

PENGARUH EKSTRAK *ANNONA MURICATA* LINN TERHADAP SEL LIMFOSIT DAN EKSPRESI COX-2 PADA ADENOKARSINOMA MAMMA

Rusmiyati *) Sarjadi **) Andrew Johan **)

*)STIKES Telogorejo Semarang

**)Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

ABSTRAK

Adenokarsinoma mamma/ kanker payudara merupakan salah satu keganasan tersering pada wanita dan merupakan penyebab kematian terbanyak kelima akibat kanker. Siklooksigenase -2 (COX-2) adalah enzim yang sangat penting dalam jalur metabolisme asam arachinoid. COX-2 dapat terekspresi didalam berbagai jaringan karena adanya induksi oleh sitokin proinflamasi. Beberapa studi menunjukkan bahwa kandungan pada daun sirsak efektif melawan, menargetkan dan membunuh sel –sel yang tumbuh abnormal seperti sel kanker. Senyawa ini tidak menyerang sel yang normal, berbeda dengan kemoterapi yang masih menyerang sebagian sel normal.

Kata kunci: Ekstrak *Annona muricata* linn , adenokarsinoma mamma / kanker payudara, Ekspresi COX-2, Infiltrasi sel limfosit.

ABSTRACT

Adenocarcinoma mamma / Breast cancer is the most common one malignancy in woman and is the fifth highest cause of death from cancer. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is a very important enzyme in the metabolic pathway arachinoid acid. COX-2 can be expressed in various tissues due to induction by proinflammatory cytokines. Some studies indicate that the content of compounds effective against soursop leaf, targeting , and killing cells, - cells that grow abnormally as cancer cells. These compounds do not attack normal cells, unlike chemotherapy that still hit most normal cells. Proving *Annona muricata* Linn effect on COX-2 expression and cell infiltration lymphosit and analyze the relationship between COX-2 expression and inflammatory cell infiltration (cells Lymphosit). This study is an experimental research laboratory with a “post-test only control group design”. This study was conducted in C3H mice that had happened breast cancer were randomly divided into 2 groups : control group (C) and treatment (P). Each – each group is the given treatment for 3 weeks, and extract with a micro pipette. Dose of 1 mg / day. Semiquantitative scoring (2007), whereas Inflammatory cell infiltration was observed preparations hematoxylin eosin (HE) , caunted the number of lymphocytes. Analysis using SPSS. Values are considered significant if $p < 0.05$ with 95 % confidence intervals. Statistical analysis by t test expression of COX-2 showed significant differences in the treatment group compared to the control because the p value = 0,014. Because $0,014 < 0,05$. Similarly to Lymphosit t with p value of 0,000. Because $0,000 < 0,05$ then H_0 is rejected, or the infiltration of inflammatory cells there is a relationship (correlation) between lymphosit cell infiltration with expression of COX-2. Pearson correlation test showed a strong and significant between cell infiltration lymphosit with COX-2 expression ($r = 0,013$, $p < 0,05$).

Key words: Extracts of *Annona Muricata* Linn, Adenocarcinoma mamma / Breast cancer, Expression of COX-2, cell infiltration lymphosit.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan masalah kesehatan global yang mengancam penduduk dunia tanpa memandang ras, gender, ataupun status sosial ekonomi tertentu. Pada tahun 2005, Badan Kesehatan Dunia (WHO) bahkan telah terjadi 7,6 juta kematian di seluruh dunia akibat kanker. 5,6% diantaranya terjadi dinegara berkembang dan 2,5 % di negara maju. Pada tahun 2015 diperkirakan naik menjadi 9,1 %. Sebanyak 6,7 % diantaranya terjadi dinegara berkembang angkanya akan naik menjadi 8,9 % dan negara maju 2,5 %. Yang artinya kenaikan kasus kanker dinegara – negara berkembang jauh lebih cepat dan tinggi dibanding negara – negara maju. Kanker pun merupakan salah satu obyek investigasi terbesar dalam dunia kedokteran. Jutaan penelitian dan kajian ilmiah telah dilakukan. Diantara banyaknya jenis kanker yang bisa menyerang manusia, kanker payudara termasuk yang paling sering terjadi.

