



PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN *ANNONA MURICATA* TERHADAP KEJADIAN DISPLASIA EPITEL KELENJAR PAYUDARA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI *7, 12 DIMETHYLBENZ[α]ANTHRACENE*

THE EFFECT OF *ANNONA MURICATA* LEAVES EXTRACT SUPPLEMENTATION ON THE INCIDENCE OF MAMMARY GLANDS EPITHEL DYSPLASIA IN *SPRAGUE DAWLEY* RATS INDUCED BY *7, 12 DIMETHYLBENZ[α]ANTHRACENE*

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**VIANANDRA RETNANI
G2A007178**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2011**

**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN *ANNONA MURICATA*
TERHADAP KEJADIAN DISPLASIA EPITEL KELENJAR PAYUDARA
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
7, 12 DIMETHYLBENZ[a]ANTHRACENE**

Vianandra Retnani¹, Yan Wisnu Prajoko²

ABSTRAK

Latar Belakang: Kanker payudara merupakan keganasan yang paling sering dialami wanita di dunia. *Annona muricata* telah lama digunakan masyarakat sebagai terapi alternatif kanker. Sejauh ini belum terdapat literatur ilmiah tentang pengaruh *Annona muricata* terhadap karsinogenesis akibat induksi 7,12 Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *Sprague Dawley*.

Metode: Penelitian ini menggunakan *Randomized post test only control group design*. Lima belas ekor tikus dibagi menjadi 3 kelompok (K, P I, P II). Semua kelompok diinduksi dengan DMBA yang diberikan dengan sonde lambung 2 kali perminggu selama 5 minggu. Setelah diistirahatkan selama 3 hari pasca induksi DMBA, kelompok P I mendapatkan sonde Tamoxifen 0,018 mg dan kelompok P II mendapatkan sonde ekstrak daun *Annona muricata* 200 mg/kgBB selama 8 minggu. Kejadian displasia dinilai berdasarkan persentase displasia duktus dan lobulus.

Hasil: Persentase displasia lobulus dan duktus terendah ditemukan di kelompok P II. Uji One Way ANNOVA menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan nilai $p = 0,021$ untuk displasia lobulus dan $p = 0,027$ untuk displasia duktus. Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K dengan P II ($p = 0,027$) untuk displasia lobulus dan kelompok P I dengan P II ($p = 0,044$) untuk displasia duktus.

Simpulan: Suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* dapat menurunkan kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi DMBA.

Kata Kunci: Displasia, *Annona muricata*, DMBA, Kanker Payudara

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 Kedokteran Umum Undip

² Dosen pembimbing bagian Bedah Onkologi FK UNDIP, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

**THE EFFECT OF *ANNONA MURICATA* LEAVES EXTRACT
SUPPLEMENTATION ON THE INCIDENCE OF MAMMARY GLANDS
EPITHEL DYSPLASIA IN *SPRAGUE DAWLEY* RATS INDUCED BY
7, 12 DIMETHYLBENZ[*a*]ANTHRACENE**

ABSTRACT

Background: Breast cancer is the most common cancer in women worldwide. *Annona muricata* has long history as an alternative therapy for cancers in society. There has no been scientific literature about the effect of *Annona muricata* in carcinogenesis induced by 7,12 Dimethylbenz[*a*]nthracene (DMBA). This study is aimed to investigate the effect of *Annona muricata* leaves extract supplementation on the dysplasia incidence of mammary glands epithel of Sprague Dawley rats.

Methods: This study utilized randomized post test only control group design. Fifteen rats were divided into 3 groups (K, P I, P II). All groups were induced by DMBA intragastric twice a week for 5 weeks. After having a rest for 3 days post DMBA induction, P I group received Tamoxifen 0.18 mg and P II received *Annona muricata* leaves extract 200 mg/kg body weight for 8 weeks. The dysplasia incidence was evaluated based on the percentage of ductal and lobular dysplasia.

