

EFEK EKSTRAK AIR DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP HISTOLOGI ILEUM TIKUS PADA TIKUS MODEL OBESITAS

Nur Afif Maulana, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Konsumsi dari tinggi lemak dan tinggi fruktosa menjadi salah satu faktor terjadinya obesitas yang berkontribusi dalam perubahan flora normal di usus yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada Ileum serta menjadi faktor predisposisi dari terjadinya penyakit degeneratif. Daun sirsak mempunyai kandungan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan anti inflamasi yang mampu menekan reaksi inflamasi dan perubahan flora normal intestinal. Penelitian ini guna untuk mengetahui efek pemberian infusa daun sirsak (IDS) pada Ileum tikus model obesitas dengan diet TLTF melalui derajat infiltrat, nekrosis sel intestinal dan luas kerusakan pada tikus dengan diet TLTF.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian dengan design *post test only* dengan kelompok kontrol dengan hewan coba tikus wistar yang dibagi dalam 5 kelompok (n=5) yang diinduksi diet TLTF dan IDS selama 10 minggu, masing-masing kelompok yaitu, kelompok normal (KN), kelompok perlakuan (KP) dan kelompok IDS dosis I (100 mg/kgBB), II (200 mg/kgBB) dan III (400 mg/kgBB). Hewan coba dikorbankan serta diambil Ileum tikus kemudian dibuat sediaan histologi menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* kemudian diamati menggunakan mikroskop trinokuler pada perbesaran 100x. Dilakukan pengamatan terhadap derajat infiltrat, derajat nekrosis dan luas kerusakan vili pada ileum tikus. Data dianalisa menggunakan *Oneway ANOVA* atau *Kruskal wallis* diikuti uji *LSD* atau *Mann Whitney* dengan $p < 0,05$ bernilai signifikan.

Hasil: Pemberian IDS dosis 1, 2 dan 3 secara signifikan menurunkan derajat infiltrat sel radang, nekrosis dan luas kerusakan vili pada Ileum tikus ($p=0,00$, $p=0,00$ dan $p=0,01$). Terdapat penurunan derajat infiltrat pada pemberian IDS dosis 400 (K3) dibandingkan kontrol perlakuan (KP) sebesar 66%. Terdapat penurunan derajat nekrosis pada pemberian IDS dosis 400 (K3) dibandingkan kontrol perlakuan (KP) sebesar 76%.

Kesimpulan: IDS mampu menurunkan derajat infiltrat, derajat nekrosis dan menurunkan luas kerusakan Ileum tikus yang diinduksi diet TLTF.

Kata Kunci: Daun Sirsak, Diet TLTF, Derajat Infiltrat, Derajat Nekrosis, Luas Kerusakan Ileum

*korespondensi:

Dini Sri Damayanti

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

EFFECT OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAF WATER EXTRACT ILEUM HISTOLOGY IN OBESITY MODEL RATS

Nur Afif Maulana, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Consumption of high fat and high fructose is a factor in obesity, which contributes to changes in the normal microbiome in the intestine, causing inflammation and damage to the ileum and predisposing to degenerative diseases. Soursop leaves contain flavonoids that have potential as antioxidants and anti-inflammatories that can suppress inflammatory reactions and prevent changes in normal flora of intestine. This study aims to determine the effect of soursop leaf infusion (IDS) on the Ileum of obese model rats with TLTF diet through the degree of infiltrates, intestinal cell necrosis and the extent of villi damage in rats

Methods: This study uses a post test only design and control group with Wistar rats divided into 5 groups, normal group (KN), positive group (KP) and IDS group doses I (100 mg/kgBB), II (200 mg/kgBB) and III (400 mg/kgBB) each group consists of 5 animals induced by TLTF and IDS diet for 10 weeks. The animals were sacrificed and the ileum of the rats was taken and histological preparations were made with *Hematoxylin Eosin* staining and then observed using a trinocular microscope at 100x magnification. Then observations were made on the degree of infiltrates, the degree of necrosis and the extent of villous damage in the ileum of the rats. Data obtained were analysed using *Oneway ANOVA* or *Kruskal wallis* followed by *LSD* or *Mann Whitney* test and $p < 0.05$ was considered significant.

Results: IDS doses 1, 2 and 3 significantly reduced the degree of inflammatory cell infiltrates, necrosis and the area of villous damage in the ileum of rats ($p=0.00$, $p=0.00$ and $p=0.01$). There was a decrease in the degree of infiltrate in the administration of IDS dose 400 (K3) compared to the positive control (KP) by 66%. There was a decrease in the degree of necrosis in the 400 dose of IDS (K3) compared to the positive control (KP) by 76%.

Conclusion: IDS was able to reduce the degree of infiltrate, degree of necrosis and inhibited reducing the area of Ileum damage of rats induced by high-fat, high-fructose diet.

Keywords: Soursop Leaf, TLTF Diet, Degree of Infiltrate, Degree of Necrosis, Area of Ileum Damage

*Correspondence author:

Dini Sri Damayanti

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Obesitas merupakan kondisi peningkatan berat badan berlebih atau BMI yang melebihi atau sama dengan 30 Kg/m². Sejak tahun 1975 hingga 2016 terjadi peningkatan angka obesitas sebesar tiga kali lipat di seluruh dunia. Di Indonesia, orang dewasa diatas usia 18 tahun 28,7% mengalami obesitas.¹ Faktor pencetus terjadinya obesitas bersifat multifaktoral. Obesitas dapat disebabkan oleh faktor keturunan, faktor ekonomi, faktor sosial, usia, jenis kelamin, peningkatan konsumsi makanan cepat saji dan rendahnya aktifitas fisik.² Konsumsi diet TLTF menjadi salah satu pemicu terjadinya obesitas, peningkatan kadar gula darah dan peningkatan kadar *triglyceride* (TG). Peningkatan TG dapat meningkatkan akumulasi lemak pada jaringan hepar dan meningkatkan risiko penyakit Diabetes Mellitus.³

Diet tinggi lemak tinggi glukosa dapat menyebabkan terjadinya perubahan jumlah berbagai jenis bakteri normal flora di ileum yang mengakibatkan disbiosis mikrobiota. Disbiosis mikrobiota merupakan faktor dari terjadinya penyakit-penyakit akibat terjadinya inflamasi kronis seperti *inflammatory bowel disease* (IBD), Kolitis ulseratif (UC) dan *Crohn's disease* (CD). Diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan pembentukan *free fatty acid* di enterosit dan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas serta disfungsi mitokondria. Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan reaksi inflamasi melalui aktivasi makrofag di jaringan yang menyebabkan sintesa dari mediator inflamasi seperti TNF α dan IL-1 β .^{4,5} Tingginya mediator inflamasi dan radikal bebas menyebabkan kerusakan pada protein *tight junction* interseluler epitel ileum, dan memicu infiltrasi sel radang di mucosa ileum sehingga menyebabkan nekrosis jaringan epitel ileum.^{4,6,7}

