sifat letal dari kanker adalah memiliki kemampuan untuk menginvasi pada jaringan sekitar, dan menyebar ke seluruh tubuh.<sup>9,10</sup>

Sel kanker lidah SP-C1 merupakan sel kanker lidah yang diisolasi dari limfonodi penderita kanker. Sel kanker lidah Sp-C1 berasal dari sel skuamosa karsinoma yang mempunyai diferensiasi sedang dan belum mengalami invasi ke jaringan otot. Sel kanker ini mempunyai spesifikasi, (1) mempunyai invasi dan metastasis yang cepat, (2) paling banyak dijumpai pada manusia, (3) rekurensinya terjadi sangat tinggi walaupun telah dilakukan terapi secara radikal. (4) rerata lamanya hidup penderita pendek. Kanker ini juga termasuk penyakit yang sulit untuk disembuhkan dan mudah mengalami metastasis ke limfonodi servikal dengan tingkat keganasan yang tinggi.<sup>11</sup>

Sebelum mengalami proses invasi, karsinoma sel skuamosa berkembang secara terlokalisir pada epitel asal kanker, dan belum mengalami proses penetrasi ke membrana basalis, keadaan ini dinamakan karsinoma insitu. Namun oleh karena pola pertumbuhan kanker yang invasif menyebabkan perluasan sel kanker keluar dari jaringan asalnya, sehingga akan mempengaruhi fungsi permukaan organ yang berdekatan.<sup>27</sup>

Karsinoma sel skuamosa akan berinvasi ke jaringan di bawahnya, serta bermetastasis tergantung pada tingkat keganasannya. Invasi merupakan sifat karakteristik pada terjadinya kanker. Invasi menunjukkan kemampuan sel kanker merusak atau mendegradasi batas antara jaringan epitel dan membrana basalis.<sup>27</sup>

Proses invasi terjadi dengan cara infiltrasi ke dalam jaringan pembatas, merusak membrana basalis, matriks ekstraseluler dan merusak arsitektur jaringan bahkan kemudian dapat merusak fungsi organ.<sup>9</sup> Penyebaran sel kanker terjadi oleh karena adanya migrasi sel epitel. Migrasi sel epitel sangat esensial untuk berbagai proses fisiologis dan patologis. Migrasi dari sel karsinoma melibatkan mekanisme molekuler yang sama dengan migrasi fisiologis. Perubahan perilaku sel adalah sebagai akibat perubahan dari sinyal molekuler dan perbedaan kemampuan dari sel tumor dalam merespon sinyal. Invasi sel tumor melibatkan proses ikatan antara reseptor dengan ligan dan interaksi antara protein-protein oleh enzim membrana basalis.<sup>9</sup>

Dua fakta yang penting pada kombinasi penggunaan obat-obatan *Anti Inflammatory Non Steroid (NSAID)* dengan radioterapi pada penanganan penyakit kanker. Pertama pada aspek pencegahan (preventif kanker) yang kemudian berpengaruh pada efek jangka panjang. Aspek kedua pada penggunaan pengobatan (kuratif) kanker. Celecoxib merupakan jenis obat antiinflamasi golongan NSAID yang pada penggunaannya tidak hanya berperan sebagai agen terapeutik analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi tetapi juga berperan pada penanganan pencegahan kanker. Celecoxib (golongan NSAID) dapat memperlambat proliferasi dan menghambat invasi sel kanker dan membunuh sel kanker (pada beberapa prosentase). Celecoxib sebagai anti kanker berperan dalam intervensinya pada siklus sel.<sup>12</sup>

## HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan pada beberapa konsentrasi celecoxib terhadap hambatan invasi sel kanker lidah SP-C1 *Supri's clone* dengan menggunakan alat *Boyden Chamber Assay*. Pengamatan sel kanker dilakukan selama rentang waktu 24 jam dan 48 jam untuk melihat dan kemudian melakukan perhitungan pada jumlah sel kanker yang masih hidup dengan tujuan untuk mengetahui jumlah sel-sel kanker yang mengalami hambatan invasi setelah diberi perlakuan obat celecoxib dengan masing-masing konsentrasi 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125. dan sebagai pembanding ditentukan pula kelompok kontrol dengan hanya pemberian media pertumbuhan (DMEM).