Kanker payudara adalah jenis kanker yang paling banyak menyerang kaum wanita di seluruh dunia, meskipun dapat pula menyerang pria. Khusus di Indonesia, kanker payudara disebut – sebut ada di posisi kedua sebagai kanker yang paling banyak menyerang wanita. Namun, beberapa ahli menyatakan bahwa insidensi kanker payudara cenderung terus meningkat dan diperkirakan akan menjadi kasus kanker paling banyak di Indonesia.¹

Kanker, Fakta *International Agency For Research on Cancer*, salah satu lembaga di bawah badan kesehatan dunia, penderita kanker di dunia mencapai 12,7 juta pada tahun 2008 dan mengakibatkan kematian 7,6 juta penderita. Pada tahun 2030, diperkirakan akan ada 21,4 juta kasus kanker baru dengan 13,2 juta kematian. Sebagian besar kasus kanker tersebut terjadi di negara – negara berkembang, termasuk Indonesia.²

Tahun 2010 dan Globocan tahun 2008 menunjukkan bahwa perempuan Indonesia yang terkena kanker, jumlahnya cukup memprihatinkan. Kanker payudara terpapar sebanyak 8,227 kasus atau 16,85% dan kasus kanker serviks 5,786 kasus atau 11,78 %. Ini

artinya bahwa kualitas kesehatan perempuan masih menjadi permasalahan serius. Kanker payudara merupakan kanker yang terjadi pada jaringan payudara. Adalah kanker yang berkembang di payudara. Badan Kesehatan Dunia atau WHO tahun memprediksi di seluruh dunia dalam 15 – 20 tahun lagi beberapa jenis kanker akan mengalami peningkatan 2 kali lipat dari sekarang.³

Di Amerika Serikat kanker payudara menempati prevalensi tertinggi penyebab kanker pada wanita. Tahun 2007 diperkirakan 40.910 penderita meninggal oleh karena kanker payudara 1 dari 8 wanita di Amerika menderita kanker payudara dan 1 dari 33 wanita meninggal oleh karena kanker payudara.⁴ Di Jawa Tengah pada tahun 2005, kasus kanker payudara sebanyak 3884 kasus (36,83%) dari keseluruhan kasus kanker ganas dan menempati urutan kedua setelah kanker serviks uteri. Hasil survei kesehatan rumah tangga (SKRT) Departemen Kesehatan Republik tahun 2001 kanker payudara menunjukkan kecenderungan kematian yang meningkat.⁵

Inflamasi merupakan respons fisiologis terhadap rangsangan seperti infeksi dan cedera jaringan. Inflamasi dapat lokal, sistemik, akut dan kronis yang menimbulkan kelainan patologis.⁶

Inflamasi dapat didefinisikan sebagai reaksi kompleks jaringan terovaskularisasi terhadap infeksi, paparan toksin atau kerusakan sel, yang melibatkan akumulasi ekstrasvaskuler dari protein plasma dan leukosit. Inflamasi akut merupakan akibat umum dari respons imun bawaan sedangkan respon lokal sistem imun didapat meningkatkan inflamasi selama respons imun berlangsung. Sel – sel tubuh dapat menjadi rusak oleh sel efektor dan molekul yang berperan dalam mekanisme imunologis. Pada inflamasi terjadi peningkatan aliran darah karena adanya vasodilatasi pada tempat terjadinya infeksi atau kerusakan jaringan pembuluh kapiler sehingga molekul besar dan leukosit dapat keluar dari pembuluh darah dan masuk ke jaringan. Pentingnya inflamasi sebagai penyebab keadaan patologis tidak terbatas pada penyakit infeksi, alergi dan autoimun. Inflamasi makin

lama makin dikaitkan ke penyakit kronis seperti kanker.⁷

Sel inflamasi yang paling berperan sebagai prediktor untuk survival adalah makrofag dan limfosit. Ada sejenis sitokin lain akhir – akhir ini banyak menarik perhatian dalam kaitannya dengan inflamasi sistemik yaitu macrophage migration inhibitory faktor (MIF). Merupakan sitokin yang dieksresikan oleh sel – sel imun dan kelenjar hipofisis anterior. Sel T merupakan sumber utama dari MIF, walaupun demikian MIF dapat juga diproduksi oleh sel – sel sistem imun yang lain yang terlibat dalam respons inflamasi. Disamping itu ACTH yang diproduksi sebagai respons terhadap stres merangsang sel – sel sistem imun untuk melepaskan MIF. MIF menginduksi produksi sitokin pro inflamasi seperti IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8 disamping substansi lain seperti COX-2, NO dan produk jalur asam arachinoid.⁷ Inflamasi kronik dapat bermula dari inflamasi akut bila agen perusak menetap, tetapi yang lebih sering terjadi adalah respons inflamasi kronik.

