

EFEK INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP JUMLAH NEKROSIS DAN DIAMETER KARDIOMIOSIT SERTA DENSITAS KOLAGEN JANTUNG TIKUS MODEL OBESITAS

Hafidh Nur Haq, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Obesitas dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia yang berkontribusi terhadap peningkatan risiko komplikasi gagal jantung. Daun sirsak dikenal memiliki potensi antioksidan, namun penelitian tentang efek daun sirsak terhadap komplikasi gagal jantung belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek infusa daun sirsak (IDS) terhadap jumlah nekrosis, diameter kardiomiosit dan densitas kolagen pada otot jantung tikus dengan induksi diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF).

Metode: Hewan coba tikus diberi induksi diet TLTF dan IDS selama 10 minggu yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok normal (KN), kelompok positif (KP) dan kelompok infusa daun sirsak (IDS) dosis I (100 mg/kgBB), II (200 mg/kgBB) dan III (400 mg/kgBB) (n=6 ekor). Selanjutnya tikus dilakukan pengorbanan dan diambil organ jantung kemudian jantung tikus diblok parafin. Jumlah nekrosis dan diameter kardiomiosit dihitung dari pengecatan *Hematoxylin Eosin*, sedangkan densitas kolagen jantung dari pengecatan *Masson's Trichrome* lalu diamati dengan mikroskop trinokuler dan *dotSlide* pada perbesaran 200x dan 400x. Analisa statistik menggunakan *One Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *LSD* ($p < 0,05$).

Hasil: Pemberian IDS dengan dosis I, II dan III secara signifikan menurunkan jumlah nekrosis kardiomiosit sekitar 20% dibanding kelompok positif ($p < 0,05$), sedangkan densitas kolagen jantung menurun sekitar 35% ($p < 0,05$). Pada pemberian IDS dengan dosis II dan III menurunkan diameter kardiomiosit secara signifikan yaitu 2% dibanding kelompok positif ($p < 0,05$), sedangkan pemberian IDS dosis I tidak mampu menurunkan diameter kardiomiosit.

Simpulan: Pemberian IDS dapat menghambat peningkatan jumlah nekrosis kardiomiosit dan densitas kolagen jantung serta mampu menurunkan diameter kardiomiosit pada dosis II dan III.

Kata Kunci: Daun Sirsak, Diet TLTF, Obesitas, Nekrosis, Diameter Kardiomiosit, Densitas Kolagen

EFFECT SOURSOUP (*Annona muricata L.*) LEAF WATER EXTRACT ON NUMBER OF CARDIOMYOCYTE NECROSIS, CARDIOMIOSITE DIAMETER AND DENSITY OF CARDIAC COLLAGEN IN OBESITY RATS MODEL

Hafidh Nur Haq, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*

Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Background: Obesity can lead to hyperlipidemia which contributes to an increased risk of heart failure complications. Soursop leaf are known to has potential of antioxidant, but research about the effects of soursop leaf on complications of heart failure has never been studied. This research aims to determine the effect of soursop leaf water extract (SLWE) on total of cardiomyocyte necrosis, cardiomyocyte diameter and density of cardiac collagen in obesity rats.

Method: Rats were induced by diet high-fat high-fructose (HFHF) and SLWE for 10 weeks which were divided into 5 groups, namely normal group, obesity group and soursop leaf water extract group dose I (100 mg/kgBW), II (200 mg/kg). kgBW) and III (400 mg/kgBW) (n=6 rats). Furthermore, the rats were sacrificed and the heart organs were taken, then the rat hearts were blocked by paraffin. The number of necrosis and diameter of cardiomyocytes were measured from Hematoxylin Eosin staining, while the density of cardiac collagen from Masson's Trichrome staining was then observed with a trinocular microscope and *dotSlide* at 200x and 400x magnification. Statistical analysis using *One Way ANOVA* followed by *LSD* test ($p < 0.05$).

Results: Group soursop leaf water extract with doses I, II and III significantly reduced the number of cardiomyocyte necrosis approximately 20%, compared to the obesity group ($p < 0.05$), while cardiac collagen density decreased approximately 35% ($p < 0.05$). The soursop leaf water extract group with doses II and III significantly reduced cardiomyocytes diameter compared to the obesity group ($p < 0.05$), while dose I was unable to reduce cardiomyocytes diameter compared to the obesity group ($P > 0.05$).

Conclusion: Administration SLWE can inhibit the increase in the number of cardiomyocyte necrosis and cardiac collagen density, then also can reduce the diameter of cardiomyocytes at doses II and III.

Keywords: Soursop Leaf, TLTF Diet, Obesity, Necrosis, Cardiomyocyte Diameter, Collagen Density

*Corresponding author:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

E-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Obesitas dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia yang berkontribusi terhadap peningkatan risiko komplikasi gagal jantung¹. Gagal jantung (*heart failure*) didefinisikan sebagai kondisi kronis progresif di mana otot jantung tidak mampu memompa cukup darah untuk memenuhi kebutuhan oksigen ke seluruh tubuh. Selain itu, Prevalensi obesitas semakin tahun semakin meningkat jumlahnya di dunia, sekitar 39% dari penduduk dunia dan 33.5% penduduk Indonesia menderita obesitas secara klinis^{2,3}. Menurut *Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) Global Burden of Disease*, sekitar 4 juta kematian penderita obesitas, lebih dari dua pertiganya disebabkan oleh penyakit kardiovaskular^{1,3}.

Secara patofisiologi, hiperlipidemia dapat menyebabkan disfungsi jaringan adiposa dan deposit lemak pada otot jantung yang akan menginduksi terjadinya lipotoksitas dan resistensi insulin sehingga stress oksidatif pada otot jantung meningkat¹. Hal tersebut yang menyebabkan nekrosis kardiomyosit dan pembentukan fibrosis pada miokardium⁴. Selain itu, hiperlipidemia dapat menyebabkan aterosklerosis di arteri sehingga akan menyebabkan penyempitan arteri. Hal ini akan meningkatkan tahanan perifer sehingga kekuatan pompa jantung akan meningkat sehingga menyebabkan kenaikan tekanan darah¹. Apabila hal ini berlangsung secara kronis akan menyebabkan hipertropi, dilatasi dan fibrosis miokardium. Nekrosis kardiomyosit, deposit lemak pada otot jantung dan fibrosis akan menyebabkan menurunnya elastisitas dan kontraktilitas otot jantung sehingga terjadi gagal jantung⁵.

Meskipun banyak obat saat ini yang digunakan untuk menurunkan berat badan, orlistat (inhibitor lipase) adalah salah satu obat yang memiliki efektivitas dan cukup aman untuk pengobatan obesitas dengan penyakit kardiovaskular seperti gagal jantung¹. Akan tetapi beberapa penelitian menyebutkan orlistat memiliki efek samping kolelithiasis dan pankreatitis akut⁶. Efek samping tersebut mendorong pencarian obat alternatif dari bahan alam yang lebih murah dengan efek samping yang minimal dan sudah ada yang berhasil mencobanya⁷. Daun sirsak (*Annona muricata L.*) merupakan tanaman yang memiliki khasiat obat. Dalam penelitian *in vivo* telah terbukti bahwa ekstrak daun sirsak mampu menurunkan glukosa darah dengan mencegah kerusakan dari sel beta

pankreas yang rusak akibat stress oksidatif⁸⁻¹¹. Studi lain menyebutkan bahwa senyawa aktif daun sirsak mampu meningkatkan produksi insulin tanpa peningkatan proliferasi sel beta pankreas dan menurunkan kadar DPP4 sehingga dapat menurunkan resistensi insulin yang terjadi¹². Selain itu, ekstrak daun sirsak juga mampu menurunkan kadar kolesterol dan LDL serta menaikkan kadar HDL dalam tubuh^{13,14}. Hingga saat ini penelitian tentang efek infusa daun sirsak terhadap komplikasi gagal jantung pada penderita obesitas belum dilakukan.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan menggunakan desain penelitian *post test control group only* untuk mengetahui perubahan histologi jaringan otot jantung tikus. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pada bulan Juni-September 2021.

