

EVALUASI EFEK KOMBINASI EKSTRAK BIJI *Sterculia foetida* DAN VIRGIN COCONUT OIL TERHADAP KONSENTRASI DNA *Bifidobacterium longum* PADA MODEL TIKUS KANKER KOLOREKTAL

Burhannuddin^{1*} · I Wayan Karta² · Luh Putu Rinawati³ ·
I Gusti Ngurah Dwija Putra⁴

^{1,2,3,4} Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
e-Mail : boerhannuddin@gmail.com
No Tlp WA : 082398655686

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a global health problem with high incidence and mortality. One of the natural ingredients that has the potential to be used as an anticancer is *Sterculia foetida* seed extract (*Sterculia foetida*). This study aims to determine the effect of the combination of *Sterculia foetida* seed extract with Virgin Coconut Oil on the intestinal microbiota profile and histological structure of the colon in colorectal cancer rat models. *Sterculia foetida* seed extract was prepared by maceration technique using ethanol as a solvent. *Sterculia foetida* seed ethanol extract was supplemented with VCO at concentrations of 5, 10, and 15%. The test animals used were 25 male Wistar rats, evenly divided into 3 treatment groups and 2 control groups. Rats were induced with 1,2-dimethylhydrazine (DMH) at a dose of 40 mg/Kg rat weight for 2 weeks to obtain a colorectal cancer mouse model. Rats were treated with supplementation of *Sterculia foetida* seed extract and VCO according to the treatment group for 5 weeks. Bacterial DNA was isolated from faeces, as a template for PCR reactions for the analysis DNA Concentration of *Bifidobacterium longum*. Data were analyzed descriptively and quantitatively using statistical analysis to determine the effect of the combination of *Sterculia foetida* seed extract with VCO on DNA Concentration of *Bifidobacterium longum* in colorectal cancer rat models. Supplementation of *Sterculia foetida* seed extract with VCO at concentrations of 5, 10, and 15% reduced the population of the bacteria *Bifidobacterium longum* which increased in a mouse model of colorectal cancer. *Sterculia foetida* seed extract supplementation with VCO has the potential as a colorectal anticancer that balances the composition of the microbiome and prevents inflammation of the colonic tissue

Keywords : *Sterculia foetida* seed extract, VCO, DNA Concentration, *Bifidobacterium longum*

Abstrak

Kanker kolorektal (CRC) merupakan permasalahan kesehatan global dengan insidensi dan mortalitas yang tinggi. Salah satu bahan alam yang berpotensi digunakan sebagai antikanker adalah ekstrak biji *Sterculia foetida* (*Sterculia foetida*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan Virgin Coconut Oil terhadap konsentrasi DNA *Bifidobacterium longum*. Ekstrak biji *Sterculia foetida* disiapkan dengan teknik maserasi menggunakan etanol sebagai pelarut. Ekstrak etanol biji *Sterculia foetida* dikombinasikan dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15%. Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 tikus wistar jantan, dibagi rata dalam 5 kelompok yaitu 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Tikus diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) pada dosis 40 mg/Kg berat tikus selama 2 minggu untuk memperoleh tikus model kanker kolorektal. Tikus kemudian ditreatmen dengan kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dan VCO sesuai kelompok perlakuan selama 5 minggu. DNA bakteri diisolasi dari feses, sebagai template reaksi PCR untuk analisis konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*. Data dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif dengan analisis statistika untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO terhadap konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*. Pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15% menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium longum* yang meningkat pada model tikus kanker kolorektal. Kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO berpotensi sebagai antikanker kolorektal yang menyeimbangkan populasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*.