Result: The lowest percentage of both dysplasias was on group P II. One way ANNOVA test presented significant differences ($p < 0.05$) with $p = 0.021$. According to Bonferroni post hoc test, there were significant differences between groups K and P II ($p = 0.027$) for lobular dysplasia and between groups P I and P II ($p = 0.044$) for ductal dysplasia.

Conclusion: The present study demonstrates that the *Annona muricata* leaves extract supplementation can reduce the dysplasia incidence of mammary glands epithel of Sprague Dawley rats induced by DMBA.

Keywords: Dysplasia, *Annona muricata*, DMBA, Breast cancer

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan kanker yang sering ditemukan pada wanita. Sebanyak 20 % dari seluruh kasus keganasan di dunia adalah kanker payudara. Sedangkan di Indonesia, kanker payudara menempati urutan pertama dengan insidensi sebanyak 8.227 kasus atau sebesar 16,85 % pada tahun 2007.¹ Hingga saat ini belum ditemukan pengobatan yang ideal untuk menyembuhkan kanker. Selain itu rendahnya pengetahuan dan kesadaran masyarakat, serta mahalnya biaya pengobatan dapat menyebabkan ketidaktuntasan pengobatan sehingga angka kekambuhan kanker pun menjadi tinggi.

Suatu sel normal untuk berubah menjadi suatu kanker akan melewati beberapa tahapan. Pada fase tertentu tahapan tersebut, perubahan yang terjadi masih bersifat reversibel.² Oleh karena itu pengembangan obat atau senyawa yang mampu mencegah dan menghambat karsinogenesis memiliki prospek yang lebih menjanjikan. *Tamoxifen* merupakan salah satu agen kemopreventif yang biasanya diberikan kepada wanita dengan risiko tinggi terkena kanker payudara.³ Akan tetapi obat ini memiliki efek samping yang tidak menyenangkan serta penggunaan *Tamoxifen* dalam jangka lama dapat menimbulkan resistensi dan meningkatkan risiko terjadinya kanker endometrium.^{3,4}

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.⁵

Beberapa literatur menyebutkan bahwa *Annona muricata* memiliki aktivitas antikanker. Zat aktif dalam tanaman ini yang berkhasiat sebagai anti kanker adalah *Annonaceous acetogenins*.^{6,7,8} *Acetogenins* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau *NADH dehidrogenase* yang dapat mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker.^{7,8,9} Mekanisme inhibisi tersebut juga dapat memicu terjadinya aktivasi jalur apoptosis serta mengaktifkan p53 (*tumor suppressor genes*) yang dapat mengentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi tak terkendali.^{10,11}

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.^{12,13} Selain itu *Annona muricata* juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, meskipun bukan antioksidan kuat.

Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi karsinogen 7, 12 *Dimethylbenz[α]anthracene* (DMBA).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *Randomized post test only control group design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* betina yang berusia 5 minggu, berat badan 60-80 gram setelah aklimatisasi dan tidak ada abnormalitas anatomi. Tikus ini diperoleh dari Lembaga Penelitian dan Pengembangan Terpadu Universitas Gajah Mada. Jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 15 ekor tikus.

Lima belas tikus tersebut diaklimatisasi di laboratorium dan diberi pakan standar ditambah diet tinggi lemak menggunakan otak sapi selama satu minggu secara *ad libitum*. Kemudian hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok (K, P I, dan P II), masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang ditentukan secara acak, lalu masing-masing kelompok dikandangkan secara terpisah dan mendapatkan pakan standar *ad libitum* ditambah diet tinggi kolesterol menggunakan otak sapi sampai penelitian selesai.

Semua kelompok mendapatkan induksi DMBA intragastrik dua kali perminggu selama lima minggu. Selanjutnya kelompok P I sebagai kontrol positif diberi 0,18 mg *Tamoxifen* yang dilarutkan dalam 1 ml aquabidest dan kelompok P II diberi ekstrak daun *Annona muricata* dengan dosis 200 mg/kgBB. Perlakuan tersebut diberikan melalui sonde lambung setiap hari selama 8 minggu post induksi DMBA.