Perlakuan Hewan Coba

Tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pemeliharaan dan aklimatisasi di laboratorium FK UB selama 2 minggu yang dilakukan pada penelitian Dini Sri Damayanti *et al.*, 2020. Setelah aklimatisasi, hewan coba tikus diinduksi dengan diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) dan infusa daun sirsak (IDS) secara bersamaan selama 70 hari, dengan jumlah tikus sebanyak 30 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok¹⁵. Lima kelompok tersebut adalah kelompok kontrol normal (KN) yaitu kelompok tanpa induksi diet TLTF dan IDS (n=6), kontrol positif (KP) yaitu kelompok dengan induksi diet TLTF tetapi tanpa induksi IDS (n=6), kelompok perlakuan 1 (KP1) yaitu kelompok dengan induksi diet TLTF dan IDS dosis 100 mg/KgBB (n=6), kelompok perlakuan 2 (KP2) yaitu kelompok dengan induksi diet TLTF dan IDS dosis 200 mg/KgBB (n=6), dan kelompok perlakuan 3 (KP3) yaitu kelompok dengan induksi diet TLTF dan IDS dosis 400 mg/KgBB (n=6). Pada akhir perlakuan (hari ke 70) hewan coba tikus dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk diambil organ jantungnya. Selanjutnya organ jantung tikus diblok parafin. Setiap tikus diambil organ jantungnya sehingga terdapat 30 sampel jantung tikus yang akan dilakukan preparasi histologi menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin dan mason

trichom.

Pembuatan Preparat Histologi Jantung dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Parafin blok jantung dipotong dengan mikrotom ketebalan 4 μm kemudian diletakkan pada preparat. Kemudian preparat dimasukkan larutan xylol selama ± 3 menit untuk dilakukan deparafinisasi. Setelah itu, preparat dimasukkan kedalam larutan alkohol 80%, 90% dan 100% selama masing-masing sekitar 2 menit. Kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir selama ± 3 menit. Setelah itu, preparat dimasukkan pada larutan hematoxylin selama 7 menit. Setelah itu, preparat dimasukkan larutan HCL 0,6%. Kemudian preparat dimasukkan pada larutan *lithium carbonat* 0,5%. Setelah itu, preparat dimasukkan pada larutan. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam alkohol 80%, 90% dan 100%. Terakhir, preparat diberi entellan untuk merekat bahan preparat dengan objek glass¹⁶.

Pembuatan Preparat Histologi Jantung dengan Pewarnaan Masson's Trichrome (MT)

Parafin blok jantung dipotong dengan mikrotom ketebalan 4 μm kemudian diletakkan pada preparat. Kemudian preparat dimasukkan larutan xylol selama ± 3 menit untuk dilakukan deparafinisasi. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam larutan alkohol 70%, 95% dan 100% selama masing-masing sekitar 2 menit. Kemudian preparat dibilas dengan air mengalir selama ± 3 menit. Preparat kemudian direndam dalam larutan *Bouin* selama 1 jam. Setelah direndam dalam larutan *Bouin*, bilas dengan air mengalir selama 5-10 menit. Selanjutnya, preparat diwarnai dengan larutan *weigert's iron hematoxylin* selama 10 menit. Bilas dengan air keran hangat selama 10 menit, kemudian cuci lagi dengan air. Selanjutnya direndam dalam larutan *Biebrich scarlet-acid fuchsin* selama 10-15 dan cuci dengan air. Selanjutnya preparat direndam dengan larutan *phosphomolybdic-phosphotungstic acid* selama 10-15 menit. Pindahkan langsung (tanpa dibilas) ke larutan *aniline blue* selama 5-10 menit. Preparat dibilas sebentar dengan air lalu direndam dengan asam asetat 1% selama 2-5 menit dan dicuci dalam air suling. Kemudian preparat didehidrasi dengan etil alkohol 95% lalu bersihkan dengan xylene¹⁷.

Penghitungan Jumlah Nekrosis Kardiomyosit

Preparat jantung yang telah dilakukan pewarnaan HE kemudian dilakukan pengamatan

jumlah kardiomyosit yang diamati menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran lensa okuler 400x pada 10 lapang pandang untuk setiap sampel preparat. Penghitungan jumlah sel nekrosis kardiomyosit secara manual dengan bantuan aplikasi *Image J* dan diamati oleh 3 orang pengamat, kemudian hasil 10 lapang pandang oleh masing-masing 3 pengamat yang berbeda dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Nekrosis sel ditandai dengan inti sel yang piknotik/inti sel yang mengecil, karioreksis/inti sel yang mengalami fragmentasi dan kariolisis/inti sel yang menghilang¹⁸. Perhitungan nekrosis kardiomyosit memakai rumus proporsi yaitu (%) = $\frac{a}{b} \times 100\%$.

Keterangan:

a = Jumlah sel nekrosis dalam 1 lapang pandang

b = Jumlah keseluruhan sel dalam 1 lapang pandang

Penghitungan Diameter Kardiomyosit Jantung

Preparat jantung yang telah dilakukan pewarnaan HE kemudian dilakukan pengamatan diameter kardiomyosit yang diamati menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran lensa okuler 400x pada 10 lapang pandang untuk setiap sampel preparat. Penghitungan diameter kardiomyosit secara manual dengan bantuan aplikasi *Image J* dan diamati oleh 3 orang pengamat, kemudian hasil 10 lapang pandang oleh masing-masing 3 pengamat yang berbeda dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Kardiomyosit diukur dengan menghitung diameter kardiomyosit dari batas membran sel dengan satuan mikrometer (μm) pada potongan melintang maupun membujur. Penghitungan diameter kardiomyosit yaitu dengan menggunakan panjang diameter vertikal (x) dengan $\frac{x}{y} \leq 1,2$, apabila $\frac{x}{y} > 1,2$ maka panjang diameter kardiomyosit tersebut tidak dipakai¹⁹. Penghitungan ini digunakan untuk meningkatkan kemungkinan kardiomyosit divisualisasikan dalam penampang yang sesuai dan tidak secara tangensial²⁰.

Keterangan:

x = diameter kardiomyosit sumbu vertikal

y = diameter kardiomyosit sumbu horizontal

Penghitungan Densitas Jaringan Ikat Kolagen pada Jaringan Jantung

Preparat jantung yang telah dilakukan pewarnaan MT kemudian dilakukan pengamatan densitas jaringan ikat kolagen jantung yang diamati menggunakan mikroskop *Dot slide* dengan perbesaran lensa okuler 200x pada 10 lapang pandang untuk setiap sampel preparat. Penghitungan densitas jaringan ikat kolagen dilakukan dengan *Image J* menggunakan menu

Image RGB stack dan penyesuaian *adjust threshold*, kemudian dengan menu *measure* didapatkan persentase densitas kolagen²¹. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang pengamat, kemudian hasil 10 lapang pandang oleh masing-masing 3 pengamat yang berbeda dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Hasil berupa persentase dari area berwarna biru yang menunjukkan adanya deposit kolagen²².