Tanaman herbal daun sirsak selama ini digunakan sebagai obat tradisional sebagai obat anti hipertensi, anti hiperglikemi, anti kolesterol, antioksidan dan anti inflamasi.⁸ Daun sirsak memiliki senyawa acetogenin, flavonoid, terpenoid, fenol, tannin dan saponin.⁹ Beberapa senyawa tersebut memiliki peran sebagai antioksidan¹⁰, antibakteri¹¹ dan anti inflamasi¹². Ekstrak air daun sirsak berperan dalam menurunkan kadar TNF α , DPP-4 dan meningkatkan kadar leptin.¹³ Penelitian yang dilakukan shafira, 2018 menunjukkan efek ekstrak air daun sirsak mempunyai efek antioksidan melalui peningkatan kadar *Superoxide Dismutase* dan menurunkan kadar *Malondialdehid*.¹⁴ Efek IDS juga dapat memperbaiki kadar lemak dalam darah dengan meningkatkan konsentrasi HDL dan menurunkan konsentrasi LDL pada tikus wistar induksi diet TLTF.¹⁵

Berdasarkan fakta diatas, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian IDS dalam memperbaiki disbiosis ileum pada tikus model obesitas melalui pengamatan terhadap perubahan histologi ileum berdasarkan

derajat infiltrat, nekrosis sel epitel mukosa usus dan luas kerusakan vili pada Ileum tikus model obesitas.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian *quasi* eksperimental dengan desain penelitian menggunakan *posttest only* dengan kelompok kontrol. Penelitian ini menggunakan sisa jaringan berupa Ileum tikus dari penelitian Damayanti *et al.*, (2019) dengan kelayakan etik No.110/EC/KEPK-S3/04/2018.¹⁶

Waktu penelitian dilaksanakan sejak Juni hingga September 2021. Tempat pembuatan slide histologi dengan *Hematoxylin Eosin* dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Tirtosari sedangkan pemeriksaan parameter dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA).¹⁶

Sampel Penelitian

Sampel merupakan bahan biologis tersimpan berupa dari organ Ileum tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*) yang berjumlah 30 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok, Kelompok normal (KN) yaitu kelompok dengan diet normal, Kelompok perlakuan (KP) yaitu kelompok positif yang diinduksi diet TLTF tanpa diberi IDS, Kelompok perlakuan K1 yaitu kelompok yang diinduksi diet TLTF dan diberi IDS dosis 100 mg/KgBB, Kelompok perlakuan K2 yaitu kelompok tikus yang diinduksi diet TLTF dan diberi IDS dosis 200 mg/KgBB dan Kelompok perlakuan K3 yaitu kelompok tikus yang diinduksi diet TLTF dan diberi IDS dosis 400 mg/KgBB. Pemberian diet TLTF dan infusa daun sirsak dilakukan selama 10 minggu melalui sonde per-oral.

Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Hewan coba dikorbankan dalam kondisi telah teranastesi dan dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan Ileum. Preparat jaringan usus dipotong tipis dengan ketebalan 4 μ m kemudian dilakukan deparafinisasi dengan tujuan menghilangkan parafin pada jaringan dengan memasukan preparat kedalam larutan xylol selama ± 3 menit. Kemudian tahap rehidrasi dilakukan bertujuan untuk mengisi air pada rongga jaringan yaitu dengan memasukkan preparat kedalam larutan dengan konsentrasi alkohol 80%, 90% dan 100% selama sekitar 2 menit. Setelah itu dibilas menggunakan *aquades* selama ± 3 menit. Tahap pewarnaan pertama bertujuan untuk memberikan warna terhadap inti sel serta sitoplasma sel dengan menggunakan *hematoxylin* selama 7 menit. Tahap deferensiasi bermaksud untuk menghilangkan serta mengurangi warna pada sitoplasma sel dan inti sel menggunakan HCL dengan konsentrasi 0,6%. Tahap *Blueing* bermaksud untuk memperjelas warna yang terdapat pada inti sel menggunakan lithium carbonat dengan konsentrasi 0,5%. Tahap berikutnya, pewarnaan kedua memakai pewarnaan eosin bermaksud untuk memberi warna merah pada

sitoplasma. Kemudian proses dehidrasi bertujuan mengeliminasi air dari jaringan preparat menggunakan alkohol 80%, 90% dan 100%.¹⁷

Penghitungan Derajat Infiltrat Ileum

Preparat yang telah melalui pewarnaan HE dilanjutkan dengan pengamatan pada struktur jaringan ileum (mukosa, submukosa dan transmural) yang mengalami infiltrat dengan pengamatan pada 5 lapang pandang pada perbesaran 100x menggunakan mikroskop trinokuler Olympus serta gambar diambil menggunakan *Dot Slide Microscope* lalu dilakukan pengukuran perluasan ekspansi leukosit dan diamati oleh 3 pengamat untuk mengurangi subjektifitas peneliti. Kategori derajat infiltrat adalah sebagai berikut:

- 0: tidak ada perubahan yang diamati
- 1: ekspansi infiltrat leukosit pada mukosa
- 2: ekspansi infiltrat leukosit pada mukosa dan submucosa
- 3: ekspansi infiltrat leukosit pada mukosa, submucosa dan transmural

Kemudian hasil perhitungan dari 3 pengamat dilakukan analisis data.¹⁸

Penghitungan Nekrosis Epitel Ileum

Preparat yang telah melalui pewarnaan HE dilanjutkan dengan pengamatan pada struktur vili dari ileum yang mengalami nekrosis dengan pengamatan pada 5 lapang pandang pada perbesaran 100x menggunakan mikroskop trinokuler Olympus serta gambar diambil menggunakan *Dot Slide Microscope* lalu dilakukan pengukuran derajat nekrosis yang diamati oleh 3 pengamat untuk mengurangi subjektifitas peneliti. Kategori derajat nekrosis adalah sebagai berikut :

- 0: vili tampak utuh
- 1: kerusakan pada epitel vili terjauh dari kripte
- 2: kerusakan villi diantara bagian terjauh vili dan kripte
- 3: kerusakan vili mencapai kripte
- 4: kerusakan vili total

Kemudian hasil perhitungan dari 3 pengamat dilakukan analisis data.¹⁴

Perhitungan Luas Kerusakan Ileum

Preparat yang telah melalui pewarnaan HE dilanjutkan pengamatan pada mukosa ileum dan menghitung luas villi yang mengalami nekrosis dan vili yang mengalami *Blunting* pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 100x dibawah mikroskop trinokuler Olympus dan dilakukan Pengambilan gambar menggunakan *Dot Slide Microscope* lalu dilakukan pengukuran luas kerusakan vili yang mengalami *blunting* dan vili yang mengalami nekrosis epitel yang tidak intact dengan menggunakan bantuan dari aplikasi *ImageJ* dan diamati oleh 3 pengamat untuk mengurangi

subjektifitas peneliti. Perhitungan luas kerusakan berdasarkan luas vili yang mengalami *hyperplasia* dan luas vili yang tidak intact akibat nekrosis. Kemudian hasil perhitungan 3 pengamat dirata-rata untuk mendapatkan hasilnya.¹⁸ mikroskop trinokuler Olympus dan dilakukan Pengambilan gambar menggunakan *Dot Slide Microscope* lalu dilakukan pengukuran luas kerusakan vili yang mengalami *blunting* dan vili yang mengalami nekrosis epitel yang tidak intact dengan menggunakan bantuan dari aplikasi *ImageJ* dan diamati oleh 3 pengamat untuk mengurangi subjektifitas peneliti. Perhitungan luas kerusakan berdasarkan luas vili yang mengalami *hyperplasia* dan luas vili yang tidak intact akibat nekrosis. Kemudian hasil perhitungan 3 pengamat dirata-rata untuk mendapatkan hasilnya.¹⁸