Pada akhir perlakuan, tikus dibunuh dengan inhalasi ether lalu diambil jaringan payudaranya untuk diproses menjadi preparat histologik dengan pengecatan HE. Kejadian displasia dinilai dari persentase displasia lobulus dan

duktus kelenjar payudara. Pemeriksaan tersebut menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan 1000x dan penghitungan dilakukan pada seluruh lapangan pandang.

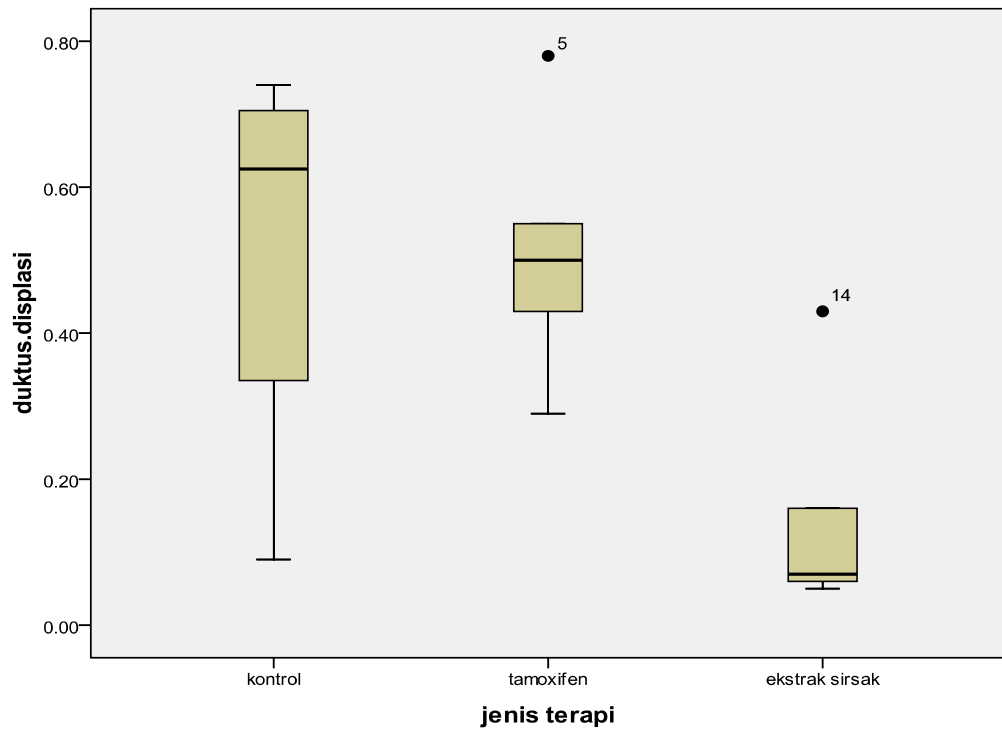
Analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis. Homogenitas data diuji dengan uji *Levene*. Normalitas data diuji dengan uji *Saphiro Wilk*. Uji hipotesis dilakukan menggunakan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*. Batas derajat kemaknaan penelitian ini adalah apabila variabel yang dianalisis memiliki nilai $p < 0,05$.