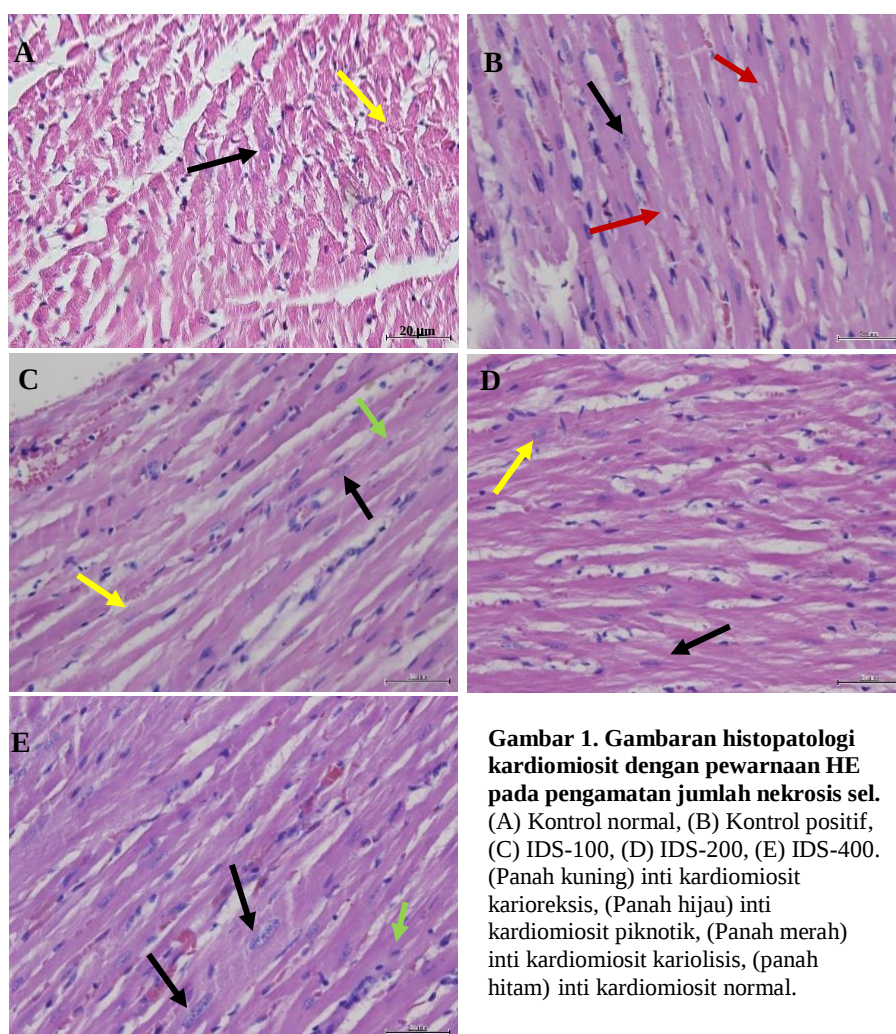
Teknik Analisa Data

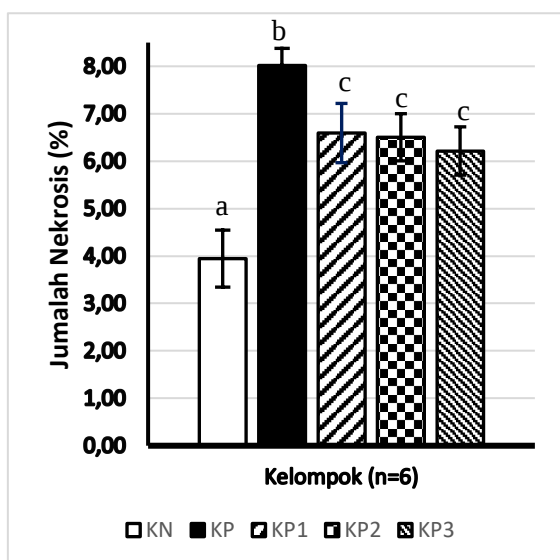
Data dinyatakan dalam bentuk rerata $\pm$ SD. Selanjutnya data dilakukan uji *Saphiro Wilk* untuk mengetahui homogenitas dan normalitas data. Setelah itu, dilakukan uji statistik *Oneway ANOVA* untuk perbedaan antar kelompok dengan derajat signifikansi $p < 0.05$. Apabila terdapat signifikansi, analisa dilanjutkan dengan uji *least significance different* (LSD) untuk mengetahui perbandingan masing-masing kelompok perlakuan. Analisa data dilakukan menggunakan software statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 25.

HASIL DAN ANALISA DATA

Efek Infusa Daun Sirsak (IDS) Terhadap Jumlah Nekrosis Kardiomiosit Jantung Tikus Model Obesitas

Induksi obesitas dengan pemberian diet TLTF meningkatkan secara signifikan jumlah nekrosis kardiomiosit sekitar 2 kali lipat dibandingkan kontrol normal ($p < 0.05$). Pemberian IDS dosis 100 mg/kgBB (KP1), 200 mg/kgBB (KP2) dan 400 mg/kgBB (KP3) berbeda signifikan menurunkan jumlah nekrosis kardiomiosit dengan persentase sekitar 20% dibandingkan KP ($p < 0.05$). Pemberian IDS berbeda tidak signifikan antar dosis dalam menurunkan jumlah nekrosis kardiomiosit dengan efek terkuat pada dosis 400 mg/kgBB ($p > 0.05$). Jumlah nekrosis kardiomiosit pada kelompok pemberian IDS lebih tinggi sekitar 60% dibandingkan kelompok normal ($p < 0.05$). Efek perbedaan jumlah nekrosis kardiomiosit antar kelompok dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **Gambar 2**.





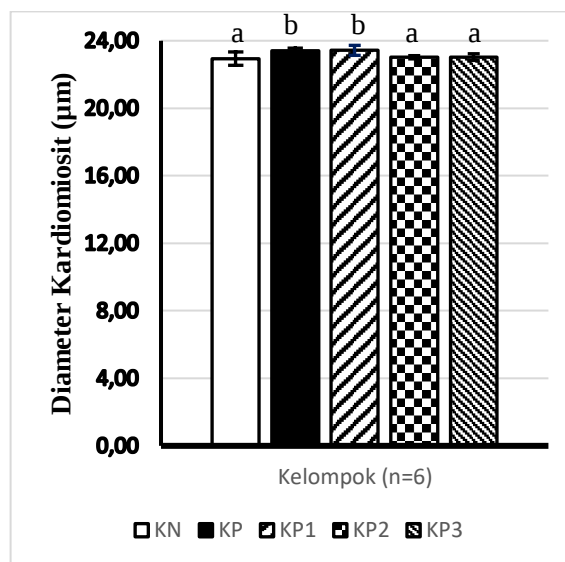
Gambar 2. Histogram jumlah nekrosis kardiomiosit tikus model obesitas yang telah diberikan infusa daun sirisak.