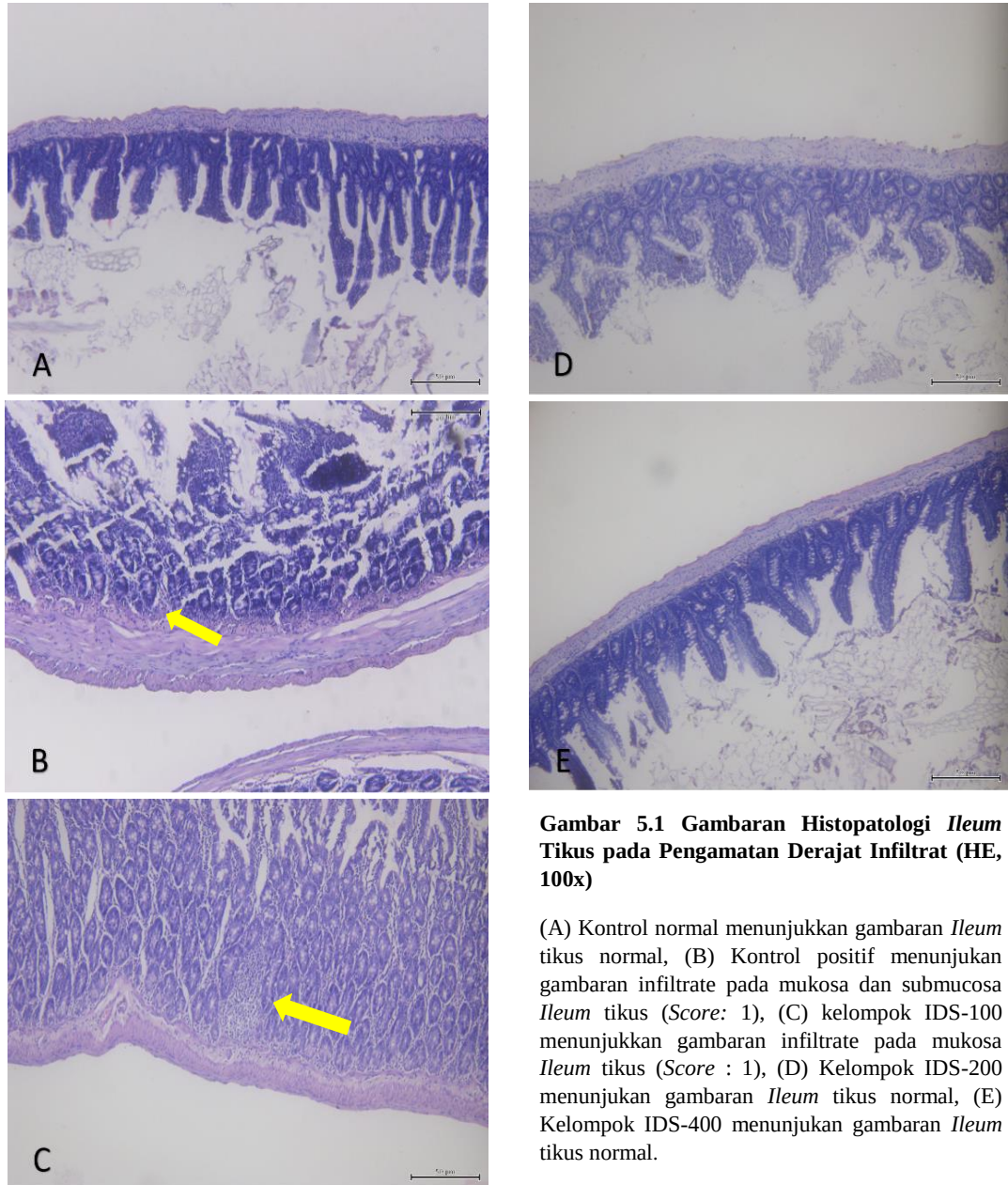
Teknik Analisa Data

Data dituliskan dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD dan persentase. Menggunakan Uji *Saphiro Wilk* ($p>0,05$) bertujuan untuk mengetahui normalitas dan homogenitas untuk menilai sebaran data dalam masing-masing kelompok. Kemudian data dianalisa dengan uji *Oneway ANOVA* dan nilai signifikansi $p<0,05$ untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Kemudian dilakukan uji *posthoc test* dengan *LSD (Least Significance Different)* untuk mengetahui nilai signifikansi antar kelompok ($p<0,05$). Jika terdapat distribusi data yang tidak normal dan/atau tidak homogen maka dilanjutkan dengan analisa data non parametrik menggunakan *kruskal-wallis* dan nilai signifikansi $p<0,05$ diikuti *posthoc test* untuk menilai perbedaan antar masing-masing kelompok, dilakukan uji *Mann whitney* ($p<0,5$). Analisis data menggunakan SPSS versi 25.¹⁹

HASIL DAN ANALISA DATA

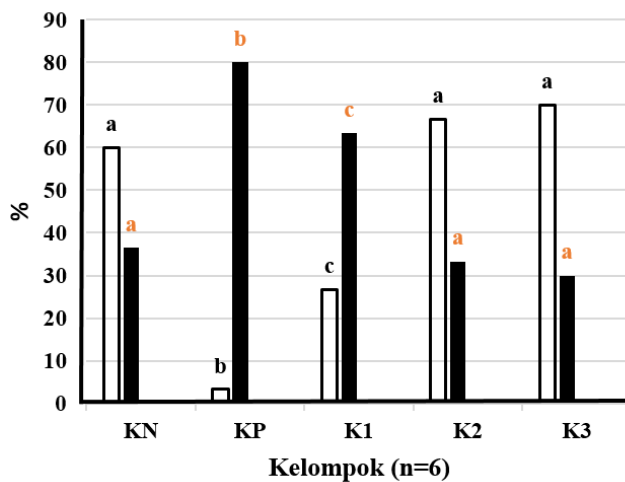
Hasil Perhitungan Derajat Infiltrate

Hasil analisa kruskal wallis pada penelitian derajat infiltrat *Ileum* tikus dengan pemberian diet TLTF didapatkan hasil perbedaan derajat infiltrat yang signifikan ($p=0,00$). Kemudian dengan uji *Mann-whitney* menunjukkan terjadi perbedaan yang signifikan pada kelompok normal (KN) dibandingkan kelompok perlakuan (KP). Pemberian IDS dosis 100 (K1), IDS dosis 200 (K2), dan IDS dosis 400 (K3) dibandingkan dengan kontrol perlakuan (KP) secara signifikan dapat menurunkan derajat infiltrat sel radang pada *Ileum* tikus ($p=0,03$, $p=0,00$ dan $p=0,00$). Pemberian IDS berbeda tidak signifikan antar dosis IDS 200 dan IDS 400 ($p=0,58$) sedangkan pemberian IDS dosis 100 dibandingkan dosis 200 maupun 400 berbeda signifikan yaitu berturut-turut, $p=0,00$ dan $p=0,00$. Efek perbedaan derajat infiltrat antar kelompok dapat diamati pada **Gambar 5.1** dan **Gambar 5.2**.