Berbeda dengan perubahan atau kerusakan vaskuler luas dan infiltrasi neutrofil yang tampak pada inflamasi akut, inflamasi kronik menunjukkan ciri – ciri infiltrasi jaringan dengan sel – sel mononuklear seperti makrofag, limfosit dan sel plasma disertai dengan destruksi jaringan. Makrofag merupakan respons inflamasi kronik hal ini disebabkan oleh banyaknya produk bioaktif atau mediator yang dilepaskannya. Mediator – mediator ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang sangat kuat terhadap invasi benda asing dan kerusakan jaringan. Yang meragukan adalah bahwa aktivasi makrofag secara terus menerus dapat berakibat kerusakan jaringan berkelanjutan. Pada suatu penelitian dapat dibuktikan bahwa konsekuensi inflamasi kronik berbeda – beda dalam berbagai organ sistem imun sekunder. Dalam limpa, pembuluh darah perifer dan sumsum tulang terjadi immunosupresi yang menginduksi penekanan ekspresi rantai δ dari reseptor sel T yang berakibat disfungsi sel T. Tetapi dalam kelenjar getah bening ekspresi rantai α dan fungsi sel T tetap normal, sehingga disimpulkan bahwa dampak lingkungan immunosupresi pada sel T sangat tergantung pada

organ dimana sel itu berada. Proses inflamasi yang berkelanjutan mengakibatkan destruksi sel secara bertahap, diikuti dengan pelepasan asam arachidonik yang kemudian dikonversikan oleh cyclooxygenase (COX-2) menjadi prostaglandin.

Prostaglandin merupakan senyawa vasokonstriktif yang potent. Di samping itu COX-2 dan prostaglandin merupakan mediator proses inflamasi kronik yang penting, dan dalam suatu penelitian telah dibuktikan bahwa inflamasi kronik yang dimediasi oleh COX-2 merupakan fenomena sentral pada pasien diabetes tipe-1. Hubungan antara inflamasi dengan kanker pertama kali dikemukakan oleh Virchow pada tahun 1863 dengan memperlihatkan banyaknya leukosit dalam jaringan tumor.⁷

Enzim COX-2 adalah enzim yang berperan penting dalam jalur metabolisme asam arachinoid. COX-2 umumnya tidak terdeteksi pada jaringan normal, namun terinduksi didalam sel seperti makrofag, sel – sel endotelial, dan sel – sel epitelium intestinal oleh agen mitogenik dan stimulus inflamasi. COX-2 terekspresi didalam berbagai jaringan tubuh karena adanya induksi oleh sitokin proinflamasi, seperti IL-1 α , IL-1 β , TNF – δ dan meningkat pada area inflamasi.⁸

Penanganan kanker payudara tergantung pada usia pasien, jenis dan tingkat penyebarannya. Terapi yang dilakukan untuk mengobati kanker payudara adalah dengan pembedahan merupakan tindakan yang tepat, dokter akan mengangkat benjolan serta area kecil disekitarnya, radiasi dilakukan dengan menyinari daerah yang terkena kanker dengan menggunakan sinar X sinar gamma untuk membunuh sel kanker yang masih tersisa setelah operasi, terapi hormon, terapi ini dikenal dengan terapi anti estrogen, yang bertujuan untuk menghalangi hormon estrogen menstimulus perkembangan kanker payudara, kemoterapi yang dilakukan dengan memberikan obat – obatan antikanker, bisa berbentuk tablet, kapsul atau infus. Jenis terapi ini umumnya membuat pasien mengalami mual muntah serta rambut rontok. Terapi pendamping yang disarankan

umumnya adalah penggunaan senyawa yang dapat mengurangi efek dari faktor – faktor pertumbuhan yang dapat merangsang tumbuhnya kanker secara cepat. Terapi yang bertujuan meningkatkan respon imun terhadap kanker juga mulai banyak diujikan dalam penelitian klinis. Salah satu komponen yang memiliki peluang besar digunakan dalam teraapi kanker adalah tanaman obat.