Keterangan: *a, b, c..... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)

Efek Infusa Daun Sirisak (IDS) Terhadap Diameter Kardiomiosit Jantung Tikus Model Obesitas

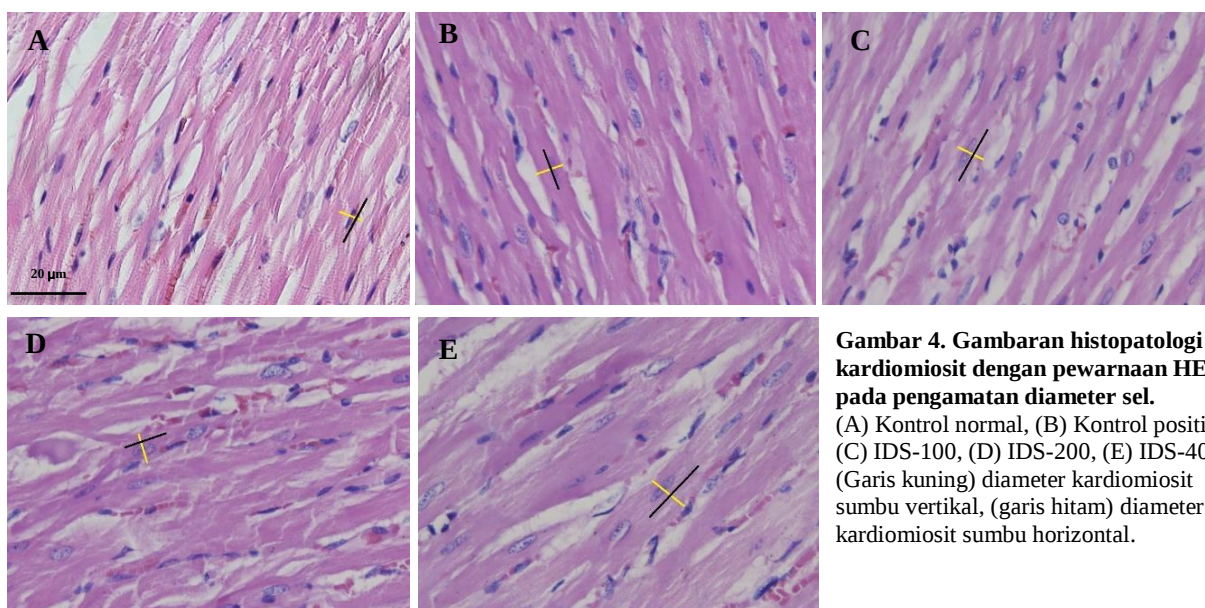
Pemberian diet TLTF pada KP secara signifikan meningkatkan diameter kardiomiosit sekitar 2% dibandingkan kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian IDS dosis 100 mg/kgBB (KP1) tidak mampu menurunkan diameter kardiomiosit dibanding KP, sedangkan pemberian IDS dosis 200 mg/kgBB (KP2) dan dosis 400 mg/kgBB (KP3) berbeda signifikan

menurunkan diameter kardiomiosit dengan persentase sekitar 2% dibandingkan KP ($p < 0,05$). Pemberian IDS berbeda tidak signifikan antara KP2 dan KP3 dalam menurunkan diameter kardiomiosit dengan efek terkuat pada dosis 200 mg/kgBB ($p > 0,05$). Efek perbedaan diameter kardiomiosit antar kelompok dapat dilihat pada **Gambar 3** dan **Gambar 4**.



Gambar 3. Histogram diameter kardiomiosit tikus model obesitas yang telah diberikan infusa daun sirisak.

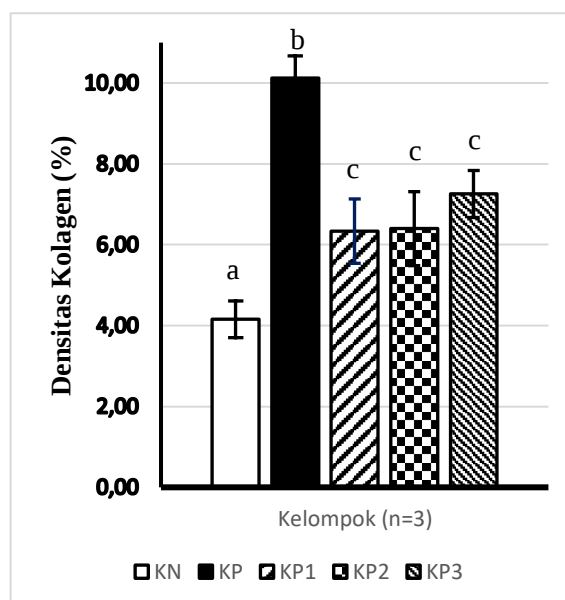
Keterangan: *a, b, c..... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)



Gambar 4. Gambaran histopatologi kardiomiosit dengan pewarnaan HE pada pengamatan diameter sel. (A) Kontrol normal, (B) Kontrol positif, (C) IDS-100, (D) IDS-200, (E) IDS-400. (Garis kuning) diameter kardiomiosit sumbu vertikal, (garis hitam) diameter kardiomiosit sumbu horizontal.

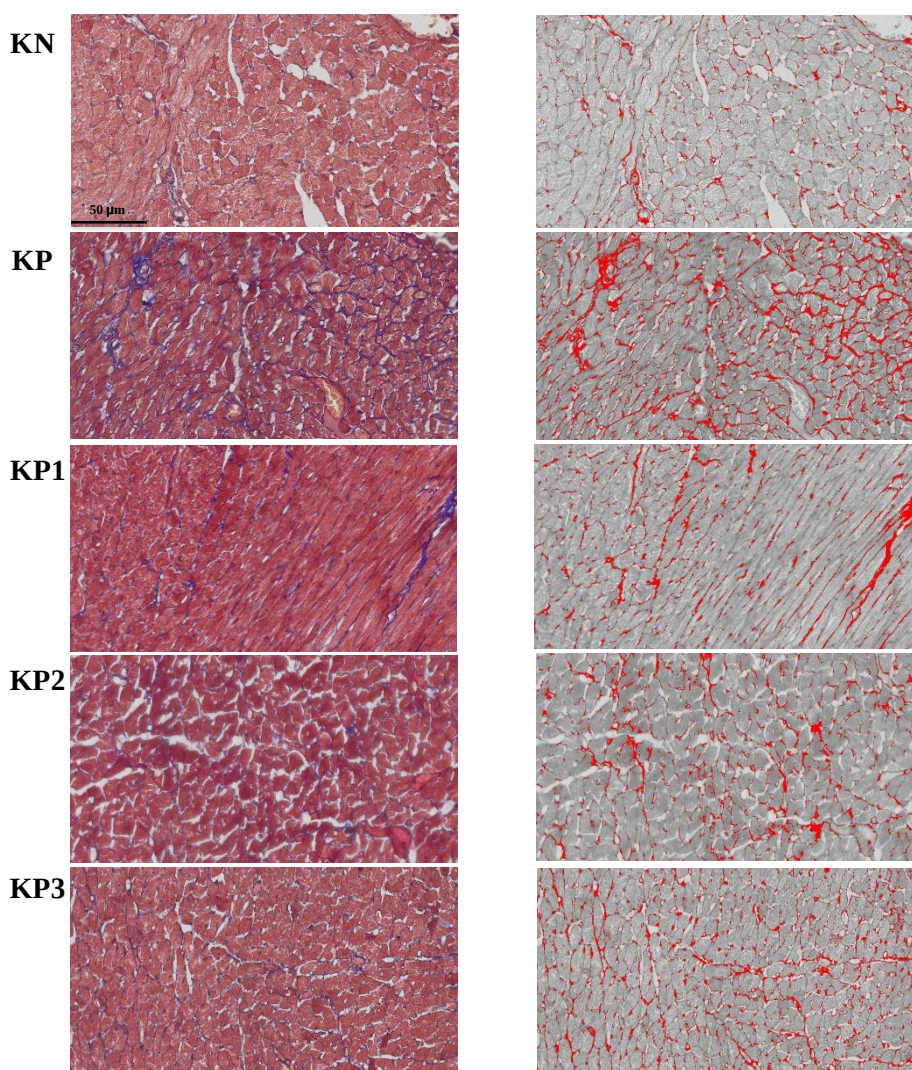
Efek Infusa Daun Sirsak (IDS) Terhadap Densitas Jaringan Ikat Kolagen Jantung Tikus Model Obesitas