Kata kunci : Ekstrak biji *Sterculia foetida*, VCO, Konsentrasi DNA, *Bifidobacterium longum*

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (CRC) merupakan permasalahan kesehatan global dengan insidensi dan mortalitas yang tinggi, terutama pada penyakit stadium lanjut (Oliveira et al., 2020). Lebih dari 1,9 juta kasus kanker kolorektal (CRC) terjadi pada tahun 2020, dan hampir 0,9 juta pasien meninggal karenanya di seluruh dunia (Roshandel et al., 2024). Pada penderita kanker kolorektal terjadi keganasan yang berasal dari jaringan usus besar (kolon dan atau rectum). Keganasan tersebut muncul karena adanya proliferasi sel yang tidak terkendali sebagai akibat perubahan pada jalur pathogenesis dan perubahan molekuler dalam tahap-tahap karsinogenesis penyakit (Guinney et al., 2015)

Dalam tata laksana kanker kolorektal, stadium penyakit menjadi faktor prognostik terpenting yang menentukan kelangsungan hidup pasien (Oliveira et al., 2020). Ketika pasien berada dalam stadium lanjut (dengan perkembangan metastasis), prognosinya sangat buruk dan kelangsungan hidup diperkirakan dalam beberapa bulan (Langan et al., 2013). Oleh karena itu, deteksi dini dan terapi yang sesuai untuk penderita kanker kolorektal dapat meningkatkan prognositis penyakit.

Kemoterapi adjuvan merupakan terapi standar untuk pasien kanker kolorektal, misalnya pemberian fluorourasil dan leucovorin. Penggunaan bahan-bahan tersebut sebagai antikanker menimbulkan berbagai efek samping pada pasien seperti mual muntah, mielosupresi, mukositis, alopesia, infertilitas dan karsinogenesis (André et al., 2004). Alternatif terapi dengan efek samping yang lebih rendah diperlukan misalnya dengan terapi berbasis bahan alam yang dapat bertindak sebagai agen antikanker.

Salah satu bahan alam yang berpotensi digunakan sebagai antikanker adalah ekstrak biji *Sterculia foetida*. Hasil uji kualitatif pada ekstrak etanol biji *Sterculia foetida* terdapat alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, dan tannin yang secara signifikan menunjukkan anti oksidan (Jafri et al., 2019). Flavonoid merupakan bioaktif dengan aktivitas antikanker yang tinggi. Flavonoid berpotensi sebagai agen antikanker sitotoksik yang mempromosikan apoptosis pada sel-sel kanker dan memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat menghambat perkembangan sel-sel kanker (Abotaleb et al., 2019). Flavonoid juga dapat berinteraksi dan mengatur protein seluler, faktor transkripsi, dan enzim pensinyalan pada tingkat molekuler yang memodulasi jalur transduksi sinyal pada

sel-sel kanker (Rodríguez-García et al., 2019).

Dalam penelitian ini, potensi ekstrak biji *Sterculia foetida* sebagai bahan antikanker dikombinasikan dengan VCO. Asam laurat pada VCO memiliki aktivitas antikanker dengan menginduksi apoptosis pada sel-sel kanker (Sheela et al., 2019). VCO juga berpotensi digunakan sebagai adjuvan alami pada kemoterapi dengan mereduksi respon pro-inflamasi dan stres oksidatif (Famurewa et al., 2018). Kombinasi antara ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO dapat memperkuat potensi antikanker yang terdapat pada masing-masing bahan. VCO dapat menstabilkan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak biji *Sterculia foetida* dan memudahkan pengadministrasian obat ketika diaplikasikan.