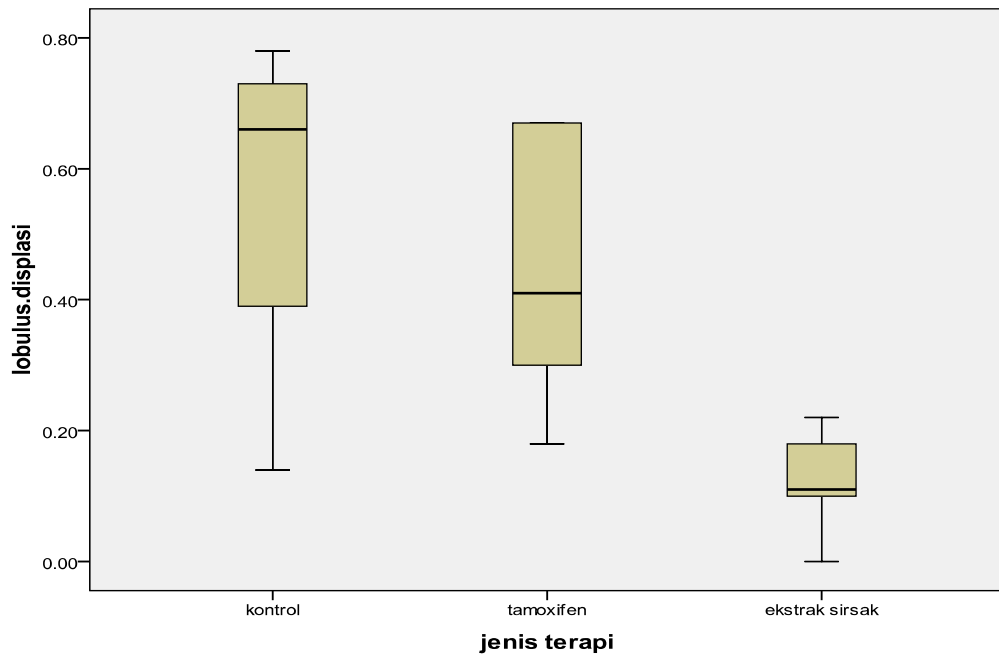
HASIL

Dari awal hingga akhir penelitian tidak terdapat tikus yang *drop out*. Pada akhir penelitian secara makroskopik belum dijumpai adanya tumor atau nodul yang teraba pada tikus. Tetapi saat proses pembedahan ditemukan adanya tumor yang berbenjol-benjol pada paru-paru salah satu tikus kelompok P I.

Meskipun tidak terdapat tikus yang *drop out*, pada pembacaan preparat didapatkan satu sampel dari kelompok K yang harus dieksklusikan karena tidak dapat ditemukan adanya kelenjar payudara meskipun telah dilakukan potongan dalam pada jaringan dari tikus tersebut.

Kejadian displasia epitel kelenjar payudara dinilai berdasarkan persentase displasia duktus dan lobulus yang terangkum pada box plot dibawah ini .





Box plot 1. Kejadian Displasia Kelenjar Payudara

Berdasarkan box plot di atas, dapat dilihat bahwa presentase displasia lobulus terbanyak ditemukan pada kelompok K dan displasia duktus terbanyak ditemukan di kelompok K dan P I. Sedangkan persentase displasia terendah baik untuk lobulus dan duktus ditemukan pada kelompok P II.

Dikarenakan data displasia duktus tidak terdistribusi normal ($p=0,026$), maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu menggunakan akar kuadrat sebelum dilakukan uji hipotesis. Setelah dilakukan transformasi, data terdistribusi normal dan pada uji homogenitas dengan *Levene's Test* menunjukkan bahwa semua data yang terkumpul adalah homogen. Pada uji hipotesis *One Way Anova* didapatkan nilai $p=0,021$ untuk displasia lobulus dan $p=0,027$ untuk displasia duktus yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan ($p<0,05$).

Tabel 1. Nilai p pada uji *Post Hoc Bonferoni*

Variabel	Perlakuan	K	P I	P II
Displasia Lobulus	K	-	1,000	0,027*
	P I	1,000	-	0,091
	P II	0,027*	0091	-
Displasia Duktus	K	-	1,000	0,078
	P I	1,000	-	0,044*
	P II	0,078	0,044*	-

Catatan: * = berbeda bermakna

Hasil *Post Hoc Test* metode *Bonferroni* (Tabel 1) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok K dengan P II untuk variabel displasia lobulus dan kelompok P I dengan P II untuk displasia duktus.