Induksi obesitas dengan pemberian diet TLTF meningkatkan secara signifikan densitas kolagen jaringan jantung tikus sekitar 2,5 kali lipat dibandingkan kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian IDS dosis 100 mg/kgBB (KP1), 200 mg/kgBB (KP2) dan 400 mg/kgBB (KP3) berbeda signifikan menurunkan jumlah densitas kolagen jantung dengan persentase sekitar 35% dibandingkan KP ($p < 0,05$). Pemberian IDS berbeda tidak signifikan antar dosis dalam menurunkan jumlah densitas kolagen jantung tikus dengan efek terkuat pada dosis 100 mg/kgBB ($p > 0,05$). Jumlah densitas kolagen pada kelompok pemberian IDS lebih tinggi sekitar 65% dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$). Efek perbedaan jumlah densitas kolagen jantung tikus antar kelompok dapat dilihat pada **Gambar 5** dan **Gambar 6**.



Gambar 5. Histogram densitas jaringan ikat kolagen jantung tikus model obesitas yang telah diberikan infusa daun sirsak.

Keterangan: *a, b, c,.... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)



Gambar 6. Histopatologi Jantung Tikus Pewarnaan *Masson Trichrome* (200x, dengan mikroskop *DotSlide*)

Keterangan : Gambar 5 menunjukkan gambaran histologi jantung tikus dengan pewarnaan *Masson Trichrome* (kiri) dan penyesuaian *color threshold* (kanan) pada kelompok kontrol normal (KN), kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 (KP1), kelompok perlakuan 2 (KP2), dan kelompok perlakuan 3 (KP3).

PEMBAHASAN

Efek Induksi Diet TLTF Terhadap Jumlah Nekrosis Kardiomiosit, Diameter Kardiomiosit dan Densitas Jaringan Ikatan Kolagen Jantung Tikus Model Obesitas

Pemberian diet TLTF meningkatkan secara signifikan jumlah nekrosis kardiomiosit, diameter kardiomiosit dan densitas kolagen jantung dibanding KN ($p < 0,05$). Peningkatan tersebut terjadi karena adanya stres oksidatif dan sitokin proinflamasi yang meningkat akibat obesitas yang disebabkan oleh induksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa induksi diet TLTF menyebabkan peningkatan berat badan 108-137 g dengan berat badan awal tikus sekitar 190-215g¹⁵. Dalam penelitian Reed *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa hewan coba dikatakan mengalami obesitas jika terjadi peningkatan berat badan lebih dari 20% dari berat badan awal²³.

Pemberian diet TLTF meningkatkan signifikan jumlah nekrosis pada KP dibanding dengan KN ($p < 0,05$). Diet tinggi lemak dapat menginduksi terbentuknya ROS dan sitokin proinflamasi melalui mekanisme disfungsi jaringan adiposa yang memicu aktivasi makrofag. Selain itu, penumpukan lemak berlebih pada jaringan jantung juga dapat menyebabkan lipotoksitas sehingga akan membentuk sitokin proinflamasi¹. Adanya peningkatan ROS dan sitokin proinflamasi akan menyebabkan kerusakan dan kematian kardiomiosit. Peningkatan kadar *free fatty acid*, sitokin inflamasi, dan lipid dalam jaringan non-adiposa dapat menimbulkan terjadinya gangguan *signaling* reseptor insulin sehingga akan terjadi resistensi insulin²⁴. Terjadinya resistensi insulin akan menyebabkan kegagalan *uptake* glukosa, disfungsi mitokondria, aktivasi jalur alternatif metabolisme glukosa dan meningkatnya produksi ROS sehingga menyebabkan nekrosis kardiomiosit^{1,24}.

Pada penghitungan diameter kardiomiosit tikus peningkatan signifikan pada KP dibandingkan KN diduga karena diinduksi diet tinggi lemak tinggi fruktosa yang akan diubah menjadi trigliseraldehid yang merupakan bahan baku untuk metabolisme jantung²⁵. Penumpukan dari akumulasi lipid di jantung menyebabkan terjadinya lipotoksitas dan peningkatan stress oksidatif yang menstimulasi mitokondria secara berlebihan dan mengaktifkan mekanisme molekuler dari *remodelling* jantung²⁶.

Akumulasi radikal bebas selama oksidasi lipid menyebabkan kerusakan protein dan DNA, dimana hipofosforilasi dari protein titin pada jantung akan menghilangkan rem pada rangsangan prohipertrofik yang selanjutnya menginduksi hipertrofi kardiomiosit^{27,28}.

Namun diameter kardiomiosit KP sebesar $23,39 \pm 0,17 \mu\text{m}$ masih tergolong rendah dibandingkan *baseline* ukuran diameter kardiomiosit tikus normal (20-35 μm). Dalam penelitian Zhang *et al* (2016) menjelaskan bahwa pemberian diet tinggi fruktosa mampu menyebabkan peningkatan ukuran kardiomiosit dan hipertrofi jantung pada minggu ke 20 setelah perlakuan²⁹. Sedangkan dalam penelitian Huang *et al* (2016), menyebutkan bahwa pemberian induksi diet tinggi lemak tinggi fruktosa dapat menyebabkan *remodeling* dan hipertrofi kardiomiosit pada minggu ke 12 setelah perlakuan³⁰. Oleh karena hal tersebut dapat disimpulkan bahwa peningkatan diameter kardiomiosit dengan pemberian induksi diet TLTF selama 10 minggu pada penelitian ini belum mampu menginduksi terjadinya hipertrofi patologis dengan sebab rendahnya waktu pemberian diet TLTF dan perbedaan komposisi lemak pada diet TLTF yang kemungkinan masih terlalu rendah^{29,30}. Selain itu, kurangnya stimulasi yang menyebabkan secara langsung meningkatnya beban kerja jantung juga berpengaruh terhadap terjadinya hipertrofi kardiomiosit¹⁹.