Gambar 5.1 Gambaran Histopatologi *Ileum* Tikus pada Pengamatan Derajat Infiltrat (HE, 100x)

(A) Kontrol normal menunjukkan gambaran *Ileum* tikus normal, (B) Kontrol positif menunjukkan gambaran infiltrate pada mukosa dan submukosa *Ileum* tikus (Score: 1), (C) kelompok IDS-100 menunjukkan gambaran infiltrate pada mukosa *Ileum* tikus (Score : 1), (D) Kelompok IDS-200 menunjukkan gambaran *Ileum* tikus normal, (E) Kelompok IDS-400 menunjukkan gambaran *Ileum* tikus normal.



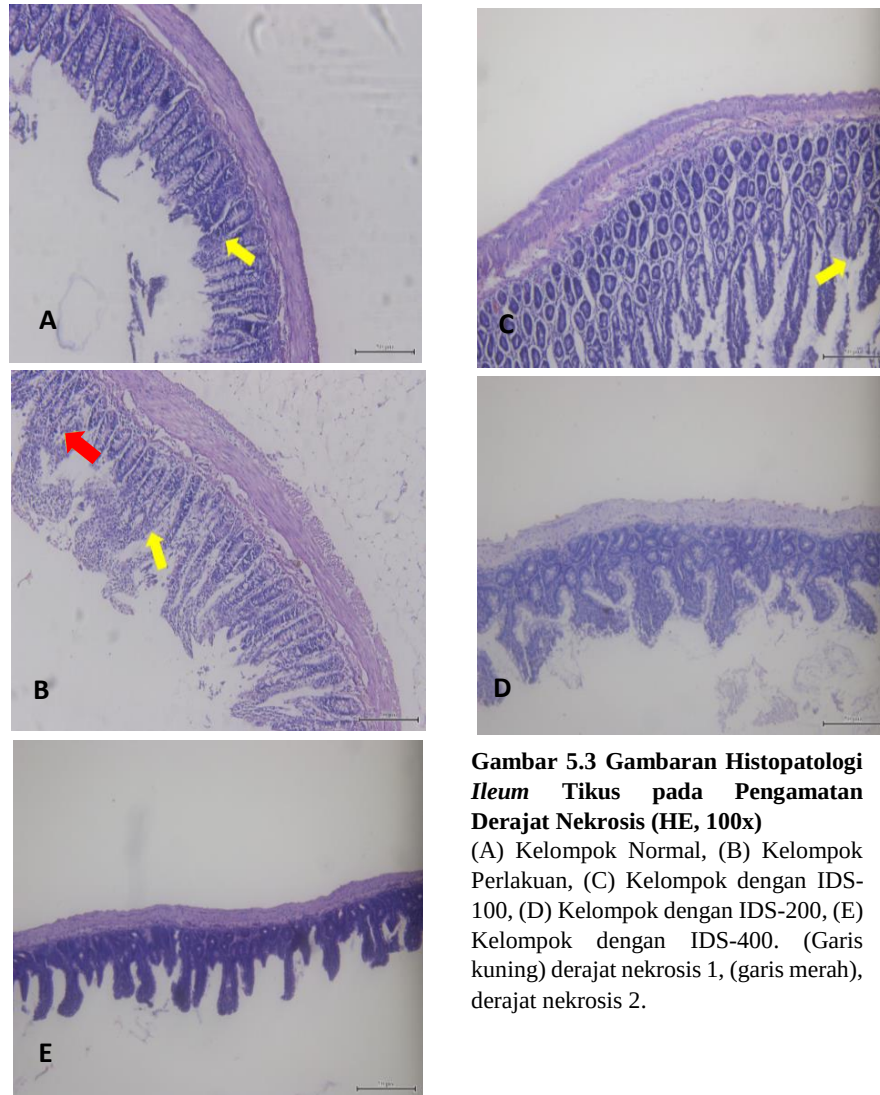
Gambar 5.2 Histogram Derajat Infiltrat *Ileum* Tikus Model Obesitas

Keterangan: *a;b;c..... = Perbedaan Huruf menunjukkan perbedaan derajat infiltrat 0 yang signifikan pada masing-masing kelompok; *a;b;c..... = Perbedaan Huruf menunjukkan perbedaan derajat infiltrat 1 bernilai signifikan antar kelompok ($p < 0,05$, Mann Whitney). Gambar menunjukkan perbedaan derajat infiltrat KN dibandingkan KP senilai 46%; Terdapat penurunan derajat infiltrat pada pemberian IDS dosis 400 (K3) dibandingkan kontrol perlakuan (KP) sebesar 66%.

Hasil Perhitungan Derajat Nekrosis

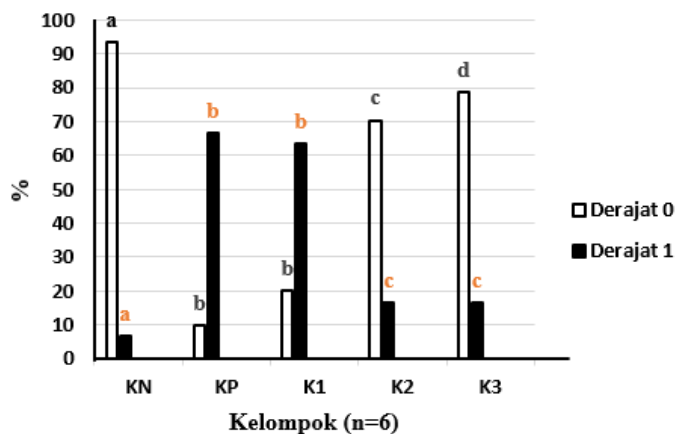
Hasil analisa kruskal wallis pada penelitian derajat nekrosis *Ileum* tikus dengan pemberian diet TLTF didapatkan hasil perbedaan derajat nekrosis dengan nilai signifikansi $p=0,00$. Kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Mann-whitney* dan menunjukan terjadi perbedaan yang signifikan pada kelompok normal (KN) dibandingkan kelompok perlak (KP) ($p=0,00$) . IDS

dosis 100 (K1), IDS dosis 200 (K2) dan IDS dosis 400 (K3) dibandingkan dengan kelompok perlakuan (KP) menunjukkan perbedaan signifikan dalam menurunkan derajat nekrosis ($p=0,04$, $p=0,00$ dan $p=0,00$). IDS dosis 200 dibandingkan IDS dosis 400 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p=0,20$). Efek perbedaan derajat nekrosis pada masing masing kelompok dapat diamati pada **Gambar 5.3** dan **Gambar 5.4**



Gambar 5.3 Gambaran Histopatologi Ileum Tikus pada Pengamatan Derajat Nekrosis (HE, 100x)

(A) Kelompok Normal, (B) Kelompok Perlakuan, (C) Kelompok dengan IDS-100, (D) Kelompok dengan IDS-200, (E) Kelompok dengan IDS-400. (Garis kuning) derajat nekrosis 1, (garis merah), derajat nekrosis 2.