Potensi antikanker kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO dilihat melalui gambaran ekspresi gen bakteri *Bifidobacterium longum*, *Roseburia intestinalis*, dan *Faecalibacterium prausnitzii* pada tikus yang diinduksi kanker kolorektal. Ekspresi gen bakteri-bakteri tersebut dianalisis dengan real time PCR setelah tikus model kanker kolorektal diterapi dengan bahan uji. Bakteri yang menjadi target terapi merupakan anggota microbiome usus yang memiliki peran dalam kesehatan usus (Yao et al., 2021). Kanker kolorektal dapat memicu terjadinya ketidakseimbangan jumlah mikroorganisme dalam saluran pencernaan atau dysbiosis. Menurut beberapa penelitian praklinis, mikrobioma usus sangat memengaruhi karsinogenesis dan perkembangan usus. Kanker kolorektal tampaknya berhubungan dengan dysbiosis mikroba yang melibatkan spesies bakteri tertentu (Garvey, 2024). Analisis DNA *Bifidobacterium longum*, pada model tikus kolorektal setelah diterapi bahan uji penting untuk pengembangan terapi dan penanda penyakit kanker kolorektal berdasarkan pada komposisi mikrobiotik usus.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Material yang digunakan yaitu : etanol 96%, 1,2-dimethylhydrazine (DMH), DNA extraction mini kit (intron), dan kit Bioline-SensiFAST SYBR Lo ROX Mix. Equipment yang digunakan: Oven, Rotary Evaporator (Rotavapor BUCHI R.300), ABI-StepOne Real-Time PCR System, BioSafety Cabinet (Esco AC2-458), Microsentrifus (Eppendorf 5424 R), neraca analitik, Blender).

Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan 25 tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok control. Tikus yang digunakan memiliki kriteria sebagai berikut : tikus jantan, berumur 2-3 bulan, sehat dan beraktivitas normal, dan berat badan kurang 150-200 gram. Tikus dipelihara dengan kondisi pemeliharaan seperti jenis pakan, suhu lingkungan, dan penyinaran yang sesuai. Penggunaan tikus sebagai subjek penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik penelitian Kesehatan Poltekkes Denpasar berdasarkan surat persetujuan etik No. LB.02.03/EA/KEPK/0578/2022

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 %.

Metode

Preparasi Bahan Uji

Biji *Sterculia foetida* yang telah kering diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dengan 500 mL etanol 96% dan dimaserasi selama 3 hari. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi menggunakan evaporator pada suhu 40-60 °C sampai didapatkan ekstrak dari biji *Sterculia foetida*. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang dan digunakan sebagai bahan uji. Bahan uji berupa kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* pada konsentrasi 5, 10, 15 % dengan VCO sebagai pelarut

Induksi Tikus Model Kanker Kolorektal

Tikus wistar sebanyak 25 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kombinasi P1 (5 %), P2 (10 %), P3 (15 %) dan 2 kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif). Kelompok tikus kombinasi P1, P2, P3 dan kontrol positif diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) pada dosis 40 mg/Kg berat tikus selama 2 minggu untuk mencapai kondisi tikus dengan model kanker kolorektal. Kelompok kontrol negatif diberi diet standar

Pemberian Kombinasi Ekstrak Biji *Sterculia foetida* dengan VCO

Setelah diinduksi DMH, kelompok tikus P1, P2, dan P3 masing-masing diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 % tiga kali sehari @1.2 ml selama 5 minggu melalui sonde lambung. Kelompok tikus kontrol negatif dan kontrol positif diberi tambahan air tiga kali sehari @1.2 ml selama 5 minggu melalui prosedur yang sama. Selama perlakuan, semua kelompok tikus diberi diet standar per oral dan air per oral ad libitum.

Isolasi DNA Template

Setelah 5 minggu pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO, feses dari masing-masing tikus dikoleksi dan digunakan sebagai sumber isolasi DNA *Bifidobacterium longum*. DNA diisolasi sesuai prosedur dari kit i-genomic stool, DNA extraction mini kit (intron)