Selain itu, Pemberian diet TLTF juga meningkatkan signifikan densitas jaringan ikatan kolagen jantung tikus pada KP dibanding KN ($p < 0,05$). Andersen *et.al* (2019) menjelaskan fibrosis miokard dapat disebabkan oleh banyak sebab seperti kondisi kelebihan tekanan pada dinding otot jantung, aktivitas neurohormonal, kematian kardiomiosit, stress oksidatif dan inflamasi³¹. Pada umumnya, mekanisme yang mendasari peningkatan densitas kolagen dipengaruhi oleh sel monosit dari reaksi inflamasi yang diinduksi diet TLTF. Selain mengeluarkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, monosit juga melepaskan *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) dan *Tumor Growth Factor* (TGF)- β yang dapat menyebabkan konversi fibroblas ke miofibroblas dan merangsang terbentuknya kolagen di ruang interstisial dengan menurunkan degradasi kolagen dan meningkatkan ekspresi gen matriks ekstraseluler yaitu α -smooth muscle actin (α -SMA)^{21,31}.

Efek Infusa Daun Sirsak (IDS) Terhadap Jumlah Nekrosis Kardiomyosit Jantung Tikus Model Obesitas

Pemberian infusa daun sirsak menghambat signifikan ($p < 0,05$) peningkatan jumlah nekrosis kardiomyosit pada tikus yang diinduksi diet TLTF. Hal tersebut disebabkan disebabkan karena adanya senyawa pada daun sirsak yang memiliki aktivitas antioksidan^{7,32}. Efek antioksidan pada daun sirsak merupakan efek secara tidak langsung terhadap penurunan jumlah nekrosis kardiomyosit yang diperankan oleh senyawa fenol dan flavonoid dengan menetralkan radikal bebas melalui oksidasi³³. Aktivitas penetralan radikal bebas akan menurunkan reaksi inflamasi yang mana akan dapat mencegah peningkatan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α sehingga mencegah terjadinya peningkatan jumlah nekrosis kardiomyosit^{33,34}. Selain itu, senyawa flavonoid juga bisa mencegah terbentuknya ROS pada mitokondria kardiomyosit sehingga dapat mengurangi terjadinya nekrosis sel³⁴.

Selain efek antioksidan, daun sirsak juga memiliki efek antiinflamasi^{7,35}. Efek antiinflamasi daun sirsak adalah efek langsung dalam mencegah peningkatan jumlah nekrosis kardiomyosit melalui senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu mencegah terbentuknya sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α ^{36,37}. Selain itu, daun sirsak juga mengandung senyawa quercetin (golongan flavonoid) yang dapat meningkatkan ikatan GLP-1 dengan GLP-1R di jaringan lemak sehingga akan menyebabkan peningkatan produksi cAMP di jaringan lemak. Peningkatan cAMP akan mengurangi ekspresi gen NF- κ B sehingga produksi sitokin pro inflamasi seperti IL-6, IL-1 β dan TNF- α akan menurun^{7,38,39}. Terdapat juga senyawa flavonoid golongan flavonon berupa naringenin dan hesperetin yang berperan dalam mengurangi pembentukan TNF- α jantung sehingga dapat mencegah peningkatan jumlah nekrosis kardiomyosit³⁶.

Dalam penelitian lain, menyebutkan bahwa senyawa aktif daun sirsak mampu meningkatkan produksi insulin tanpa peningkatan proliferasi sel beta pankreas dan mengaktifasi reseptor GLP-1 sehingga mampu menurunkan resistensi insulin^{12,40}. Secara molekular, penurunan terbentuknya TNF- α dapat menurunkan jumlah nekrosis kardiomyosit karena jumlah TNF- α yang sedikit sehingga tidak berikatan dengan TNFR-1 sehingga tidak akan menginduksi terjadinya nekrosis kardiomyosit. Penghambatan ekspresi sitokin proinflamasi memberikan kemungkinan bahwa senyawa flavonoid yang

terkandung dalam daun sirsak memiliki mekanisme kardio-protektif pada manusia^{41,42}. Pada penelitian Damayanti *et.al* (2020) menyebutkan bahwa infusa daun sirsak juga memiliki potensi dalam menghambat DPP4¹⁵. Penurunan DPP4 dapat menyebabkan menurunnya ikatan antara DPP4 dengan protein caveolin di sel makrofag yang berada di sel adiposit sehingga hal tersebut menyebabkan menurunnya sintesa sitokin proinflamasi⁴³.

Daun sirsak juga mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid yang dapat menurunkan profil lipid melalui mekanisme menghambat *HMG CoA-reductase*^{44,45}. Pada penderita obesitas, menurunnya profil lipid yang ada dalam tubuh akan menurunkan penumpukan lipid pada jaringan non-adiposa seperti otot jantung^{1,24}. Oleh karena itu, peningkatan terjadinya lipotoksitas juga menurun sehingga mencegah peningkatan nekrosis kardiomyosit melalui penurunan sitokin proinflamasi dan ROS yang dihasilkan^{44,46}.

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan tidak signifikan ($p > 0,05$) antar dosis IDS pada hewan coba tikus dalam menghambat peningkatan jumlah nekrosis kardiomyosit tikus model obesitas. Namun penurunan jumlah nekrosis berbanding lurus dengan peningkatan jumlah dosis infusa daun sirsak yang diberikan pada tikus sehingga memiliki kesan *dependent dose* yaitu peningkatan dosis disertai dengan peningkatan efek meskipun perbedaannya tidak signifikan dengan efek terkuat pada dosis 400 mg/kgBB. Kerusakan berupa nekrosis pada kardiomyosit disebabkan oleh aktivitas sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α serta aktivitas dari ROS⁷.

Efek Infusa Daun Sirsak (IDS) Terhadap Diameter Kardiomyosit Jantung Tikus Model Obesitas

Pemberian infusa daun sirsak pada KP2 dan KP3 mampu menurunkan diameter kardiomyosit secara signifikan ($p < 0,05$) sebesar 1,6 % dibanding KP. Daun sirsak memiliki aktivitas antihiperlipidemia yang diperankan oleh alkaloid dan flavonoid melalui penghambatan enzim *HMG-reductase* seperti yang dijelaskan sebelumnya⁴⁴. Dalam studi lain menyebutkan bahwa daun sirsak juga mengandung saponin dan alkaloid yang mampu menghambat kinerja enzim lipase pankreas, jika kerja enzim ini dihambat maka absorpsi lemak pada intestinal juga akan berkurang^{7,44}. Disebutkan juga dalam penelitian Maulana dan Indriyani *et al*, (2019) bahwa infusa daun sirsak

dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB mempunyai efek dalam menurunkan kadar LDL serum dan menaikkan kadar HDL serum serta menurunkan kadar kolesterol pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa selama 10 minggu¹⁴. Oleh karena itu dengan efek antihiperlipidemia ini, lemak yang terbentuk semakin sedikit dan kaskade patofisiologi hiperlipidemi pada obesitas yang mengarah ke penyempitan pembuluh darah sehingga meningkatkan tekanan darah dan pada akhirnya menyebabkan hipertropi kardiomiosit akan terhenti. Selain itu daun sirsak juga mengandung flavonoid yang memiliki efek antioksidan yang akan menetralkan dan mengurangi terbentuknya LDL teroksidasi dan meningkatkan kadar SOD sehingga mencegah terjadinya aterosklerosis, penyempitan pembuluh darah dan mencegah kerusakan protein dan DNA yang menginduksi hipertrofi kardiomiosit^{11,33}. Hal tersebut menjelaskan bagaimana kemampuan KP2 dan KP3 dalam menurunkan peningkatan diameter kardiomiosit dibandingkan KP.