Sirsak (*Annona Muricata Linn*) merupakan salah satu tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan, Buah sirsak rasanya manis agak asam sehingga sering dipakai sebagai bahan jus buah. Daging buahnya kaya akan serat. Setiap 100 g buah yang dapat dimakan mengandung 3.3 g serat sehingga dapat memenuhi 13% kebutuhan serat per hari. Selain itu, daging buahnya mengandung banyak karbohidrat (terutama fruktosa), vitamin C (20 mg/100 g), B1 dan B2.

Graviola (Brazil), Guanabana (Spanyol), Soursop (Inggris), Amerika Selatan (*Annona Muricata Linn*) Hasil riset Dr Jerry McLaughlin dari Universitas Purdue, Amerika Serikat, menemukan daun sirsak mengandung senyawa acetogenins yang terdiri Annomuricin E yang bersifat sitotoksik atau membunuh kanker. Dari hasil riset memiliki dosis efektif $6,68 \times 10^{-2}$ terhadap sel uji kanker termasuk HT-29 atau kanker kolon. Uji praklinis membuktikan bahwa acetogenins dalam sirsak menghambat adenosin trifosfat (ATP), ATP merupakan sumber energi yang ada didalam tubuh. dan untuk berkembang sel kanker membutuhkan banyak energy, karena itu acetogenins masuk dan menempel di reseptor dinding sel dan merusak ATP di dinding mitokondria. Akibat penghambatan itu maka sel kanker kekurangan pasokan energi sehingga sel kanker mati. Kelebihannya lagi. Acetogenins sangat selektif, hanya menyerang sel kanker yang memiliki kelebihan ATP, sel – sel lain yang normal dalam tubuh tidak diserang. Hasil riset Prof. Soelaksono Sastrodiharjo dari institut teknologi Bandung melaporkan daun sirsak mengandung annomuricin E, senyawa kelompok acetogenins. Dari 14 jenis acetogenins, 13 diantaranya berpotensi menghambat *Multi – Drug Resistance* (MDR) pada sel kanker payudara.

Acetogenins bekerja dengan cara menghambat kinerja pembentukan ATP– energi- oleh mitokondria pada sel kanker. Menurut dr. Hardhi Pranata SpS MARS acetogenins dalam daun sirsak mampu mengendalikan mitokondria yang overacting. Mitokondria merupakan organ sel penghasil energi berupa ATP yang banyak dibutuhkan sel kanker untuk berkembang. Jika mitokondria normal maka pertumbuhan sel kanker dapat terkendali. Acetogenins masuk dan menempel di reseptor dinding sel dan merusak ATP di dinding mitokondria. Sehingga produksi energi di dalam sel kanker berhenti dan akhirnya sel kanker mati. Yang lebih hebatnya lagi acetogenins sangat selektif, hanya menyerang sel – sel lain yang normal didalam tubuh. Acetogenins mengganggu peredaran sel kanker dengan cara mengurangi jumlah ATP.⁹

Oleh karena itu penelitian-penelitian yang dikembangkan saat ini lebih banyak menggunakan zat-zat yang berasal dari bahan alam atau *phytochemical*, yaitu salah satunya menggunakan *Annona muricata* atau sirsak. Tanaman ini mudah ditemukan di Indonesia dan masyarakat kita pun telah menggunakannya sebagai pengobatan alternatif kanker dengan cara meminum rebusan daunnya.¹⁰ Beberapa literatur menyebutkan bahwa *Annona muricata* memiliki aktivitas antikanker. Zat aktif dalam tanaman ini yang berkhasiat sebagai anti kanker adalah *Annonaceous acetogenins*.^{11,12,13}

Acetogenins merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau NADH dehidrogenase yang dapat mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker.^{12,13,14} Mekanisme inhibisi tersebut juga dapat memicu terjadinya aktivasi jalur apoptosis serta mengaktifkan p53 (tumor supressor genes) yang dapat mengentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi tak terkendali.^{15,16} Akan tetapi, penelitian mengenai kemampuan daun *Annona muricata* dalam menghambat karsinogenesis masih sangat terbatas.

Hal ini patut disayangkan karena selain Acetogenins, daun *Annona muricata* juga mengandung berbagai macam senyawa kimia

lainnya seperti alkaloid, asam lemak, minyak esensial, flavonoid, saponin, triterpenoid, fitosterol, dan senyawa polifenol yang kemungkinan besar juga memiliki efek antikarsinogenesis.^{17,18} Selain itu *Annona muricata* juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, meskipun bukan antioksidan kuat.