Amplikasi DNA *Bifidobacterium longum* dengan Teknik Real Time PCR

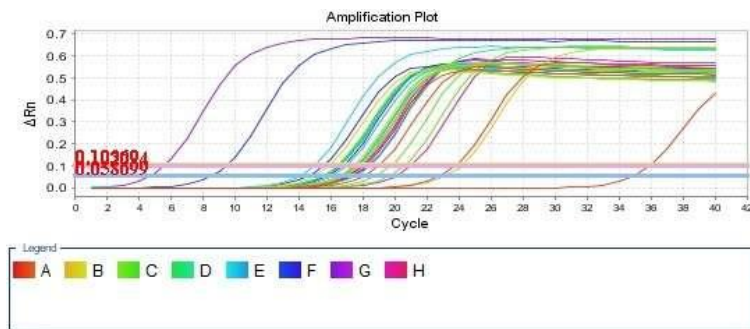
Setelah Reaksi qPCR gen bakteri *B. longum*, *Roseburia intestinalis*, dan *Faecalibacterium prausnitzii* dikerjakan dengan prosedur sesuai kit Bioline-SensiFAST SYBR Lo ROX Mix. Master mix untuk reaksi qPCR dibuat sebanyak 20 µL, yang mengandung 10 µL 2x SensiFAST SYBR Lo ROX Mix, 0.8 µL primer Forward 10 µM, 0.8 µL primer Reverse 10 µM, 4,4 µL H₂O dan 4 µL DNA template. Pasangan primer yang digunakan dalam reaksi qPCR masing-masing bakteri target memiliki sekuen sebagai berikut : PrimerForward 5'-CGGCGTTGTGACCGTTGAAGAC-3'; Reverse 5'-TGCTTCGCCGTCGACGTCCTCA-3'

Reaksi qPCR menggunakan mesin ABI-7500FAST PCR System, dengan pengaturan reaksi sebagai berikut : Polymerase activation pada suhu 95 °C, waktu 2 menit, siklus1; Denaturasi pada suhu 95 °C, waktu 5 s, siklus 40.

HASIL

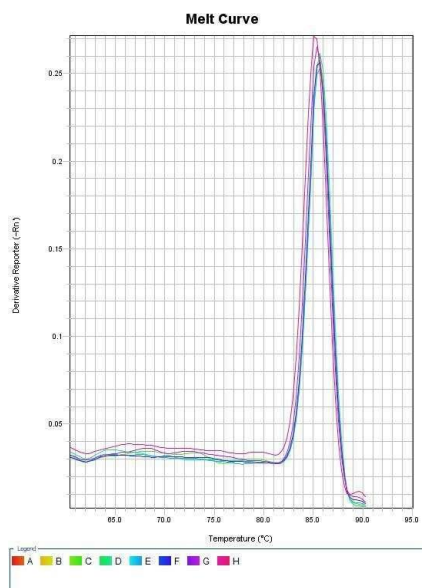
Hasil Amplifikasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* dengan teknik real time PCR

Hasil amplifikasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* dengan teknik qPCR menggunakan pasangan primers spesifik untuk masing-masing bakteri. Hasil amplifikasi DNA dari seluruh sampel ditunjukkan pada Gambar 1 di bawah ini :



Gambar 1. Hasil Amplifikasi DNA bakteri dengan metode qPCR

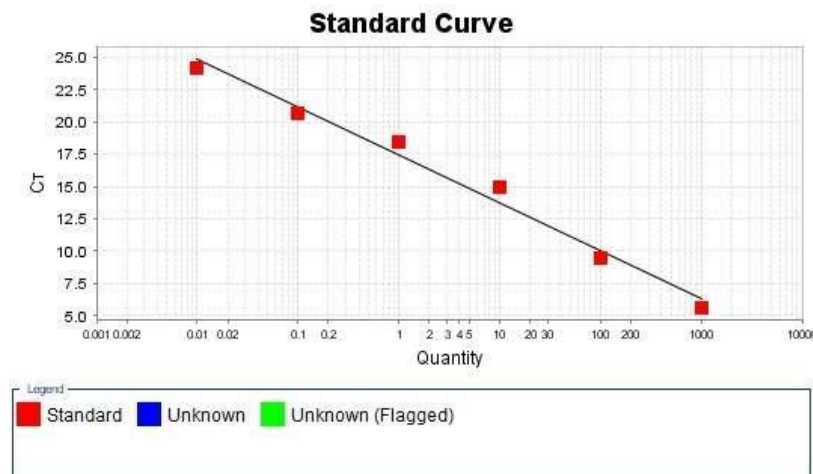
Spesifisitas reaksi real time PCR dianalisis dengan melt curve. Spesifisitas reaksi ditunjukkan pada Gambar 2 di bawah ini :