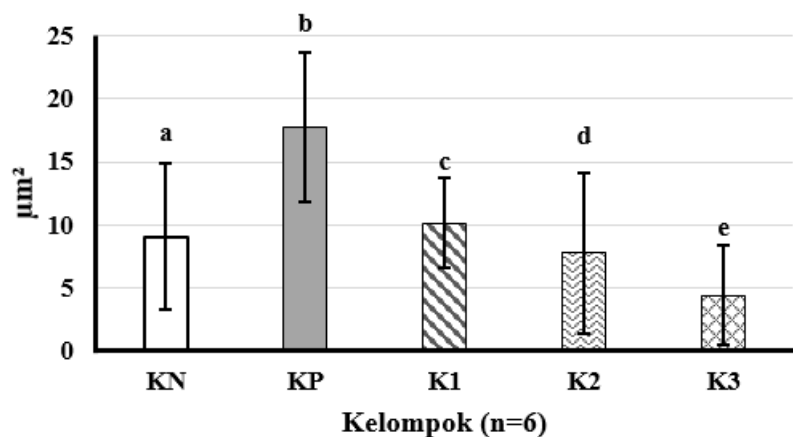
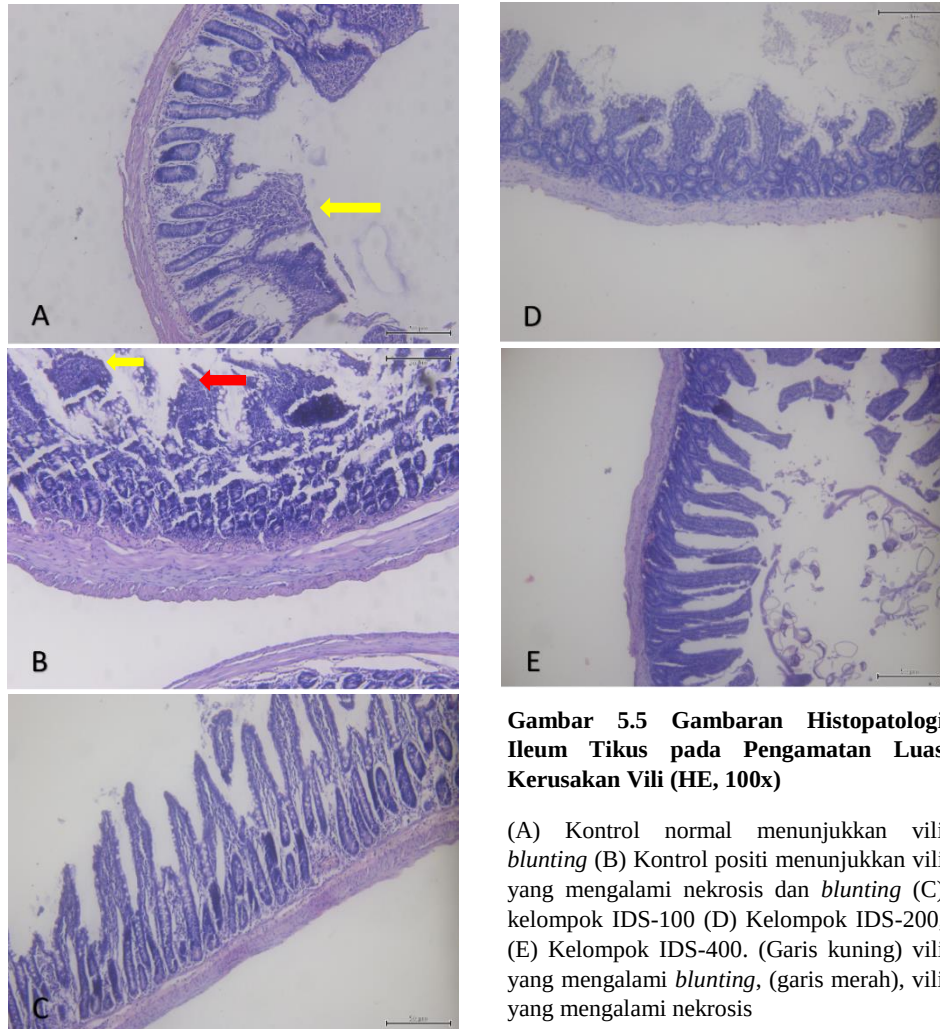
Gambar 5.4 Histogram Derajat Nekrosis Ileum Tikus Model Obesitas

Keterangan: *a;b;c;d..... = Perbedaan Huruf menunjukkan perbedaan derajat nekrosis 0 yang signifikan pada masing-masing kelompok ;*a;b;c;d..... = Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan derajat nekrosis 1 yang signifikan pada masing-masing kelompok ($p<0,05$, Mann Whitney); Gambar menunjukkan perbedaan derajat nekrosis KN dibandingkan KP senilai 83%; Terdapat penurunan derajat nekrosis pada pemberian IDS dosis 400 (K3) dibandingkan kontrol positif (KP) sebesar 76%; Terdapat perbedaan penurunan derajat nekrosis pada IDS dosis 200 (K2) dan IDS dosis 400 (K3) sebesar 16%.

Perhitungan Luas Kerusakan Vili

Berdasarkan analisis Oneway ANOVA pada penelitian Ileum tikus dengan pemberian diet TLTF didapatkan hasil perbedaan luas kerusakan vili signifikan dengan besaran signifikansi $p=0,01$. Selanjutnya dilakukan uji LSD dan menunjukkan terjadi perbedaan yang signifikan pada control positif (KP) dibandingkan control normal (KN). Pemberian IDS pada kelompok dosis 100, 200, dan

400 didapatkan hasil perbedaan secara signifikan dalam menurunkan luas kerusakan vili pada Ileum tikus ($p=0,03$, $p=0,00$ dan $p=0,00$), sementara pemberian IDS pada kelompok 200 dibandingkan IDS dosis 400 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dalam menurunkan luas kerusakan vili pada Ileum tikus ($p=0,33$) Efek perbedaan luas kerusakan vili antar kelompok dapat diamati pada **Gambar 5.5** dan **Gambar 5.6**.



Gambar 5.6 Histogram Luas Kerusakan Vili Ileum Tikus Model Obesitas

Keterangan: *a;b;c;d;e.....= Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$, LSD); terdapat peningkatan luas kerusakan villi pada kelompok positif (KP) dibandingkan kelompok normal (KN) senilai $8,7 \mu\text{m}^2$. terdapat penurunan luas kerusakan pada kelompok positif (KP) dibandingkan IDS dosis 400 (K3) senilai $13,34 \mu\text{m}^2$.