Pada penelitian Megasari Sitorus, 2012, didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun sirsak menurunkan ekspresi Ki-67. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan tumor pada dosis 2 mg/kgBB dan 4 mg / kgBB / oral / hari pada tikus.¹⁹

Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian Pengaruh Ekstrak *Annona Muricata Linn* (daun sirsak) terhadap Sel Inflamasi dan COX-2 (studi *in vivo* pada Adenokarsinoma mamma mencit C3H). Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian besar yang bertujuan mengetahui pengaruh dari ekstrak *Annona Muricata Linn* sebagai anti kanker, khususnya pada kanker payudara. Variabel yang akan diteliti adalah Sel Inflamasi, ekspresi COX-2. Penelitian ini berkaitan dengan dua variabel tersebut sehingga variabel yang lain akan diteliti oleh peneliti yang lain.

HASIL

Hasil analisis statistik dengan uji t ekspresi COX-2 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol karena nilai p value = 0,014 karena $0,014 < 0,05$. Demikian juga untuk limfosit dengan p value 0,000. Karena $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak. Pada Uji Pearson diketahui nilai p value = $0,013 < 0,05$ maka H_0 ditolak, atau infiltrasi sel inflamasi ada hubungan (korelasi) antara infiltrasi sel limfosit dengan ekspresi COX-2. Uji korelasi Pearson memperlihatkan kuat dan bermakna antara infiltrasi sel limfosit dengan Ekspresi COX-2 ($r=0,013$, $p<0,05$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di unit pengembangan Terpadu Unit IV Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan percobaan, dilaboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta untuk pembuatan preparat imunohistokimia, di laboratorium Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran UGM dan Laboratorium Patologi Anatomi RSI Sultan Agung Semarang oleh 2 orang dokter spesialis Patologi Anatomi. Sampel penelitian adalah mencit C#H berusia 2-3 bulan dengan berat 20 – 30 gram. Sampel yang digunakan sebanyak 12 ekor. Ke 12 mencit tersebut dibuat kanker payudara dengan cara dinokulasi bubur tumor dari mencit donor. Dalam jangka waktu 3 minggu ke-12 mencit sudah nampak tumbuh kanker, selanjutnya mencit yang berjumlah 12 ekor dibagi menjadi 2 kelompok secara acak.

Kelompok I adalah kelompok mencit C3H sebanyak 6 ekor yang menderita adenokarsinoma mamma yang tidak diberi ekstrak *Annona muricata linn*, untuk selanjutnya akan disebut kelompok K, dan kelompok II adalah kelompok mencit C3H sebanyak 6 ekor yang menderita adenokarsinoma mamma yang diberi ekstrak *Annona muricata linn*, untuk selanjutnya akan disebut kelompok p. Pada kelompok perlakuan di beri ekstrak daun sirsak sebanyak 1 mg / hari melalui sonde lambung selama 3 minggu. Setelah pemberian ekstrak daun sirsak selesai selama 3 minggu, kemudian mencit diterminasi diambil tumornya dan diletakkan dalam botol yang berisi cairan Alkohol 90 % sebanyak 12 botol sesuai dengan jumlah tumor dari mencit yang ada. Masing – masing botol diberi label agar tidak tertukar antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Hasil penghitungan jumlah sel limfosit yang terdapat di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma yang telah diproses dengan pewarnaan hemtoksilin eosin diamati dengan mikroskop dengan pembesaran 400 x. Pengamatan preparat sel inflamasi yang dihitung dalam penelitian ini adalah jumlah sel limfosit, penghitungan dilakukan dengan mikroskop pada pembesaran 400 x.

Hasil analisis deskriptif jumlah sel limfosit terlihat bahwa median untuk kelompok kontrol (K) adalah 74,50 sedangkan median kelompok perlakuan adalah 60,50. Jumlah Median sel limfosit pada adenokarsinoma mamma pada kelompok perlakuan lebih rendah jika dibandingkan dengan Median sel limfosit pada adenokarsinoma mamma pada kelompok kontrol.