Gambar 2. Hasil analisis melt curve dari reaksi qPCR

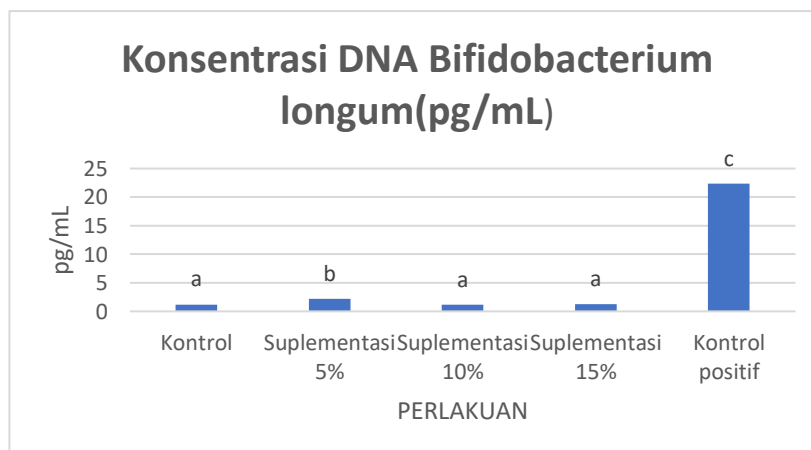
Analisis Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*

Dalam analisis ini, dibuat kurva standar untuk mendapatkan persamaan yang digunakan untuk menghitung konsentrasi DNA sampel. Berdasarkan hasil analisis didapatkan kurva standar reaksi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 di bawah ini :



Gambar 3. Kurva Standar reaksi real time PCR

Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* setelah tikus diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi ditunjukkan pada Gambar 4 di bawah ini :



Gambar 4. Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* setelah pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO

Berdasarkan Gambar 4 di atas, konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* pada tikus yang diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi rata-rata lebih rendah dibandingkan kelompok tikus kontrol positif. Hasil uji oneway anova menunjukkan terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan ($P < 0.05$). Pada semua kelompok uji, tikus yang diberi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol positif ($P < 0.05$). Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO secara signifikan mampu menurunkan komposisi bakteri *Bifidobacterium longum* yang mengalami kenaikan setelah

diinduksi bahan penyebab kanker kolorektal.

DISKUSI

Kurva berbentuk sigmoid pada plot amplifikasi (Gambar 1) menunjukkan bahwa DNA bakteri *Bifidobacterium longum* berhasil diamplifikasi. Terbentuknya kurva sigmoid menggambarkan adanya kenaikan intensitas fluoresensi. Semakin banyak produk amplifikasi yang dihasilkan, semakin besar akumulasi fluoresen yang terbaca (Kralik & Ricchi, 2017). Peningkatan intensitas fluoresensi yang terjadi pada awal-awal siklus reaksi proporsional dengan jumlah produk yang dihasilkan. Reaksi qPCR untuk bakteri target berlangsung secara spesifik, ditunjukkan dengan terbentuknya satu puncak (single peak) dengan nilai t_m 85 °C pada kurva melting (Gambar 2). Nilai T_m menunjukkan temperatur saat 50 % dsDNA berdisosiasi menjadi ssDNA. Analisis hasil amplifikasi dengan kurva melting bertujuan untuk mengevaluasi spesifisitas dari reaksi qPCR (Downey, 2014).