Berdasarkan data yang diperoleh (Tabel 1), hasilnya dijabarkan sebagai berikut :

1. Secara umum hasil pengamatan dan perhitungan jumlah sel kanker lidah SP-C1 yang dilakukan pada rentang waktu 24 jam pada membran polikarbonat di bawah mikroskop cahaya, nampak adanya perubahan bermakna terhadap hambatan sel kanker SP-C1, mulai dari konsentrasi 5 hingga pada konsentrasi 125. Di samping itu, membandingkan kelompok kontrol 24 jam (rerata 95) dan 48 jam menunjukkan jumlah sel-sel kanker lidah SP-C1 yang tetap mengalami peningkatan jumlah invasi setelah dilakukan perhitungan kembali pada data hasil penelitian rentang waktu 48 jam (100).
2. Pada perhitungan jumlah sel-sel kanker kelompok kontrol, dengan membandingkan kelompok kontrol rentang waktu 24 jam (95), dengan hasil data hasil perhitungan setelah 48 jam (100) tampak adanya angka peningkatan sebanyak 5 %, hal ini menunjukkan data bahwa pada sel-sel kanker tanpa perlakuan dengan obat celecoxib akan memberi data hasil berupa peningkatan jumlah sel kanker SP-C1 (terjadi invasi pada sel kanker).
3. Pengamatan jumlah sel kanker pada konsentrasi 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125 celecoxib pada rentang waktu 24 jam (57; 39,6; 24; 21,3; 17,67; 14,3; 11,3) menunjukkan data hasil yang menurun setelah perhitungan pada rentang waktu 48 jam (31,3; 25,67; 21; 19,3; 17; 13;

6,67), hal ini menunjukkan hasil bahwa terdapat peningkatan hambatan invasi pada sel-sel kanker lidah SP-C1 setelah perlakuan dengan media eksperimen celecoxib.

**Tabel 1.** Analisis Jumlah Invasi Sel Kanker SP-C1

Waktu (A)	Konsentrasi (B)								Jumlah	Rata-rata
	Tanpa	5%	10%	25%	50%	75%	100%	125%		
24 jam	95	65	40	24	22	18	16	13		
	96	52	39	25	19	18	14	12		
	94	54	40	23	23	17	13	9		
Jumlah	285	171	119	72	64	53	43	34	841	
Rata-rata	95,0	57,0	39,7	24,0	21,3	17,7	14,3	11,3		35,0
48 jam	98	30	27	22	19	18	11	7		
	99	32	24	20	20	16	15	6		
	103	32	26	21	19	17	13	7		
Jumlah	300	94	77	63	58	51	39	20	702	
Rata-rata	100,0	31,3	25,7	21,0	19,3	17,0	13,0	6,7		29,3
Total	585	265	196	135	122	104	82	54	1543	

4. Pengamatan jumlah sel kanker pada konsentrasi 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125 celecoxib pada rentang waktu 24 jam (57; 39,6; 24; 21,3; 17,67; 14,3; 11,3) menunjukkan data hasil yang menurun setelah perhitungan pada rentang waktu 48 jam (31,3; 25,67; 21; 19,3; 17; 13; 6,67), hal ini menunjukkan hasil bahwa terdapat peningkatan hambatan invasi pada sel-sel kanker lidah SP-C1 setelah perlakuan dengan media eksperimen celecoxib.