Hasil Uji Shapiro-Wilk pada kelompok kontrol didapat nilai $p = 0,484$, sedangkan pada kelompok perlakuan nilai $p = 0,264$. Karena pada kedua kelompok tersebut nilai $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa data kelompok kontrol dan perlakuan berdistribusi secara normal. Setelah diketahui bahwa data terdistribusi normal, maka didalam menentukan ada tidaknya pengaruh ekstrak *Annona Muricata Linn* terdapat infiltrasi sel inflamasi (Limfosit), uji statistik yang peneliti gunakan adalah uji t. Dari hasil uji t terlihat rata – rata jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol sebesar 0,000 sedangkan pada kelompok perlakuan 0,000 untuk limfosit t hitung dengan equal varianses not assumed adalah 9,957 dengan p value 0,000. Karena $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak sehingga rata – rata limfosit kontrol benar – benar berbeda dengan rata – rata limfosit perlakuan.

Hasil Penghitungan Analisis Ekspresi COX-2 diamati dari preparat imunohistokimia jaringan adenokarsinoma yang meliputi intensitas warna

dan luasan warna sel yang terwarna. Hasil analisis deskriptif pemeriksaan ekspresi COX-2 kontrol mempunyai median yang lebih tinggi dan Ekspresi COX-2 perlakuan, atau titik tengah Ekspresi COX-2 kontrol lebih besar dari titik tengah Ekspresi COX-2 perlakuan. Sehingga hasilnya menunjukkan bahwa ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan pada kelompok perlakuan. Median untuk kelompok kontrol adalah 3,00 yang berarti ekspresi kuat, sedangkan median untuk kelompok perlakuan adalah 1,00 yang berarti ekspresinya lemah. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan ekspresi COX-2 antara kedua kelompok, dilakukan uji Independent Sampel test dan diperoleh nilai $p = 0,14$. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok.

Hasil analisis dengan uji korelasi Pearson diperoleh nilai koefisien korelasi Pearson 0,689, angka ini menunjukkan hubungan yang kuat antara jumlah limfosit dan ekspresi COX-2. Hubungan keduanya bersifat negatif, artinya jika nilai ekspresi COX-2 naik maka infiltrasi sel limfosit akan turun, begitu juga sebaliknya. Sedangkan nilai nilai signifikansi sebesar 0,013 lebih kecil dari 0,05 menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara ekspresi COX-2 dengan infiltrasi jumlah sel limfosit. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa secara statistik dengan menurunnya infiltrasi jumlah sel limfosit berkaitan erat dengan peningkatan ekspresi COX-2.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak *annona muricata linn* dengan dosis 1 mg/ hari dapat menurunkan ekspresi COX-2 dan juga dapat meningkatkan infiltrasi jumlah limfosit.

SARAN

Untuk menyempurnakan konsep pemikiran pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap efek toksik secara histologis pada organ – organ lain. Sehingga penelitian tersebut akan menjadi landasan untuk kemungkinannya dilakukan pengujian klinis pada manusia. Hal ini sangat diperlukan karena semakin banyaknya produk herbal *Annona Nuricata* di pasaran, perlu dianalisis hubungan antara infiltrasi sel limfosit, ekspresi COX-2 dengan variabel lain misal IL-1 α , IL-2 β , MMP, Bax, Apoptosis, dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek samping ekstrak daun sirsak sebelum digunakan ke manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Allender, Judith Ann, & Spradley, Barbara Walton.(2005). *Community Health Nursing: Concepts and Practice*. 7th edition. Philadelphia : Lippincott.
- International Agency for Research on cancer. World Cancer Report. June 2003. <http://www.iarc.fr/en/publications/PDFs-online/word-cancer-report> retrived 2009-03-26.
- “Fact sheet No. 297 : Cancer. World Health Organization February 200. <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs297/en/indexhtml> retrieved 2009-03-26.
- Andrianto P. (2006). *Diare Akut*. Jakarta: EGC.
- Ariawan, I. (1998). *Besar dan Metode Sampel Pada Penelitian Kesehatan Jurusan Biostatistik dan Kependudukan*. Fakultas Ilmu Kesehatan Masyarakat: Universitas Indonesia.
- Arikunto S. (2006). *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*, cetakan ketigabelas. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Badan penelitian dan pengembangan Kesehatan. (2002). *Survei Kesehatan Rumah tangga 2001, Laporan Studi mortalitas 2001: Pola Penyebab Kematian di Indonesia*. Departemen Kesehatan RI.
- Buletin Jendela dan Data Informasi. (2011). *Situasi Diare di Indonesia*. Triwulan II.
- ISSN 2088-270X. Kementerian Kesehatan RI.
- Baltazar. (1993). Hygiene Behaviour and Hospitalized Severe Childhood Diarrhoe. Bulletin of WHO.
- Creswell, J. W. (2009). *Research Design : Qualitative, Quantitative, and Mixed Methods Approaches*. Third Edition. California.
- DepKes RI.(2005). *Buku Pedoman Pelaksanaan Program Pemberantasan Penyakit Diare*. Jakarta: Ditjen PPM dan PL.
- Dr. Monty P. Santoso. *Kanker Payudara* Penerbit Qanita PT Mizan Pustaka, Cetakan I, Bandung 2012
- Briani, Farida, 2011. *Pemahaman Yang Benar dan Penanganan Yang Tepat Terhadap Kanker Payudara*. [Hhttp://www.permatacibubur.com/en/se/e/php?id=gj435&lang=idunduh](http://www.permatacibubur.com/en/se/e/php?id=gj435&lang=idunduh) pada tanggal 5 Mei 2011).
- Sugito H. *Kanker di Indonesia tahun 1994 ; Data Histopatologik*. Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia. Jakarta (INA): Dirjen YanMed Dep.Kes RI,1994, p.3-6.
- Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). Jakarta (INA) : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI dan Biro Pusat Statistik;2001.
- Kumar V, Abbas, Fausto AK. *Pathologic basis of disease*.7thed. Philadelphia, Pennsylvania. Elsevier Saunders; 2005 p 26-32, 89-91, 812-13, 880-881, 956-59,1129-38.
- Pecorico L. *Molecular biology of Cancer, mechanism, targets and therapeutics*. New York : Oxford university press inc;2005 : p.4-9.
- Macdonal F.Ford C.H.J & Casson A.G. *Molecular biology of Cancer*, 2nd ed. London and New York : Garland science/BIOS scientific;2004.p141-151.
- Lemeshow, S., dkk. (1997). *Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan*. GadjahMada University Press, Yogyakarta.