Hasil analisis DNA bakteri *Bifidobacterium longum* mengindikasikan bahwa induksi tikus dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) meningkatkan populasi bakteri. Konsentrasi DNA bakteri yang meningkat pada kelompok tikus kontrol positif menunjukkan peningkatan populasi bakteri setelah tikus diinduksi dengan DMH pada dosis 40 mg/Kg berat tikus. DMH merupakan agen kuat alkilasi DNA yang banyak digunakan sebagai karsinogen untuk menginduksi kanker usus besar pada model hewan. Tikus yang diinduksi DMH akan mengembangkan karsinogenesis. DMH yang mencapai usus besar akan menghasilkan karsinogen utama yang selanjutnya mengalkilasi DNA. Proses ini yang menandai dimulainya karsinogenesis usus besar (Venkatachalam et al., 2020).

Peningkatan populasi bakteri di usus besar menunjukkan adanya ketidakseimbangan microbioma usus atau dysbiosis. Berbagai studi telah menunjukkan hubungan antara kanker kolorektal dengan dysbiosis. Dalam keadaan disbiosis, ketidakseimbangan bakteri penyusun usus dapat meningkatkan fungsi yang terkait dengan kanker seperti angiogenesis, hilangnya apoptosis, dan proliferasi sel (Artemev et al., 2022). Disbiosis mikrobiota usus mengakibatkan ketidakseimbangan homeostasis mikroba, sedangkan mikrobiota tertentu memicu perkembangan kanker kolorektal (CRC) dan mempercepat perkembangannya melalui berbagai jalur, seperti memicu respons inflamasi, menyebabkan

kerusakan DNA, dan/atau mendorong proliferasi sel (Fan et al., 2021).

Mikrobioma usus memainkan peran penting dalam perkembangan kanker kolorektal (CRC). Microbiome terlibat dalam karsinogenesis, pembentukan dan perkembangan CRC serta responsnya terhadap terapi sistemik. Komposisi strain bakteri penyusun mikrobioma, jenis kelamin, ras, dan pola makan dapat berfungsi sebagai informasi penting untuk skrining, deteksi dini, dan prediksi hasil pengobatan CRC (Rebersek, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa treatment tikus model kanker kolorektal dengan kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO mampu menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium longum* yang meningkat setelah tikus diinduksi DMH. Hasil ini mengindikasikan potensi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO sebagai agen antikanker yang memelihara atau mengembalikan keseimbangan mikroba usus. Ekstrak biji *Sterculia foetida* mengandung 35 fitokimia aktif dan metabolit sekunder, alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, terpenoid, dan tanin, yang menunjukkan anti-mikroba dan secara signifikan berpotensi sebagai anti oksidan (Jafri et al., 2019). Pada VCO terdapat asam laurat yang dapat menghambat viabilitas sel kanker, mentrigger produksi ROS dan fosforilasi EGFR, ERK, dan c-Jun, dan mengubah ekspresi gen. Asam laurat menginduksi antiproliferasi dan respons pro-apoptosis pada kanker payudara (Lappano et al., 2017).

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak biji kepuh dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 % menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium* yang meningkat pada model tikus kanker kolorektal, sehingga berpotensi sebagai antikanker kolorektal yang menyeimbangkan komposisi mikroba usus.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah mendanai penelitian ini berdasarkan SK Direktur No HK.02.03/P3M/2338/2022 tanggal 10 Mei 2022