PEMBAHASAN

Kanker payudara merupakan kanker yang banyak ditemui dan ditakuti kaum wanita.¹ Salah satu tanaman yang banyak digunakan masyarakat untuk mengobati kanker tersebut adalah daun *Annona muricata*.⁵ Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kandungan *Acetogenins* pada tanaman ini bersifat sitotoksik selektif terhadap sel kanker.⁶⁻⁹ Meskipun demikian efek dan mekanisme penghambatan ekstrak daun *Annona muricata* terhadap karsinogenesis belum banyak diketahui. Oleh karena itu pada penelitian ini penulis ingin mengetahui pengaruh ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi karsinogen DMBA.

Hingga batas akhir perlakuan pada penelitian ini belum ditemukan adanya kanker pada kelenjar payudara, terutama pada kelompok kontrol (K), yaitu kelompok tikus yang hanya diinduksi karsinogen DMBA saja. Meskipun demikian dari hasil pengamatan gambaran histopatologis didapatkan adanya sel epitel duktus dan lobulus yang mengalami hiperplasia dan displasia. Hal ini mungkin dikarenakan lama perlakuan post induksi yang tidak terlalu lama, yaitu hanya 8 minggu.

Pada penelitian ini, persentase tertinggi epitel duktus dan lobulus kelenjar payudara yang mengalami displasia terjadi pada kelompok kontrol serta pada kelompok tersebut didapatkan pula penambahan jaringan ikat di sekitar lobulus dan duktus. Adanya penambahan jaringan ikat pada kelompok kontrol mungkin dikarenakan pemberian DMBA selain dapat menyebabkan terbentuknya adenokarsinoma, juga mampu menginduksi terbentuknya fibroadenoma dan juga sarkoma.¹⁴

Meskipun demikian, pada kelompok P I, yaitu kelompok yang mendapatkan perlakuan *Tamoxifen* juga didapatkan persentase displasia duktus yang tinggi seperti kelompok kontrol. Padahal seharusnya kelompok ini adalah kelompok kontrol positif. Peneliti menduga kemungkinan hal ini terjadi karena *Tamoxifen*, selain bersifat sebagai antagonis estrogen, ternyata mampu menghambat peroksidasi lipid. Adanya penghambatan ini menyebabkan peningkatan pembelahan sel dan penghambatan induksi apoptosis.¹⁵ Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Fendi KC dan Zimniski SJ menunjukkan bahwa ternyata *Tamoxifen* hanya mampu menghambat pembentukan tumor

payudara yang *hormone dependent* tetapi tidak mampu menghambat terjadinya tumor payudara yang *hormone independent*, bahkan mereka menduga bahwa pemberian *Tamoxifen* dapat menstimulasi pertumbuhan tumor payudara yang diinduksi DMBA.¹⁶

Pada penelitian ini didapatkan persentase displasia terendah terjadi pada kelompok P II, yaitu kelompok yang mendapatkan perlakuan ekstrak daun *Annona muricata*. Berdasarkan analisa yang telah dilakukan menggunakan uji *One Way ANNOVA* didapatkan hasil yang signifikan pada variabel displasia duktus dan lobulus. Lalu pada uji *post hoc Bonferroni* diperoleh adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan P II untuk variabel displasia lobulus dan kelompok P I dengan P II untuk displasia duktus. Dilihat dari persentase displasia yang terjadi maka secara umum dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun *Annona muricata* post induksi DMBA dapat menurunkan kejadian displasia epitel kelenjar payudara.