- Lembaga Demografi FE UI.2000. Dasar-Dasar Demografi. Jakarta : Lembaga Penerbit FE UI.
- Magdarina D Agtini, Rooswanti Soeharno, Murad Lesmana, dkk. (2005). *The burden of diarrhoea, shigellosis, and cholera in North Jakarta*. Indonesia: findings from 24 months surveillance. *BMC Infectious Diseases*.
- Matondang. (2008). Aspek Imunologi air Susu Ibu. Buku ajar Imunologi Anak. Jakarta: IDI
- Mc. Murray, A. (2003). *Community Health and Wellness: a Sociological approach*. Toronto: Mosby.
- Muhajirin. (2007). Hubungan antara Praktek Personal hygiene Ibu Balita dan Sanitasi Lingkungan dengan Kejadian Diare pada Balita di Kelurahan Maos Kabupaten Cilacap. Universitas Diponegoro Semarang.
- Muhidin, S. A., dan Abdurahman, M. (2007). *Analisis Korelasi, Regresi, dan Jalur dalam Penelitian*. Bandung : Pustaka Setia.
- Murti, B. (2006). *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan*. Yogyakarta.
- Science. *Molecular of the Year*. Vol. 258, 1992.p1853-2008
- Alane T. Koki. PhD. And Jaime L. Masferrer, PhD, *Colecoxib. A Specific COX-2 Inhibitor with Anticancer Properties*, March / April 2002;Vol 9(2).
- Rajesh L. Thangapazham, Anuj Sharma and Radha K. Maheshwari, *Multiple Molecular Targets in Cancer Chemoprevention by Curcumin*. *AAPS Journal*.2006;8(3) : E443 – E449 (cited 2007 mar 16). Available from : URL : http://www.aapsj.org/view.asp?art=aaps_j080352
- Siti Boedina Kresno, *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi 5, Penerbit FKUI, Jakarta 2010: 213-259
- Xiong B, Sun TJ,Hu WD, Cheng FL, Mao M, Zhou YF. Expression of cyclooxygenase-2 and its clinical significance. *World J Gastroin*. 2005; 11:1105-08.
- Herlina Widyaningrum, *Sirsak Si Buah Ajaib 10.000 X lebih hebat dari Kemoterapi*, Penerbit MedPress(Anggota IKAPI), Yogyakarta, 2011.
- Ayu R. 2010 *Zat Antikanker dalam daun sirsak*. (diakses 20 November 2010). Available From www.suaramerdeka.com.
- Sitorus M.Imunokpresi KI-67 Pada Tumor Payudara Tikus Wistar yang diinokulasi Tumor terinduksi Benzo (a) Pyrene dan Diberikan Ekstrak Daun Sirsak. Medan Universitas Sumatera Utara;2012.
- Jardines L, Haffty BG, Doroshow JH, Fisher P, Weitzel, *Breast Cancer*. Dalam : Pazdur R, Cola LR, Hoskins WJ, Wagman LD (eds), *Cancer Management , A.Multidiciplinary Approach*. New York, The Onkology Group, 2003 : 163-235 (19).
- Asco, *Cancer Genetics and Cancer Predisposition Testing*. 2nd Edition, Alexandria American Society Of Clinical Onkology, 2004 : 651-66.
- Fattaneh A. Tavassoli & Peter Devilee, *Pathology & Genetics, Tumours of the Breast and Female Genetical Organs*, 2003;p10-19.
- Rosai J. *Breast*.In: Rosai and ackerman's surgical pathology. 9th ed. Philadelphia, USA : Elsevier; 2004.p 1764-87.
- Kumar V, Abbas, Fausto AK. *Phatologic basis of disease*. 7th ed Philadelphia, Pennsylvania. Elsevier Saunders;2005. P 26-32.89-91,812-13,880-881,956-59,1129-38.
- Dr.Monty P. Soemitro, *Kanker Payudara*. Penerbit Qanita PT Mizan Pustaka, Cetakan I, Bandung. 2012.
- Chapkin, Davidson LA, Ly L,Weeks BR, Lupton JR, McMurray DN. *Immunomodulatory Effect of (n-3) Fatty Acids : Putative Link to Inflammation and Colon Cancer*. *J Nutr* 2007; 137:2005-45.
- Macarthur M.Huld GL, EL-Omar EM. *Inflammation and Cancer*. II. Role of chronic inflammation and cytokine gene polymorphisms in the phatogenesis of