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidaknya terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/cancers11010028>
- André, T., Boni, C., Mounedji-Boudiaf, L., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., Topham, C., Zaninelli, M., Clingan, P., Bridgewater, J., & Tabah-Fisch, I. (2004). Oxaliplatin, fluorouracil and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *The New England Journal of Medicine*, 350, 2343-2351. <https://doi.org/10.1007/s11725-011-0275-8>
- Artemev, A., Naik, S., Pougno, A., Honnavar, P., & Shanbhag, N. M. (2022). The Association of Microbiome Dysbiosis With Colorectal Cancer. *Cureus*, 14(2). <https://doi.org/10.7759/cureus.22156>
- Downey, N. (2014). Explaining multiple peaks in qPCR melt curve analysis. Integrated DNA Technologies, Inc. <https://sg.idtdna.com/pages/education/decoded/article/interpreting-melt-curves-an-indicator-not-a-diagnosis>
- Famurewa, A. C., Folawiyo, A. M., Enohnyaket, E. B., Azubuike-Osu, S. O., Abi, I., Obaje, S. G., & Famurewa, O. A. (2018). Beneficial role of virgin coconut oil supplementation against acute methotrexate chemotherapy-induced oxidative toxicity and inflammation in rats. *Integrative Medicine Research*, 7(3), 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2018.05.001>
- Fan, X., Jin, Y., Chen, G., Ma, X., & Zhang, L. (2021). Gut Microbiota Dysbiosis Drives the Development of Colorectal Cancer. *Digestion*, 102(4), 508-515. <https://doi.org/10.1159/000508328>
- Garvey, M. (2024). Intestinal Dysbiosis : Microbial Imbalance Impacts on Colorectal Cancer Initiation , Progression and Disease Mitigation. 1-14.
- Guinney, J., Dienstmann, R., & Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine*, 21, 1350-1356.
- Jafri, A., Bano, S., & Khan, F. (2019). Phytochemical screening of *Sterculia foetida* seed extract for anti-oxidant , anti-microbial activity , and detection of apoptosis through reactive oxygen Phytochemical screening of *Sterculia foetida* seed extract for anti-oxidant , anti- microbial activity. April. <https://doi.org/10.1080/01478885.2019.1592832>
- Kralik, P., & Ricchi, M. (2017). A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: Definitions, parameters, and everything. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108>

- Langan, R. C., Mullinax, J. E., Raiji, M. T., Upham, T., Summers, T., Stojadinovic, A., & Avital, I. (2013). Colorectal cancer biomarkers and the potential role of cancer stem cells. *Journal of Cancer*, 4(3), 241-250. <https://doi.org/10.7150/jca.5832>
- Lappano, R., Sebastiani, A., Cirillo, F., Rigracciolo, D. C., Galli, G. R., Curcio, R., Malaguarnera, R., Belfiore, A., Cappello, A. R., & Maggiolini, M. (2017). The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discovery*, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.63>
- Maioli, T. U., Borrás-Nogues, E., Torres, L., Barbosa, S. C., Martins, V. D., Langella, P., Azevedo, V. A., & Chatel, J. M. (2021). Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 12(December), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.740636>
- Nie, K., Ma, K., Luo, W., Shen, Z., Yang, Z., Xiao, M., Tong, T., Yang, Y., & Wang, X. (2021). *Roseburia intestinalis*: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(November), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.757718>
- Oliveira, R. C., Abrantes, A. M., Tralhão, J. G., & Botelho, M. F. (2020). The role of mouse models in colorectal cancer research—The need and the importance of the orthotopic models. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(1), 1-8. <https://doi.org/10.1002/ame2.12102>
- Rebersek, M. (2021). Gut microbiome and its role in colorectal cancer. *BMC Cancer*, 21(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-09054-2>
- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C., Gaforio, J. J., & Gaforio, J. J. (2019). Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: An updated review of human studies. *Antioxidants*, 8(5), 1-23. <https://doi.org/10.3390/antiox8050137>
- Roshandel, G., Ghasemi-Kebria, F., & Malekzadeh, R. (2024). Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers*, 16(1350).
- Sheela, D., Narayanankutty, A., Nazeem, P., & Raghavamenon, A. (2019). Lauric acid induce cell death in colon cancer cells mediated by the epidermal growth factor receptor downregulation: An in silico and in vitro study. *Human & Experimental Toxicology*, 38(7), 753-761.
- Venkatachalam, K., Vinayagam, R., Anand, M. A. V., Isa, N. M., & Ponnaiyan, R. (2020). Biochemical and molecular aspects of 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon carcinogenesis: A review. *Toxicology Research*, 9(1), 2-18. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa004>
- Yao, S., Zhao, Z., Wang, W., & Liu, X. (2021). *Bifidobacterium Longum*: Protection against Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8030297>