Sejauh ini belum terdapat penelitian mengenai efek kemopreventif atau penghambatan karsinogenesis dari ekstrak *Annona muricata*. Akan tetapi terdapat beberapa penelitian tentang efek kemopreventif dari tanaman yang satu famili dengan *Annona muricata*, yaitu *Annona squamosa*. Penelitian yang dilakukan oleh Suresh K dkk tahun 2006 menunjukkan bahwa ekstrak ethanol kulit batang *Annona squamosa* mampu menghambat pembentukan *squamous cell carcinoma* serta menurunkan volume tumor pada hamster *Golden Syrian* yang diinduksi DMBA. Pada penelitian tersebut *Annona squamosa* menunjukkan efek kemopreventif dan juga aktivitas antiperoksidasi lipid.¹⁷ Selain itu penelitian lebih

lanjut yang dilakukan para peneliti tersebut pada tahun 2008 menunjukkan bahwa *Annona squamosa* memiliki efek *antigenotoxic* yang mampu mencegah terjadinya aberasi kromosom.¹⁸

Dalam penelitian yang dilakukan penulis, berdasarkan gambaran histopatologis yang terjadi dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak daun *Annona muricata* mampu menghambat karsinogenesis akibat pemberian DMBA dengan menurunkan kejadian displasia epitel. Meskipun mekanisme pasti yang terlibat dalam proses tersebut belum jelas, penulis menduga bahwa kandungan *acetogenins* yang terdapat dalam ekstrak daun *Annona muricata* serta senyawa kimia lainnya seperti flavonoid, triterpenoid, saponin, polifenol, dan metabolit sekunder lainnya berperan dalam mekanisme tersebut.

Beberapa literatur menyebutkan bahwa kandungan *acetogenins* dalam *Annona muricata* memiliki efek kuratif terhadap sel kanker melalui mekanisme inhibisi kompleks I mitokondria yang akan mengganggu proses transfer elektron.⁶ Inhibisi kompleks I mitokondria oleh *Acetogenins* akan menyebabkan menurunnya produksi ATP. Penurunan jumlah ATP tersebut justru akan menginduksi terjadinya apoptosis.^{10,19,20} Selain itu hipoksia akibat penurunan produksi ATP juga dapat mengaktifkan p53, suatu *tumor suppressor genes*, yang menyebabkan terhentinya siklus sel pada fase G1 sehingga dapat mencegah proliferasi sel yang berlebihan.¹¹

Senyawa golongan flavonoid juga mampu menginduksi apoptosis dan menghentikan siklus sel melalui mekanisme inhibisi enzim topoisomerase. Selain itu flavonoid juga dapat menghambat aktivitas karsinogen melalui inhibisi

sitokrom P450 sehingga senyawa karsinogen menjadi tidak reaktif. Flavonoid juga meningkatkan ekspresi enzim *gluthation S-transferase* yang dapat mendetoksifikasi karsinogen sehingga cepat dieliminasi tubuh.²¹

Senyawa terpenoid dapat pula memblok siklus sel pada fase G2/M dengan menstabilkan benang-benang *spindle* pada fase mitosis sehingga proses mitosis dapat terhambat. Terpenoid juga dapat memicu apoptosis melalui mekanisme seperti flavonoid.²²

Selain itu daun *Annona muricata* juga memiliki aktivitas antioksidan yang diduga berperan dalam pencegahan kanker. Penelitian tentang aktivitas antioksidan *Annona muricata* dilakukan oleh Baskar R dkk tahun 2007 yang menunjukkan bahwa ekstrak ethanol daun *Annona muricata* dosis 500 microg/ml menunjukkan *maximum scavenging activity* dan penghambatan peroksidasi lipid seperti pada ekstrak daun *Annona squamosa*.²³

Terdapat hal yang menarik perhatian penulis pada penelitian ini. Pada dua sampel dari kelompok P II (*Annona muricata*), yaitu P II.3 dan P II.5, didapatkan adanya gambaran hiperplasia lobulus yang sangat besar dan berbentuk seperti kista dengan massa di dalam lumennya dan hampir mengisi seluruh lumennya. Pada P II.3, dari 7 lobulus yang nondisplasia 2 diantaranya mengalami hiperplasia lobulus tersebut. Dan pada P II.5 hampir setengah dari lobulus non displasia yang ditemukan memiliki gambaran histopatologi tersebut. Sedangkan pada kelompok K (kontrol), hanya satu sampel saja yang memiliki gambaran tersebut, dan hanya 2 dari 5 lobulus saja yang mengalami hiperplasi lobulus seperti yang telah dijabarkan sebelumnya.