PEMBAHASAN

Efek Induksi Diet TLTF Terhadap Derajat Infiltrat, Derajat Nekrosis Dan Luas Kerusakan Ileum

Pemberian diet TLTF dapat meningkatkan derajat infiltrat, derajat nekrosis dan luas kerusakan vili Ileum. Hal ini disebabkan adanya perbedaan pemberian diet antara KN dan KP. Pada penelitian ini menunjukkan nilai perbedaan yang bermakna pada kelompok normal (KN) dibanding kelompok positif (KP) pada semua variabel. Konsumsi diet TLTF pada hewan percobaan menyebabkan komplikasi metabolik seperti obesitas, dyslipidemia, insulin resisten, diabetes dan peningkatan tekanan darah sistolik. Sindroma metabolik yang diinduksi oleh fruktosa berhubungan dengan terjadinya peradangan yang ditandai peningkatan sitokin proinflamasi dan aktifitas sinyal peradangan pada organ (hati, pancreas dan usus).²⁰ Diet tinggi fruktosa terbukti dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, seperti IL-1 β , TNF α , dan IL-6.^{21,22} Dalam penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Wang *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan sitokin proinflamasi yang signifikan pada plasma berupa IL-6, TNF α dan MIP-2 serta menunjukkan gejala peradangan yang signifikan pada dosis fruktosa tertinggi dalam penelitian tersebut.^{22,23} Penelitian Li *et al.*, (2019) mengungkapkan hal tersebut diakibatkan oleh disfungsi pada barrier epitel usus yang diinduksi diet tinggi fruktosa dan penurunan SCFA.^{22,24}

SCFA merupakan produk akhir dari fermentasi karbohidrat oleh mikroba yang tidak terdegradasi dan dapat menghambat terjadinya inflamasi usus.^{25,26} Peningkatan diet tinggi fruktosa menunjukkan terjadinya penurunan produksi SCFA pada tikus, menginduksi terjadinya disbiosis microbiota dan meningkatkan kejadian. Inflamasi pada saluran cerna. Pada penelitian yang dilakukan oleh yong wang didapatkan penurunan yang signifikan pada asam isobutirat dan SCFA secara total dan perubahan flora normal pada kelompok diet tinggi fruktosa.^{22,25,26}

Perubahan komposisi microbiota pada inang dapat dipengaruhi oleh komponen makanan yang dapat mengakibatkan perubahan struktur microbiota yang berdampak buruk pada inang.²⁷ Diet TLTF dapat menyebabkan perubahan komposisi bakteri usus dengan meningkatkan jumlah bakteri bacteriodes dan lactobacilli yang mensintesa enzim pencernaan dalam mendegradasi karbohidrat yang tidak tercerna secara sempurna. Karbohidrat dalam makanan yang dicerna menghasilkan sejumlah besar metabolit proinflamasi yang menyebabkan perubahan pada protein tight junction. Hal tersebut menyebabkan peningkatan permeabilitas usus secara terus-menerus dan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi. Peningkatan IL-6 pada TLTF menyebabkan respon imun tubuh serta sebagai inisiator peradangan di saluran cerna.²⁷ Diet tinggi lemak tinggi fruktosa mengurangi ekspresi *claudin-1* dan *occluding* yang mengakibatkan permeabilitas

usus meningkat dan menurunkan integritas usus. Penurunan integritas usus dan peningkatan sitokin proinflamasi mengakibatkan reaksi aktivasi makrofag di jaringan dan meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi.^{27,28}

Perubahan microbiota usus yang diinduksi diet meningkatkan konsentrasi lipopolisakarida (LPS) yang berasal dari microbiota usus menyebabkan peradangan dan penyakit metabolik.²⁹ Dalam penelitian sebelumnya didapatkan perubahan yang diinduksi diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan permeabilitas usus dan kebocoran LPS ke dalam sirkulasi dengan mengurangi ekspresi protein *tight junction* saluran cerna.³⁰ Peningkatan LPS menyebabkan kerusakan sel secara massif, diikuti dengan kerusakan pada villi dan diare.³¹ Peningkatan LPS menginduksi peningkatan produksi TNF α dalam saluran cerna yang dapat meningkatkan kerusakan pada sel epitel saluran cerna.³² Hal tersebut menyebabkan terjadinya efek sistemik mencapai organ hati, menginduksi peradangan dan akumulasi lipid abnormal pada jaringan yang disebabkan oleh peningkatan kadar sitokin inflamasi seperti, TNF α , MCP1, IL-1 β dan IL-6.^{29,30}

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Lee *et al.*, (2021) disimpulkan bahwa konsumsi tinggi lemak menyebabkan peningkatan ROS yang berhubungan dengan obesitas dan disbiosis microbiota. Penelitian tersebut menunjukkan pengaruh yang signifikan antara konsentrasi bakteri *L. Sakei* dengan konsentrasi ROS serta terjadinya inflamasi.^{27,28} Disbiosis microbiota akan menyebabkan peningkatan LPS yang akan mengaktifasi TLR4 yang akan menginduksi produksi dari NF-K β dan meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi dan ROS.³³ Terjadinya ketidakseimbangan antara ROS dan respon eliminasi dalam jangka panjang menyebabkan terjadinya oxidative stress dan menginduksi disbiosis microbiota dengan perubahan reaksi redoks.³⁴ ROS merupakan molekul pensinyalan yang berperan dalam menginduksi terjadinya reaksi inflamasi dan mengaktifasi *polymorphonuclear neutrofil* (PMN) dan menyebabkan disfungsi pada endotel.³⁵

Perubahan microbiota bersama-sama meningkatkan sitokin proinflamasi akibat penurunan integritas usus, peningkatan sekresi LPS dan ROS yang menginduksi terjadinya reaksi inflamasi.²⁸ Produk yang dihasilkan oleh reaksi inflamasi mengaktifasi sel imun lain dan memediasi sitokin proinflamasi tambahan selama respon inflamasi terjadi. Sitokin utama yang dilepaskan berupa TNF α yang memiliki fungsi utama sebagai pengaturan kelangsungan hidup sel bersama dengan TNF α R1.³⁶

Pada kondisi peradangan, ikatan antara TNF α dan TNF α R1 akan menginduksi terjadinya kematian sel yang menyebabkan kondisi epitel saluran cerna yang tidak intak.^{14,36,37} Pada penelitian yang telah dilakukan Guo *et al.*, (2017) menyimpulkan bahwa terjadinya peningkatan sitokin pro inflamasi yang

diproduksi oleh jaringan adipose atau diinduksi oleh respon inflamasi akibat perubahan microbiota usus bacteroidetes dan firmicutes pada tikus dengan induksi diet tinggi lemak.³⁷ Selama proses peradangan, terjadi peningkatan jumlah netrofil jaringan melalui produksi kemokin yang dihasilkan makrofag jaringan.³⁸

Pada penelitian yang telah dilakukan Laster et al. menggambarkan bahwa terjadinya peningkatan TNF α tidak hanya menyebabkan apoptosis sel namun juga menyebabkan nekrosis sel yang dapat memicu respon inflamasi pada jaringan.³⁹ Penelitian yang telah dilakukan Ulrike et al. (2014) didapatkan induksi sitokin proinflamasi menyebabkan terjadinya peningkatan peradangan saluran cerna ditandai dengan peningkatan jumlah neutrophil di jaringan serta hilangnya epitel permukaan saluran cerna.¹⁸

Efek IDS Terhadap Derajat Infiltrat, Derajat Nekrosis Dan Luas Kerusakan Vili Ileum