**Tabel 2** Hasil variasi perbedaan rata2 jumlah invasi sel kanker lidah SP-C1 berdasarkan waktu dan konsentrasi

Sumber Variasi (sv)	Dk (df)	Jumlah Kuadrat (JK)	Rata-rata Jml Kuadrat (RJK)	F Hitung	Nilai y
Perlakuan: Waktu (A)	1	402,521	402,521	80,504	< 00
Perlakuan (B)	7	34470.813	4924.40	984,880	< 00
Interaksi (AB)	7	972,646	138,949	27.790	< 00
Error	32	160.00	5.000	-	-
Total	48	85607.00	-	-	-
Corrected Total	47	36005,979			

**Tabel. 3** Perbandingan jumlah invasi sel berdasarkan waktu dan konsentrasi obat

Waktu (A)	Konsentrasi									F Hitung	Nilai P
	0	5	10	25	50	75	100	125			
24 jam	Mean (SD) Rentang	95,0 (1,0) 94-96	57,0 (7,0) 52-65	39,67 (0,577) 39-40	24,0 (1,0) 23-25	21,33 (2,082) 19-23	17,67 (0,577) 17-18	14,33 (1,528) 13-16	11,33 (2,082) 9-13	311,920	< 0,001
48 jam	Mean (SD) Rentang	100 (2,646) 98-103	31,33 (1,155) 30-32	25,67 (1,528) 24-27	21,0 (1,0) 20-22	19,33 (0,577) 19-20	17,0 (1,0) 16-18	13,0 (2,0) 11-15	6,67 (0,577) 6-7	1209,220	< 0,001

Pada dasarnya kanker rongga mulut dapat terjadi oleh karena adanya genom abnormal, terjadi karena kerusakan gen yang mengatur pertumbuhan diferensiasi sel. Gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel disebut *protooncogen* dan *tumor suppressor genes*, dan terdapat pada semua kromosom dengan jumlah yang banyak. *Protooncogen* yang telah mengalami perubahan hingga dapat menimbulkan kanker disebut onkogen.<sup>21</sup>

Pemahaman tentang proses karsinogenesis merupakan pengembangan strategi dalam pengobatan penyakit kanker. Pendekatan terapi kanker menggunakan agen kemopreventif lebih menjanjikan daripada obat antikanker konvensional. Agen kemopreventif didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menghambat dan menekan proses karsinogenesis pada manusia sehingga pertumbuhan kanker dapat dicegah.<sup>37</sup>

Pada terapi kanker pengembangan agen kemopreventif didasarkan pada regulasi daur sel termasuk reseptor-reseptor hormon pertumbuhan dan protein kinase, penghambatan angiogenesis, penghambatan enzim siklooksigenase-2 (COX-2), dan induksi apoptosis. Agen kemopreventif mempunyai target aksi spesifik melalui mekanisme-mekanisme molekuler tersebut. Ketidaknormalan pada daur sel dan regulasi apoptosis, peningkatan enzim COX-2, dan proses angiogenesis hanya terjadi pada sel yang terkena kanker meskipun pada beberapa kasus angiogenesis terjadi pada jantung.<sup>37</sup>

Celecoxib (golongan NSAID) dapat memperlambat proliferasi dan invasi sel kanker dan membunuh sel kanker (pada beberapa prosentase). Celecoxib sebagai anti kanker berperan dalam intervensinya pada siklus sel.<sup>12</sup> Enzim siklooksigenase (COX) yang merupakan target aksi Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS) terdapat dalam dua isoform, yaitu COX-1 dan COX-2. Kedua enzim tersebut mengkatalisis reaksi dan menghasilkan produk yang sama, yaitu prostaglandin, tetapi dengan fungsi biologis yang berbeda.<sup>13</sup>

Hasil pengujian secara statistik dengan ANAVA juga memberikan F hitung = 984,880 yang bersifat bermakna secara statistik, artinya rata-rata terjadinya invasi sel kanker terhadap hambatan obat celecoxib pada konsentrasi tertentu dibandingkan tanpa pemberian celecoxib adalah berbeda. Tanpa Celecoxib (kontrol) adalah 97,50 dengan celecoxib mulai konsentrasi 5  $\mu\text{M}$  hingga konsentrasi 125  $\mu\text{M}$  telah berubah rata-ratanya dari angka 44,17 hingga menjadi 9,00.