Berdasarkan studi literatur yang penulis lakukan, kemungkinan hal tersebut diakibatkan oleh penghambatan kompleks I mitokondria oleh acetogenins pada daun *Annona muricata*. Adanya inhibisi pada rantai transfer elektron pada sel normal sebenarnya dapat memicu terjadinya pembelahan sel dan pembentukan tumor. Akan tetapi studi terbaru mengatakan hanya gangguan pada kompleks II mitokondria lah yang benar-benar mampu menginduksi terjadinya karsinogenesis, sedangkan manipulasi pada rantai transfer elektron lainnya, selain kompleks II, justru akan menghambat pembentukan tumor daripada menginduksinya.¹⁸ Oleh karena itu penulis belum dapat memastikan apakah hiperplasia lobulus tersebut akan mengarah ke lesi preneoplastik atau tidak. Untuk itu diperlukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui hal tersebut.

SIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* dengan dosis 200 mg/kgBB secara oral selama 8 minggu berpotensi menghambat karsinogenesis pada tikus yang diinduksi karsinogen DMBA dengan menurunkan kejadian displasia epitel kelenjar payudara. Akan tetapi dikarenakan belum terbentuknya kanker, maka penelitian ini masih belum dapat menggambarkan efek kemopreventif dari suplementasi daun *Annona muricata* secara pasti dan menyeluruh. Sehingga untuk membuktikan potensi penghambatan karsinogenesis dari ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kanker payudara diperlukan penelitian lanjutan menggunakan parameter terstandar dengan durasi penelitian yang lebih lama, jumlah sampel yang banyak, serta dapat

pula dilakukan penelitian dengan dosis bertingkat untuk mengetahui dosis yang paling efektif dalam mencegah kanker. Penggunaan senyawa spesifik dari daun *Annona muricata* sebagai pengganti *crude extract* sangat dianjurkan pada penelitian di masa mendatang. Selain itu dapat pula dilakukan penelitian tambahan yang layak terhadap manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan pada Allah SWT, atas segala nikmat dan rahmatNya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua dan keluarga atas doa dan dukungan semangatnya; kepada dr. Yan Wisnu P, M.Kes, Sp. B(K)Onk selaku dosen pembimbing atas saran, bimbingan serta bantuannya; dr. Abdul Mughni, Msi. Med, Sp. B-KBD selaku ketua penguji laporan hasil akhir penelitian; dr. Ika Pawitra M, M. Kes, Sp. PA selaku penguji laporan hasil akhir penelitian dan juga konsultan pembacaan preparat, Dr. Meiny Suzery, M.S yang telah membantu dalam pembuatan ekstrak daun *Annona muricata*; seluruh staff Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, serta semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonym. Kejadian Kanker Payudara Masih Tertinggi [Internet]. 2010 [update 4 Februari 2010; diakses 11 November 2010]. Available from: <http://www.antaraneews.com/berita/1265254914/kejadian-kanker-payudara-masih-tertinggi>
2. Devi PU. Basics of Carcinogenesis. Health Administrator. 2005. 17(1): 16-24
3. National Cancer Institute. Tamoxifen [Internet]. 2008 [diakses 30 Mei 2011]. Available from: www.cancer.gov
4. Jordan VC. A Current View of Tamoxifen for The Treatment and Prevention of Breast Cancer. Br J Pharmacol. 1993. 110: 507-517
5. Ayu R. Zat Antikanker dalam Daun Graviola [Internet]. 2010 [diakses 20 November 2010]. Available from: www.suamerdeka.com
6. Anonym. Graviola [Internet]. [diakses 11 November 2010]. Available from: <http://www.cancernosis.com/Graviola/index.htm>
7. Family Content. Herbs: Graviola [Internet]. 2008 [diakses 28 Mei 2011]. Available from: www.family-content.com
8. Kim GS, Zeng L, Alali F, Rogers LL, Wu FE, Sastrodiharjo S, et al. Muricoreacin and Murihexocin C, Mono-Tetrahydrofuran Acetogenins from The Leaves of *Annona muricata*. Phytochemistry. 1998. 49(2):565-71
9. Kim GS, Zeng L, Alali F, Rogers LL, Wu FE, McLaughlin JL, Sastrodihardjo S. Two New Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetogenins, Annomuricin E and