Penelitian ini menunjukkan terdapat hasil perbandingan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap derajat infiltrate sel, derajat nekrosis vili dan luas kerusakan vili Ileum kelompok yang diberikan IDS dibandingkan kelompok diet TLTF. Pemberian IDS pada kelompok K2 dan K3 dapat menekan jumlah dan ekspansi infiltrasi sel radang, kedalaman nekrosis vili pada ileum tikus yang diinduksi diet TLTF. Pemberian IDS pada semua dosis IDS menunjukkan perbedaan luas kerusakan vili Ileum yang signifikan terhadap kelompok positif (KP). Penelitian ini menunjukkan tidak ditemukan perbedaan yang secara signifikan antara kelompok pemberian IDS dosis 100 dan 200 pada semua variabel. Hal ini terjadi dikarenakan kemungkinan senyawa yang terdapat dalam ekstrak air daun sirsak sudah menempati banyak reseptor dan mencapai efek maksimal.⁴⁰ Hal tersebut disebabkan karena IDS mengandung senyawa berupa acetogenin, flavonoid, fenolik, alkaloid pada EADS.^{10,13} Dalam proses ekstraksi memakai air, senyawa yang akan terekstraksi didominasi oleh flavonoid dan sebagian tannin yang bersifat polar.^{41,42} Efektivitas dari suatu ekstraksi terhadap suatu senyawa bergantung dari tingkat kelarutan senyawa tersebut dalam sebuah pelarut, sebagaimana yang dijelaskan oleh konsep *like dissolve like* dimana suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang memiliki sifat atau kepolaran yang sama.⁴²

Flavonoid pada daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan konsentrasi ROS dengan cara menekan fungsi enzim yang berperan pada pembentukan radikal bebas *moooxygenase* mikrosomal, *glutathione s-transferase*, *mitokondria suksinoksidase*, *NADH oksidase* dan lainnya.⁴³ ROS berperan sebagai pusat pengatur pensinyalan inflamasi terutama dalam aktivasi NF-K β dan pensinyalan inflamasi lainnya.⁴⁴ Aktivasi NF-K β dapat memicu feedback positif terhadap TNF α dan meningkatkan kejadian kematian sel. Dalam penelitian Fukumoto menunjukkan peningkatan TNF α menginduksi

terjadinya infiltrasi sel radang, kematian sel dan kerusakan pada mukosa intestinal.^{45,46} Mekanisme antioksidan dalam meredam radikal bebas yakni dengan memunguti ion hidrogen yang elektronnya tidak berpasangan (*oxygen free radicals*), dimana mekanisme ini disebut dengan radical scavenger.⁴⁷ Antioksidan pada daun sirsak diharapkan mampu dalam menekan radikal bebas dalam menyebabkan terjadinya peningkatan pertumbuhan bakteri patogen dan mempertahankan flora normal intestinal. Penekanan bakteri patogen dapat mencegah terjadinya penurunan SCFA dan mempertahankan integritas saluran cerna sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi inflamasi pada saluran cerna.^{22,25,26}

Selain senyawa yang telah disebutkan, daun sirsak memiliki senyawa lain seperti, senyawa quercetin yang merupakan salah satu golongan flavonoid yang mempunyai efek antiinflamasi dengan menghambat mediator inflamasi, TNF α , IL-1 β , IL-6 dan NO melalui mekanisme penghambatan NF-K β .^{8,48} Mekanisme quercetin dalam bertindak sebagai antiinflamasi yakni dengan menghambat aktivitas NF-K β yang akan menghambat perlekatan monosit pada proses inflamasi.^{12,49} Senyawa quercetin diharapkan mampu menekan terjadinya reaksi inflamasi yang diakibatkan oleh diinduksi diet TLTF sehingga menekan terjadinya kerusakan pada saluran cerna. Selain itu, penelitian Soekaryo et al. (2017). menyebutkan senyawa *gigantetrocin A* (golongan acetogenin) pada daun sirsak memiliki aktivitas antiinflamasi dengan mekanisme inhibisi terhadap enzim COX-2.⁵⁰ Senyawa aktif lainnya yang terdapat pada IDS berupa trepenoid yang memiliki peran sebagai antioksidan serta antiinflamasi dan senyawa alkaloid memiliki peran sebagai antiinflamasi.⁵¹

Berdasarkan fakta yang telah dimuat diatas, disimpulkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam IDS mampu menghambat ekspansi infiltrasi sel radang, tingkat keparahan dari terjadinya nekrosis pada vili dan luas kerusakan inflamasi vili yang diamati berdasarkan vili *blunting* dan nekrosis pada ileum tikus dengan induksi diet TLTF dengan mekanisme antioksidan dan antiinflamasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapat serta pembahasan yang telah dimuat maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terjadi peningkatan derajat infiltrat, derajat nekrosis dan luas kerusakan vili Ileum dibandingkan kontrol normal karena induksi diet TLTF.
2. pemberian infusa daun sirsak dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB secara signifikan menurunkan derajat infiltrat Ileum tikus.
3. pemberian infusa daun sirsak dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB secara signifikan menurunkan derajat nekrosis Ileum tikus.
4. pemberian infusa daun sirsak dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB secara signifikan menurunkan luas kerusakan vili Ileum tikus.

SARAN

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan pada penelitian ini, berikut saran peneliti agar dilakukan perbaikan ataupun peningkatan pada penelitian selanjutnya adalah:

1. Melakukan penelitian dengan induksi TLTF dengan durasi pemberian yang lebih lama.
2. Melakukan penelitian dengan jarak antar dosis infusa daun sirsak yang lebih sedikit agar mengetahui kadar dosis yang lebih spesifik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, dan Dr. H. Yudi Purnomo, M. Kes., Apt. sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Obesity and overweight. 2020.
2. Barasi M. *At s Glance Ilmu Gizi*. Jakarta: Erlangga; 2007.
3. Toop CR, Gentili S. Fructose beverage consumption induces a metabolic syndrome phenotype in the rat: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2016;8(9).
4. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Heal Dis*. 2015;26(0).
5. Lu J, Ma KL, Ruan XZ. Dysbiosis of Gut Microbiota Contributes to the Development of Diabetes Mellitus. *Infect Microbes Dis*. 2019;1(2):43–8.
6. Venegas DP, De La Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs) mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Front Immunol*. 2019;10(MAR).
7. Anhê FF, Roy D, Pilon G, Dudonné S, Matamoros S, Varin T V., et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut*. 2015;64(6):872–83.
8. Wahab SMA, Jantan I, Haque MA, Arshad L. Exploring the leaves of *Annona muricata* L. as a source of potential anti-inflammatory and anticancer agents. *Front Pharmacol*. 2018;9(JUN):1–20.
9. Bhardwaj R, Pareek S, Sagar NA, Vyas N. Bioactive Compounds of *Annona*. *Ref Ser Phytochem*. 2020;(December):37–62.
10. 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.
11. Solomon-Wisdom, Ugoh SC, Mohammed. Phytochemical Screening and Antimicrobial activities of *Annona muricata* (L) leaf extract. *Am J Biol Chem Pharm Sci Am J Biol Chem Pharm Sci [Internet]*. 2014;2(1):1–7. Available from: <http://www.ajbcps.com/>
12. 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.
13. Damayanti DS, Chandra Kusuma HMS, Nurdiana, Soeadmadji DW. Effects of soursop (*Annona muricata*) leaf water extract (SLWE) on body weight, leptin and TNF α plasma levels of rats with high fat and high fructose (HFHF) Diet. *J Glob Pharma Technol*. 2019;11(4):162–73.
14. Tamas J, Jing L, Michelle J, Michael s. caplan. Intestinal Epithelial Apoptosis Initiates Gross Bowel Necrosis in an Experimental Rat Model of Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Dep Pediatr Evanst Northwest Healthc Res Institute, Northwest Univ Feinb Sch Med Evanston, Illinois 60201, USA*. 2004;55(4).
15. 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.
16. Damayanti DS, Kusuma HMSC, 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;4(6):4–11.
17. Ariyadi T, Suryono H. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave Dan Convetional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *J Labora Med*. 2017;1(1):7–11.
18. Ulrike E, Christoph L, Katja D, Simone S, Dirk H, Markus M H, et al. A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(8).
19. Sarwono J. Get to know the path of Analysis: History, Understanding, and Application, *Scientific Journal of Business Management*. *J Ilm Manaj Bisnis*. 2011;11(2):285–96.
20. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High dietary fructose: Direct or indirect dangerous factors disturbing tissue and organ functions.