Sedangkan, pada KP1 tidak mampu menurunkan peningkatan diameter kardiomiosit tikus dengan induksi diet TLTF. Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah dosis yang kurang pada KP1 menyebabkan kandungan senyawa aktif yang memiliki mekanisme antihiperlipidemi dan antioksidan masih rendah sehingga tidak mampu menghambat peningkatan diameter kardiomiosit⁴⁷. Hal tersebut menjelaskan mengapa KP1 tidak mampu dalam menurunkan peningkatan diameter kardiomiosit dibandingkan KP.

Efek Infusa Daun Sirsak (IDS) Terhadap Densitas Jaringan Ikat Kolagen Jantung Tikus Model Obesitas

Pada penelitian ini, pemberian infusa daun sirsak pada semua dosis dapat menghambat peningkatan densitas kolagen jantung pada tikus dengan induksi diet TLTF secara signifikan dibanding KP ($p < 0,05$). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Usunobun *et al* (2016) yang menjelaskan bahwa kandungan acetogenin, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan vitamin C dalam daun sirsak mampu poten dalam menekan terbentuknya fibrosis di liver melalui penekanan akumulasi matriks ekstraseluler, meningkatkan stabilitas membran lisosom dan kemampuan sintesis hati⁴⁸. Sementara itu dalam penelitian Balderrama *et al* (2008) menyebutkan bahwa kandungan polifenol mampu meregulasi profil lipid dan menurunkan fibrosis hepar^{7,34}.

Pada daun sirsak juga terdapat aktivitas

antidoksidan dan antiinflamasi seperti yang dijelaskan sebelumnya. Efek antioksidan dan antiinflamasi juga diperankan oleh senyawa flavonoid^{7,33}. Dengan adanya mekanisme antioksidan dan antiinflamasi maka dapat mengatasi faktor pemicu terjadinya fibrotik matriks ekstraseluler pada jaringan jantung, faktor pemicunya seperti oxidative stress, inflamasi, adanya sitokin profibrotik dan kematian kardiomiosit³¹. Mekanisme flavonoid yang bertindak sebagai antiinflamasi adalah dengan menghambat aktivitas *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) yang selanjutnya menghambat adhesi monosit dan proses inflamasi yang lebih lanjut^{37,41}.

Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antar dosis infusa daun sirsak yang diberikan dalam menghambat peningkatan densitas jaringan ikat kolagen jantung tikus dengan efek terkuat pada dosis 100 mg/kgBB atau kelompok perlakuan 1 (KP1). Hal ini diduga terjadi karena adanya kandungan flavonoid yang berlebihan pada IDS dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB yang bertindak sebagai pro-oksidan sehingga memicu peningkatan radikal bebas serta peningkatan kadar sitokin inflamasi seperti TNF- α di jantung⁴⁹. Peningkatan radikal bebas dan sitokin inflamasi memicu terbentuknya fibrotik matriks ekstraseluler di jantung. Pada penelitian ini didapatkan kesan *non-dependent dose* karena tidak adanya peningkatan efek yang menyertai peningkatan dosis yang diberikan pada hewan coba tikus. Hal ini terjadi kemungkinan karena terdapat senyawa yang kompleks dan multikomponen pada daun sirsak yang memiliki berbagai mekanisme kerja sehingga peningkatan dosis tidak disertai peningkatan efek^{7,36}.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa:

1. Induksi diet TLTF meningkatkan jumlah nekrosis kardiomiosit, diameter kardiomiosit dan densitas jaringan ikat kolagen jantung dibanding kontrol normal.
2. Pemberian infusa daun sirsak dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan menghambat peningkatan jumlah nekrosis kardiomiosit dengan efek paling kuat terdapat pada dosis 400 mg/kgBB.
3. Pemberian infusa daun sirsak dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan mampu menghambat peningkatan diameter kardiomiosit, sedangkan dosis 100 mg/kgBB tidak

mampu menghambat peningkatan diameter kardiomiosit.

4. Pemberian infusa daun sirsak 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan menghambat peningkatan densitas jaringan ikat kolagen pada jantung dengan efek paling kuat terdapat pada dosis 100 mg/kgBB.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan bahwa:

1. Melakukan penelitian dengan induksi diet TLTF dengan komposisi yang lebih tinggi serta pemberian yang lebih lama yaitu lebih dari 10 minggu.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan induksi infusa daun sirsak dengan jarak antar dosis yang sedikit agar mengetahui kadar dosis yang lebih spesifik terjadinya efek dari infusa daun sirsak.
3. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur tekanan darah pada tikus model obesitas untuk mengetahui perubahan dari diameter kardiomiosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kemendikbudristek yang telah membantu mendanai mulai awal sampai akhir pengerjaan tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2021;E984–1010.
2. Kementerian Kesehatan RI. Epidemi Obesitas. *Jurnal Kesehatan*. 2018. p. 1–8.
3. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*. 2017;377(1):13–27.
4. Riehle C, Abel ED. Insulin Signaling and Heart Failure. *Circ Res*. 2016;118(7):1151–69.
5. Beverly HL, Carabello BA. Left Ventricular Hypertrophy Pathogenesis, Detection, and Prognosis. *Circulation*. 2000;102:470–9.
6. Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, Nakou ES, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Orlistat-associated adverse effects and drug interactions: A critical review. *Drug Saf*. 2008;31(1):53–65.
7. Coria-Téllez A V, Montalvo-González E, Yahia EM, Obledo-Vázquez EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arab J Chem*. 2018;11(5):662–91.
8. Adhi Suastuti N, Panca Dewi I, Ariati N. Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Untuk Memperbaiki Kerusakan Sel Beta Pankreas Melalui Penurunan Kadar Glukosa Darah, Advanced Glycation and Product Dan 8-Hidroksi-2-Dioksiguanosin Pada Tikus Wistar Hiperglikemia. *J Kim*. 2015;9(2):289–95.
9. Asmonie C. Efek Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Yang Dibebani Glukosa. 2014. Universitas Tanjungpura; 2013.
10. Esmawati E. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Allkosan. *Univ Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2015;1–8.
11. Thrisnadia S, Damayanti DS, Falyani SA. Efek Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (Sod) Dan Malondialdehid (Mda) Jaringan Ginjal Kanan Tikus Wistaryang Diinduksidiet Tinggi Lemak Dan Tinggi. *Bio Komplementer Med [Internet]*. 2019;6(3). Available from: riset.unisma.ac.id
12. Damayanti DS, Kusuma C, Soeadmadji DW. The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on in silico analysis. 2019;
13. Yuniarti L, Dewi MK, Lantika UA, Bhatara T. Potensi Ekstrak Air Daun Sirsak sebagai Penurun Kolesterol dan Pengendali Bobot Badan. *Acta Vet Indones*. 2016;4(2):82–7.
14. Maulana A, Lestari RD, Damayanti DS. Efek Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata*) Pada Kadar Ldl Dan Hdl Serum Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang

- Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa. *J Kedokt Komunitas*. 2019;7(1):117–23.
15. Damayanti DS. Efek Pemberian Ekstrak Air Daun Sirsak (*Annona muricata*) Mencegah Resistensi Insulin Melalui Penghambatan Dpp4 Pada Tikus Wistar Jantan. *Univ Brawijaya*. 2020;330.
 16. Ariyadi T, Suryono H. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *J Labora Med*. 2017;1(1):7–11.
 17. Medical Center U. Masson trichrome stain. University of Rochester. 2020;(Ems 15510):0–2.
 18. Nurasidah R, Elyani H, Purnomo Y. Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus Manihot* (L.) Medik) Terhadap Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) Ginjal Dan Jumlah Nekrosis Sel Epitel Glomerulus Ginjal Pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. *J Bio Komplementer Med*. 2020;7(2):1–11.
 19. Sulistyowati E, Hsu JH, Cheng Y Bin, Chang FR, Chen YF, Yeh JL. Indonesian herbal medicine prevents hypertension-induced left ventricular hypertrophy by diminishing NADPH oxidasedependent oxidative stress. *Oncotarget*. 2017;8(49):86784–98.
 20. Tracy RE, Sander GE. Histologically measured cardiomyocyte hypertrophy correlates with body height as strongly as with body mass index. *Cardiol Res Pract*. 2011;1(1).
 21. Li W, Tang R, Ouyang S, Ma F, Liu Z, Wu J. Folic acid prevents cardiac dysfunction and reduces myocardial fibrosis in a mouse model of high-fat diet-induced obesity. *Nutr Metab*. 2017;14(1):1–9.
 22. Loganathan R, Bilgen M, Al-Hafez B, Smirnova I V. Characterization of alterations in diabetic myocardial tissue using high resolution MRI. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2006;22(1):81–90.
 23. Reed DR, Duke FF, Ellis HK, Rosazza MR, Lawler MP, Alarcon LK, et al. Body fat distribution and organ weights of 14 common strains and a 22-strain consomic panel of rats. *Physiol Behav*. 2011;103(5):523–9.
 24. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017;376(3):254–66.
 25. Prahastuti S. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia Consuming Excessive Amount of Fructose may Affect Our Health. *Jkm*. 2011;10(2):173–89.
 26. Ter Horst KW, Serlie MJ. Fructose consumption, lipogenesis, and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 2017;9(9):1–20.
 27. Dickhout JG, Carlisle RE, Austin RC. Interrelationship between cardiac hypertrophy, heart failure, and chronic kidney disease: Endoplasmic reticulum stress as a mediator of pathogenesis. *Circ Res*. 2011;108(5):629–42.
 28. Fang CX, Dong F, Thomas DP, Ma H, He L, Ren J. Hypertrophic cardiomyopathy in high-fat diet-induced obesity: Role of suppression of forkhead transcription factor and atrophy gene transcription. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2008;295(3):1206–15.
 29. Zhang YB, Meng YH, Chang S, Zhang RY, Shi C. High fructose causes cardiac hypertrophy via mitochondrial signaling pathway. *Am J Transl Res*. 2016;8(11):4869–80.
 30. Huang J-P, Cheng M-L, Wang C-H, Shiao M-S, Chen J-K, Hung L-M. High-fructose and high-fat feeding correspondingly lead to the development of lysoPC-associated apoptotic cardiomyopathy and adrenergic signaling-related cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol*. 2016 Jul;215:65–76.
 31. Andersen S, Nielsen-Kudsk JE, Vonk Noordegraaf A, De Man FS. Right Ventricular Fibrosis: A Pathophysiological Factor in Pulmonary Hypertension? *Circulation*. 2019;139(2):269–85.
 32. Bhardwaj R, Pareek S, Sagar NA, Vyas N. Bioactive Compounds of *Annona*. Springer Nat Switz [Internet]. 2019;37–62. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_5-1
 33. A. Makuasa DA, Ningsih P. The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods. *J Appl Sci Eng Technol Educ*. 2020;2(1):11–7.
 34. Balderrama-Carmona AP, Silva-Beltrán NP, Gálvez-Ruiz JC, Ruíz-Cruz S, Chaidez-Quiroz C, Morán-Palacio EF. Antiviral, antioxidant, and antihemolytic effect of *annona muricata* L. Leaves extracts. *Plants*. 2020;9(12):1–11.
 35. Ishola IO, Awodele O, Olusayero AM, Ochieng CO. Mechanisms of analgesic and

- anti-inflammatory properties of annona muricata linn. (Annonaceae) fruit extract in rodents. *J Med Food*. 2014;17(12):1375–82.
36. Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *Int J Mol Sci*. 2015;16(7):15625–58.
 37. Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity & inflammation: The linking mechanism & the complications. *Arch Med Sci*. 2017;13(4):851–63.
 38. Moghadamtousi SZ, Rouhollahi E, Karimian H, Fadaeinasab M, Firoozinia M, Abdulla MA, et al. The chemopotential effect of annona muricata leaves against azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats and the apoptotic effect of acetogenin annomuricin e in HT-29 cells: A bioassay-guided approach. *PLoS One*. 2015;10(4):1–28.
 39. Al-Dwairi A, Alqudah TE, Al-Shboul O, Alqudah M, Mustafa AG, Alfaqih MA. Glucagon-like peptide-1 exerts anti-inflammatory effects on mouse colon smooth muscle cells through the cyclic adenosine monophosphate/ nuclear factor- κ B pathway in vitro. *J Inflamm Res*. 2018;11:95–109.
 40. Damayanti DS, Kusuma HC, Nurdiana, Soeatmadji DW. Soursop (*Annona Muricata*) Leaf Water Extract (SLWE) Prevent Pancreatic B-Cell Damage in Male Wistar Rats Induced By High Fat and High Fructose (HFHF) Diet. *Int J Diabetes Metab Disord*. 2019;1–8.
 41. Poma E, Requis E, Gordillo G, Fuertes C. Estudio Fitoquímico Y Actividad Antiinflamatoria De La *Annona Muricata* L. (Guanábana) De Cuzco Phytochemical Study And Anti-Inflammatory Activity Of *Annona Muricata* L. (Soursop) From Cuzco. *Cienc Invest*. 2011;14(2):29–33.
 42. Fioranelli M, Roccia MG, Flavin D, Cota L. Regulation of inflammatory reaction in health and disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(10):1–13.
 43. Zhong J, Rao X, Deiuliis J, Braunstein Z, Narula V, Hazey J, et al. A potential role for dendritic cell/macrophage-expressing DPP4 in obesity-induced visceral inflammation. *Diabetes*. 2013;62(1):149–57.
 44. Hafidz KA, Puspitasari N, Azminah, Yanuar A, Artha Y, Mun'im A. HMG-CoA reductase inhibitory activity of Gnetum Gnemon seed extract and identification of potential inhibitors for lowering cholesterol level. *J Young Pharm*. 2017;9(4):559–65.
 45. Rochima NA, Hakim R, Damayanti DS. Ekstrak Etanol Dsun Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai Pengaktif LDL Receptor dan Penghambat HMG-CoA Reductase secara insilico. *J Kedokt Komunitas*. 2021;1–11.
 46. Savini I, Gasperi V, Catani MV. Oxidative Stress and Obesity. *Springer Int Publ Switz*. 2016;(January).
 47. Trindade RCP, de Souza Luna J, de Lima MRF, da Silva PP, Santana AEG. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Rev Colomb Entomol*. 2011;37(2):223–7.
 48. Usunobun U, Okolie N. *Annona muricata* prevent hepatic fibrosis by enhancing lysosomal membrane stability and suppressing extracellular matrix protein accumulation. *Int J Med*. 2016;4(1):10.
 49. Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med*. 2000;29(3–4):375–83.