Hasil pengujian berdasarkan faktor waktu dengan ANAVA juga memberikan F hitung = 80,504 yang bersifat sangat bermakna secara statistik, ini memperlihatkan bahwa faktor waktu sangat berpengaruh terhadap efektivitas obat antiinvasi celecoxib: semakin lama waktunya semakin rendah atau terjadi penurunan invasi sel kanker dilihat dari rata-rata invasi sel kanker (35,042 pada waktu 24 jam berbeda dengan rata-rata pada 48 jam yaitu 29,250).

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Lucille *et al* (2007) yang menyatakan bahwa celecoxib 10  $\mu\text{M}$  menghambat invasi sel atau migrasi melalui kolagen matriks tipe 1 sekitar 40 % dalam 24 jam. Hasil zymography menyatakan bahwa dengan adanya celecoxib 10  $\mu\text{M}$  aktifitas enzim MMP-2 dan MMP-8 menurun sekitar 30-40%. Penelitian invitro ini juga menunjukkan bahwa terdapat hambatan proliferasi dan invasi sel skuamosa karsinoma oleh spesifik COX-2 inhibitor, dimana celecoxib menghasilkan efek antikanker melalui variasi mekanisme seluler dan molekuler. Pada penelitian di atas juga menguji 10 golongan NSAID yang tersedia terhadap sel kanker rongga mulut ditemukan bahwa celecoxib dan



sulindac sulfide (Clinoril sulfide) sangat efektif dalam membunuh dan menghambat perkembangan sel kanker. Penelitian pada kedua obat celecoxib dan sulindac sulfide ditemukan bahwa celecoxib paling efektif, menghambat hingga 60 persen sel kanker rongga mulut.<sup>12,4</sup>

## **KESIMPULAN**

Obat celecoxib memberikan hambatan pada invasi sel kanker lidah SP-C1 pada beberapa konsentrasi yang diberikan, hal ini terlihat dari penurunan jumlah sel kanker lidah setelah pemberian konsentrasi mulai dari konsentrasi rendah (5) sampai konsentrasi tinggi (125). Sedangkan pada kelompok kontrol (tanpa pemberian konsentrasi celecoxib) tetap memperlihatkan peningkatan jumlah invasi sel-sel kanker lidah.

## **REFERENSI**

1. Warshawsky S, Landolph JR. *Molecular Carcinogenesis and the Molecular Biology of Human Cancer*, 1<sup>st</sup> ed. Boca Raton USA, Taylor & Francis Group, 2006 : 6
2. King RJ, Robins MW. *Cancer Biology*, 3<sup>rd</sup> ed. England, Pearson Education Limited, 2006 : 209-29
3. Dorland, W.A.. *Medical Dictionary*. 29th ed. Philadelphia. WB Saunders Co. 2000: 349
4. Wood, N.K and Sawyer D.R., 1997, Oral Cancer, dalam Wood, N.K. dan Goaz, P.W. (eds): *Differential Diagnosis Of Oral and Maxillofacial lesion*, Mosby Inc., St. Louis Missouri, 587-595
5. Hasibuan S., 2004. *Prosedur Deteksi Dini dan Diagnosis Kanker Rongga Mulut*, Digitized by USU digital library. p.1-7
6. Shah J.P., Zelefsky M.J., *Cancer of Oral Cavity*. In: *Harrison et al Head and Neck Cancer. A Multidisciplinary Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2004, . 266-80
7. Williams, H.K., 2000 Molecular Pathogenesis of Oral Squamous Carcinoma, *J. Clin Pathol, Mol. Pathol.*, 53: 165-172
8. Regezi J.A.; Sciubba J.J. 1999. *Oral Pathology. Clinical Pathologic Correlations*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 76-90