- Nutrients. 2017;9(4).
21. Prince PD, Lanzi CR, Toblli JE, Elesgaray R, Oteiza PI, Fraga CG, et al. Dietary (-)-epicatechin mitigates oxidative stress, NO metabolism alterations, and inflammation in renal cortex from fructose-fed rats. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2016;90:35–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.11.009>
22. Wang Y, Qi W, Song G, Pang S, Peng Z, Li Y, et al. High-fructose diet increases inflammatory cytokines and alters gut microbiota composition in rats. *Mediators Inflamm*. 2020;2020.
23. Horne RG, Yu Y, Zhang R, Abdalqadir N, Rossi L, Surette M, et al. High fat-high fructose diet-induced changes in the gut microbiota associated with dyslipidemia in Syrian hamsters. *Nutrients*. 2020;12(11):1–20.
24. Li JM, Yu R, Zhang LP, Wen SY, Wang SJ, Zhang XY, et al. Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: A benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*. 2019;7(1):1–14.
25. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-y M, et al. Reports 1000. *Microb Metab Short-Chain Fat Acids, Regul Colon Treg Cell Homeost*. 2013;341(August):569–74.
26. Miranda VPN, Dos Santos Amorim PR, Bastos RR, De Faria ER, De Castro Moreira ME, Do Carmo Castro Franceschini S, et al. Abundance of Gut Microbiota, Concentration of Short-Chain Fatty Acids, and Inflammatory Markers Associated with Elevated Body Fat, Overweight, and Obesity in Female Adolescents. *Mediators Inflamm*. 2019;2019.
27. Tan R, Dong H, Chen Z, Jin M, Yin J, Li H, et al. Intestinal Microbiota Mediates High-Fructose and High-Fat Diets to Induce Chronic Intestinal Inflammation. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11(June):1–14.
28. Lee JY, Bae E, Kim HY, Lee KM, Yoon SS, Lee DC. High-Fat-Diet-Induced Oxidative Stress Linked to the Increased Colonization of *Lactobacillus sakei* in an Obese Population. *Microbiol Spectr*. 2021;9(1).
29. Do MH, Lee E, Oh MJ, Kim Y, Park HY. High-glucose or-fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change. *Nutrients*. 2018;10(6).
30. Lim SM, Jeong JJ, Woo KH, Han MJ, Kim DH. *Lactobacillus sakei* OK67 ameliorates high-fat diet-induced blood glucose intolerance and obesity in mice by inhibiting gut microbiota lipopolysaccharide production and inducing colon tight junction protein expression. *Nutr Res* [Internet]. 2016;36(4):337–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2015.12.001>
31. Williams JM, Duckworth CA, Watson AJM, Frey MR, Miguel JC, Burkitt MD, et al. A mouse model of pathological small intestinal epithelial cell apoptosis and shedding induced by systemic administration of lipopolysaccharide. *DMM Dis Model Mech*. 2013;6(6):1388–99.
32. Günther C, Buchen B, He GW, Hornef M, Torow N, Neumann H, et al. Caspase-8 controls the gut response to microbial challenges by Tnf- α -dependent and independent pathways. *Gut*. 2015;64(4):601–10.
33. Rosas-Villegas A, Sánchez-Tapia M, Avila-Nava A, Ramírez V, Tovar AR, Torres N. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress. *Nutrients*. 2017;9(4).
34. Qiao Y, Sun J, Ding Y, Le G, Shi Y. Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97(4):1689–97.
35. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants Redox Signal*. 2014;20(7):1126–67.
36. Ruder B, Atreya R, Becker C. Tumour necrosis factor alpha in intestinal homeostasis and gut related diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8).
37. Guo X, Li J, Tang R, Zhang G, Zeng H, Wood RJ, et al. High Fat Diet Alters Gut Microbiota and the Expression of Paneth Cell-Antimicrobial Peptides Preceding Changes of Circulating Inflammatory Cytokines. *Mediators Inflamm*. 2017;2017.
38. Fournier BM, Parkos CA. The role of neutrophils during intestinal inflammation. *Mucosal Immunol*. 2012;5(4):354–66.
39. Laster SM, Wood JG, Gooding LR. Tumor necrosis factor can induce both apoptic and necrotic forms of cell lysis. *J Immunol* [Internet]. 1988;141(8):2629–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3171180>
40. Pertiwi W, Arisanty D, Linosefa L. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* lin) Terhadap Viabilitas Cell Line Kanker Payudara T47D Secara In Vitro. *J Kesehat Andalas*. 2020;9(1S):165–70.
41. George VC, Kumar DRN, Suresh PK, Kumar RA. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. *J Food Sci*

- Technol. 2015;52(4):2328–35.
42. Kemit N, Widarta IWR, Nocianitri KA. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). J Ilmu Teknol Pangan. 2016;5(2):130–41.
 43. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. ScientificWorldJournal. 2013;2013:162750.
 44. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. Circ Res. 2018;122(6):877–902.
 45. Arosa L, Camba-Gómez M, Conde-Aranda J. Neutrophils in Intestinal Inflammation: What We Know and What We Could Expect for the Near Future. Gastrointest Disord. 2022;4(4):263–76.
 46. Fukumoto K, Naito Y, Takagi T, Yamada S, Horie R, Inoue K, et al. Role of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal injury in mice. Int J Mol Med. 2011;27(3):353–9.
 47. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). Free Radic Res. 1999 Jan;31(4):261–72.
 48. Choy KW, Murugan D, Leong XF, Abas R, Alias A, Mustafa MR. Flavonoids as Natural Anti-Inflammatory Agents Targeting Nuclear Factor-Kappa B (NF κ B) Signaling in Cardiovascular Diseases: A Mini Review. Front Pharmacol. 2019 Oct;10:1295.
 49. 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.
 50. Soekaryo E, Setyahadi S, Simanjuntak P. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn .) Sebagai Anti Inflamasi Penghambat Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) Secara In Vitro. Progr Stud Magister Ilmu Kefarmasian Fak Farm Univ Pancasila Jakarta. 2017;6(2):139–44.
 51. Damayanti DS, Nurdiana, Chandra Kusuma HMS, Soeatmadji DW. The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on in silico analysis. Int J Appl Pharm. 2019;11(Special Issue 6):72–9.