- gastrointestinal malignancy. *Am J Physiol Gastrointestinal Liver Physiol* 2004;286:G515-G520.
- Kuwano T, Nakao S, Yamamoto H, Tsuneyoshi M, Yamamoto T, Kuwano M, Ono M. Cyclooxygenase 2 is a key enzyme for inflammatory cytokine-induced angiogenesis. *The FASEB Journal* 2004;18:300-308.
- Grosch S, Maier TJ, Sciffmann S, Geisslinger G. Cyclooxygenase - 2 (COX-2) Independent Anticarcinogenic Effects of Selective COX-2 Inhibitors. *J Nat Cancer Ins* 2006;98:736-47.
- Leahy, K.M, Ornberg, R.L, Wang, Y, Zweifel, B.S, Koki, A.T, dan Masferrer, J.L, 2002, Cyclooxygenase-2 Inhibition by Celecoxib Reduces Proliferation and Induces Apoptosis in Angiogenic Endothelial Cells in Vivo, *Cancer Res*, 62,625-631.
- Simmons, D.L, Moore, B.C, 2000, COX-2 Inhibition, Appoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, *CuuMed Chem*, 7,1131-1144.
- Zuhud. Potensi Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Sebagai tanaman Obat, 2011.49 (11) : 1145-49.
- Muktiani, Khasiat dan Cara Olah Sirsak Untuk Kesehatan. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 11-12
Jurnal Berita Kedokteran.
- J. Gomes de Melo. 2010. Antioxidant Capacity and Antiproliferative Activity. *Molecules* 2010, 15, 8534-8542, doi : 10.3390/Molecules 15128534 molecules. ISSN 1420-3049, www.mdp.com/Journal/molecules.
- World Health Organization. Research Guidelines for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicines. Manila : WHO Regional Office for the Western Pasific, 1993.
- Klintrup A, Makiinen JM, Kaupilla S, Vare PO, Melko J, Tuominen H, Tuppurainen K, Makela J, Karttunen TJ, Makinen M Inflammation and Prognosis in Colorectal cancer. *European J Cancer* 2005;4:2645-54.
- Naghsva F, Torabizadeh ZH, Emadian O, Enami K, Ghahremani M, Corellation of Cyclooxygenase 2 Expression and Inflammatory Cells Infiltration In Colorectal Cancer. *Pakistan J Biol Sciences* 2009;2:98-100.
- Dahlan SD. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan, Seri Evidence Based Medicine I. Edisi 4. Jakarta : Penerbit Salemba Medika;2009.