9. Revianti S, Parisihni K, 2005, peran Matriks Metalloproteinase (MMP) pada metastasis Karsinoma Sel Skuamosa Rongga Mulut, Jurnal PDGI, Edisi khusus tahun ke-55, 232-236
10. Liotta L.A., 1993. Principles of Molecular Cell Biology of Cancer: Cancer Metastasis. In: DeVita. Cancer. Principles & Practice of Oncology. 4<sup>th</sup> ed. Lippincott-Raven. Philadelphia. 134-40
11. Supriatno, Yuletnawati, 2006. Aktifitas Anti Kanker Cepharantine Pada Kanker Lidah Manusia In Vitro (tinjauan proliferasi, invasi, dan metastasis sel), Majalah Kedokteran Gigi UGM, Yogyakarta, p.141-145
12. Roy J, Lucille A, *Combining NSAID With Chemotherapy, Radiation May Improve Cancer Treatment*, available at; <http://www.uihealthcare.com/news/news/2007/06/04/cancertreatment.html>, Diakses pada tanggal 25 juni 2009
13. Washart, M.L. 2002. *Treating and Preventing Cancer Through COX-2 Inhibition*. (diakses 20 Mei 2009).
14. Neville, B.W., Damm, D.D., Alien, C.M., Bouquot I.E. 2002 , *Oral and Maxillofacial Pathology*, 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders Co Praga SM, Dickson RB, Hawkins MJ. *Matrix Metalloproteinase inhibitors*. J Investigational New Drug, , 15: 61-75
15. Crawson R.A, Odell E.W, 2008. *Cawson's Essentials Of Oral Pathology And Oral Medicine*. Phila Delphia, Churchill Livingstone Elsevier., p.277-284
16. Epstein J.B, Der Waal I, 2008. *Oral Cancer*, in : Greenberg M.S, Glick M, Ship J.A., *Burket's Oral Medicine*, 11<sup>th</sup> ed. BC Decker Inc, Hamilton, 153-4
17. Syafriadi M. Patologi Mullut. Tumor Neoplastik dan Non Neoplastik Rongga Mulut. Yogyakarta, ANDI, 2008: 74-7
18. Sapp J.P., Eversole, L.R., Wysocki, G.P. 2004. *Contemporary Oral and Maxillofacial Pathology*. 2nd ed. Mosby. St Louis. 134-43
19. Sudiono J, Kurniadhi B, Hendrawan A, Djimantoro B. Ilmu Patologi. Jakarta, EGC, 2003: 144-47
20. Istindiah H.N, Auerkari E.I., 2001, Mekanisme Kontrol Siklus Sel (Suatu tinjauan khusus peran protein regulator pada jalur retinoblastoma (Rb), JKG. UI, 8(1): 39-47
21. Kumar V, Cotran R.S, Robbins S.L., 2007. *Robbins Basic Pathologic*, . 7<sup>th</sup> ed. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC. p.185-224
22. Fuller GM, Shields D., 1998, *Molecular Basis of Medical Cell Bilogy*, 1<sup>st</sup> ed., Appleton & Lange, Connecticut, 106-23