- Muricapentocin, from The Leaves of *Annona muricata*. J Nat Prod. 1998. 61(4):432-6
10. Higuchi M, Rita JP, Edward THY. Inhibition of Mitochondrial Respiratory Chain Complex I by TNF Results in Cytochrome C Release, Membrane Permeability Transition, and Apoptosis. Oncogene. 1998. 17 (19): 2515-24
 11. Gonzalez-Cuyar LF, Tavora F, Caminha I, Perry G, Smith MA, Castellani RJ. Cellular Respiration and Tumor Suppressor Genes. In: Apte SP, Sarangarajan R, editors. Cellular Carcinogenesis and Respiration. New York: Springer, 2009: 131-140
 12. Adewole SO, Ojewole JAO. Protective Effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2009. 6(1): 30–41
 13. Viera O, Del Vechio G, Jose JR, Yamamoto H, Silvana M. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. Int J Mol Sci. 2010. 11(5): 2067-2078
 14. Irmgard Costa, Montserrat Solanas and Eduard Escrich (2002) Histopathologic Characterization of Mammary Neoplastic Lesions Induced With 7,12 Dimethylbenz(α)anthracene in the Rat. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: August 2002, Vol. 126, No. 8, pp. 915-927.
 15. Domigues MG, Castelao JE, Pike MC, et al. Role of Lipid Peroxidation in The Epidemiology and Prevention of Breast Cancer. Cancer Epidemiol Prev. 2005. 14: 2829-2839

16. Fendi KC, Zimmiski SJ. Role of Tamoxifen in The Induction of Hormone Independent Rat Mammary Tumors. *Cancer Research*. 1992. 52(1): 235-237
17. Suresh K, Manoharan S, Panjamurthy K, Kavitha K. Chemopreventive and Antilipidperoxidative Efficacy of *Annona squamosa* Bark Extract in Experimental Oral Carcinogenesis. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2006. 9(14): 2600-2605
18. Suresh K, Manoharan S, Blessy D. Protective Role of *Annona squamosa* Linn Bark Extract in DMBA Induced Genotoxicity. *Kathmandu University Medical Journal*. 2008. 6(23): 364-369
19. Bri`ere JJ, B`enit P, Rustin P. The Electron Transport Chain and Carcinogenesis. In: Apte SP, Sarangarajan R, editors. *Cellular Carcinogenesis and Respiration*. New York: Springer, 2009: 19-30
20. Apte SP, Sarangarajan R. Metabolic Modulation of Carcinogenesis. In: Apte SP, Sarangarajan R, editors. *Cellular Carcinogenesis and Respiration*. New York: Springer, 2009:103-116
21. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Review*. 2003. 23(4): 519-534
22. Sugianto SB, Meiyanto E, Nugroho AE, Jenie UA. Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa yang Berasal dari Tumbuhan. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2003. 14(4): 216-225
23. Baskar R, Rajeswari V, Kumar TS. In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian J Exp Biol*. Mei 2007. 45(5): 480-5.