23. Kumar V, Abbas AK, Fausto N., 2005. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Elsevier
24. Budiani D.R., Mengenal Ciri-ciri Sel kanker, Sebagai Bekal Dalam Mengkaji Potensi Chemopreventive Suatu Senyawa anti tumor, Available at : <http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/2009/03/16/> Diakses (20 mei 2009)
25. Hanahan, D., Weinberg, R.A., 2000, *The Hallmarks of Cancer*, *Cell*, 100: 57-70
26. Sugerman P.B, Savage, NW., 1999, *Current Concept in Oral Cancer*, *ADJ*, 44(3): 147-156
27. Field JK., 1995, *The role of Oncogenes and Tumour-Supressor genes In The Aetiology of Oral, Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*, *J.R. Soc. Med.*, (88); 35-39
28. Robbins and Cotran, *Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. WB Saunders Co. Philadelphia, 2005: 309-13
29. Scully, C. 1992. *Oncogen, Onco-Supressor, Carcinogenesis and Oral Cancer*. *British Dental Journal*. 173. 53.
30. Sudiana I.K, 2008. *Patobiologi Molekuler Kanker*, Salemba medika, Jakarta, 53-9
31. Liotta L.A and Kohn A.C., 2003. *Invasion and Metastases*. In: *Cancer Medicine*. 2nd ed. BC Becker Inc. London
32. Kresno S.B., 2002. *Angiogenesis dan Metastasis dalam Onkologi.*, Bagian Pastologi Klinik FKUI, Jakarta
33. McDonnell S, Morgan M, Lignal C. 1999. *Role of matrix metalloproteinases in normal and disease processes*. *Biochem Soc Trans* 27:734-40
34. Birkedal-Hansen H, Moore W.G., Bodden M.K., Windsor L.J., Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. 1993. *Matrixmetalloproteinases: a review*. *Crit Rev Oral Biol Med* 4:197-250.
35. Motoharu, 2002. *The cell surface: the stage for matrix metalloproteinase regulation of migration*. *Current Opinion in Cell Biology* 14: 624-632
36. Nabeshima K, Inoue T, Shimao Y, Sameshima T. 2004. *Matrix metalloproteinases in tumor invasion: Role for cell migration*. *J.Pathol Int*. 52:255-64.
37. Kudo, Yasusei., et al. 2004. *Invasion and Metastasis of Oral Cancer Cells Require Methylation of E-Cadherin and/or Degradation of Membranous  $\beta$ -Catenin*. *Clinical Cancer Research* (10): 5455-5463.
38. John, A, Tuszynski G. 2001. *The Role of Matrix Metalloproteinases in Tumor Angiogenesis and Tumor Metastasis*. *Pathology Oncology Research* 7(1):14-23

39. Stevenson, W.G., *et al.* 1993. *Tumor Cell Interactions with Extracellular Matrix During Invasion and Metastasis*. *Annu. Rev. Cell. Bio.* 9:541-73.
40. Kähäri V.M., Saarialho-Kere U. 1999. *Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion*. *Ann Med* 31: 34-35
41. Ikebe T, *et al.* 1999. *Gelatinolytic activity of matrix metalloproteinase in tumor tissues correlates with the invasiveness*. *Clin Exp Metastasis* 17:315-323.
42. Holsinger F.C., *Invasion and Metastases in Head and Neck Cancer*. In: *Harrison et al. Head and Neck Cancer. A Multidisciplinary Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 2004: 948-62.
43. Kakizoe, T., 2003, *Chemoprevention of Cancer Focusing on Clinical Trial*, National Cancer Center, *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 33(9): 421-442
44. Chang, L.C., Kinghorn, A.D., 2001, *Flavonoid as Chemopreventive Agent, Bioactive Compound from Natural Sources, Isolation, Characterization and Biological Properties*, Taylor & Friends, New York.
45. Surh J.Y, Chun K.S., 2004. *Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention*. Proceedings from the 6th and 7th international conferences, Signal Transduction 2004 and Chromatin 2004, 68(6) p.1089-1100
46. Koki, A.T., and Masferrer, J.L., 2002, Celecoxib: A Specific COX-2 Inhibitor with Anti Cancer Properties, *Cancer Control*, 9 (2), 28-35
47. Zecha Zecha, G., Lin, D.W., and Montgomery, R.B., 2004, The increasing role of CAM in prostate cancer, *JAAPA*, 17, 37-44....
48. Akiyama Akiyama T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M, and Fukami, Y., 1987, Genistein, a Specific Inhibitor of Tyrosine-specific Protein Kinases, *J Biol Chem*, 262 (12), 5592-5595.
49. Kasmet K.; M.T. Akay; Osman A.; Aygan E. 2003. *Celecoxib: a Potent Cyclooxygenase-2 Inhibitor in Cancer Prevention*. (diakses 20 Mei 2009).
50. Kwak, Y.E.; Jeon N.K.; Kim J.; Lee E.J. 2007. The Cyclooxygenase-2 Selective Inhibitor Celecoxib Suppresses Proliferation and Invasiveness in the Human Oral Squamous Carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 1095: 99-111
51. Bertagnolli, Monica M., M.D., *et al.* 2006. *Celecoxib for the Prevention of Sporadic Colorectal Adenomas*. *The New England Journal of Medicine* 355 (9): 873-884.