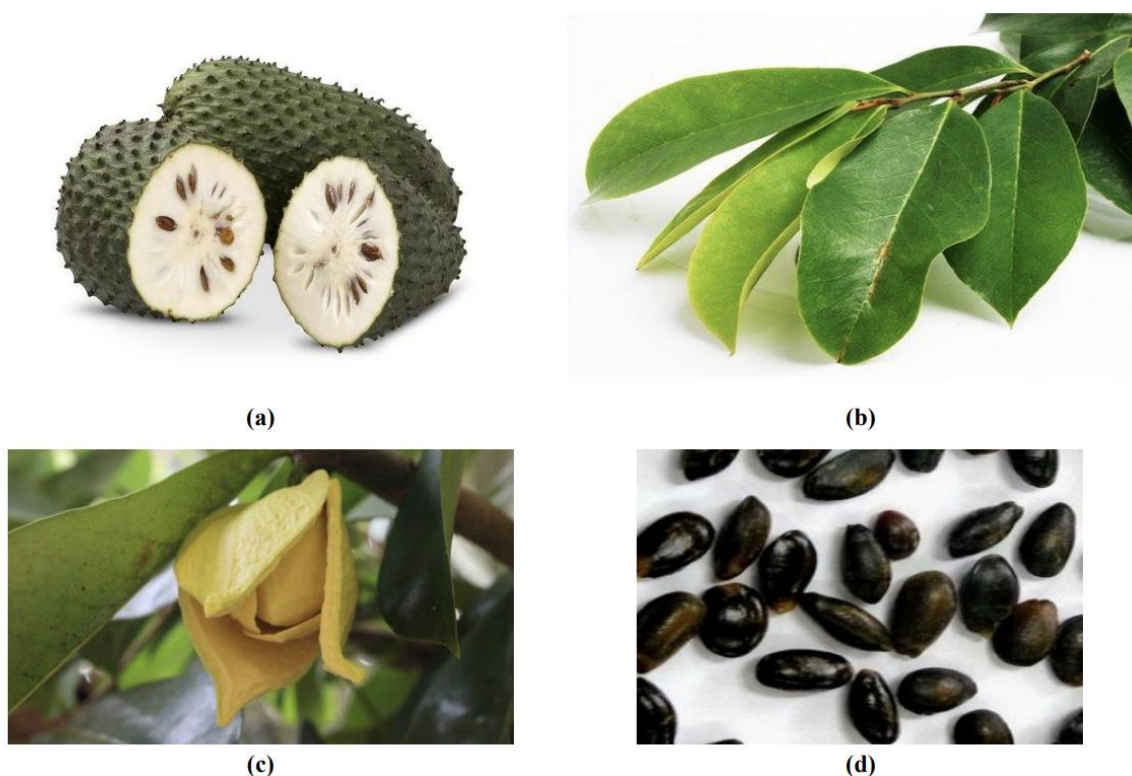


## EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK DAUN SIRSAK

*Annona muricata* L. merupakan tumbuhan yang berasal dari Amerika, yang pada akhirnya menyebar ke daerah tropis dan sub-tropis seperti Amerika Selatan, Asia, Afrika, dan Australia.<sup>1</sup> *A. muricata* L. termasuk salah satu anggota famili Annonaceae yang mencakup 130 genus dan 2.300 spesies tumbuhan.<sup>2,3</sup> *A. muricata* L. dikenal sebagai 'soursop' dalam Bahasa Inggris, 'guayabano' dalam Bahasa Filipina, 'guanabana' dalam Bahasa Spanyol, 'corossol epineux' dalam Bahasa Prancis, dan 'sirsak' dalam Bahasa Indonesia. *A. muricata* L. bisa tumbuh hingga 8 – 10 meter; bercabang rendah dan cukup rindang saat sudah dewasa, batangnya kasar-bulat berwarna kuning kacang, ukuran panjang daun antara 14 – 16 cm sedangkan ukuran lebar daun 5 – 7 cm; bentuk daun lonjong atau bulat telur dengan tangkai pendek, ukuran panjang bunga 3,2 – 3,8 cm, kulit buah berduri-warna buah hijau tua ketika belum masak dan akan berwarna hijau muda ketika masak-ukuran berat buah bervariasi mulai dari 0,4 – 4 kg (Gambar 1).<sup>4</sup>



Gambar 1. (a) buah sirsak, (b) daun sirsak, (c) bunga sirsak, dan (d) biji sirsak.

Akhir-akhir ini banyak penelitian mengungkapkan manfaat sirsak sebagai agen anti-virus,<sup>5</sup> anti-mikroba,<sup>6,7</sup> anti-kanker,<sup>8,9</sup> dan penyembuh luka.<sup>9-11</sup> Buah sirsak digunakan untuk merawat pasien arthritis, diare, disentri, demam, malaria, reumatik, dan ruam kulit. Beberapa kelompok masyarakat juga memanfaatkan buah sirsak untuk meningkatkan produksi asi. Daun sirsak juga digunakan untuk merawat pasien sistitis, diabetes, sakit kepala, dan insomnia. Biji sirsak dikenal memiliki efek anthelmintik yang mampu membunuh parasit serta cacing internal dan eksternal.<sup>2</sup> Dengan demikian, tidak salah jika sirsak memiliki manfaat yang beragam. Tentu saja manfaat-manfaat tersebut muncul karena sirsak mengandung banyak sekali fitokimia

sebagaimana dirangkum pada Tabel 1. Selain fitokimiafitokimia yang memiliki aktivitas biologis, *A. muricata* L. juga mengandung beberapa nutrisi yang baik untuk metabolisme tubuh, diantaranya serat, protein, karbohidrat, abu, kalsium, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin B12, vitamin B5, fosfor, dan masih banyak lagi.<sup>12</sup>

Inflamasi merupakan salah satu mekanisme pertahanan diri. Tidak jarang suatu infeksi juga diikuti dengan reaksi inflamasi. Ketika suatu jaringan tubuh mengalami kerusakan, entah karena stres atau invasi mikroba, sel-sel imun akan ditarik ke lokasi dimana kerusakan tersebut terjadi. Sel-sel imun akan membersihkan jaringan-jaringan yang sudah mati, dan membunuh mikroba yang mengkontaminasi untuk mencegah infeksi berkelanjutan. Sel-sel imun ini umumnya bersifat pro-inflamasi, yang mana tindakannya menyebabkan reaksi inflamasi inang. Inflamasi yang berkepanjangan bukanlah suatu hal yang menguntungkan bagi tubuh inang. Karenanya, untuk mempertahankan homeostasis, imunitas kita bekerja pada dua polaritas yang saling berlawanan, yaitu respon imun pro-inflamasi dan respon imun anti-inflamasi. Respon imun anti-inflamasi akan menekan kinerja imun pro-inflamasi. Respon imun ini juga akan menginisiasi proses perbaikan dan integritas jaringan.

Sebagai salah satu anggota famili Annonaceae, *A. muricata* L. memiliki annonaceous acetogenins yang sangat bersifat sitotoksik.<sup>13</sup> Annonaceous acetogenins ini juga banyak dimanfaatkan sebagai terapi isolat pasien kanker.<sup>14</sup> Suatu penelitian menyebutkan bahwa konsumsi jus *A. muricata* L. kronis yang mengandung annonaceous acetogenins dapat memperburuk fosforilasi tau serebral pada tikus dan berkontribusi terhadap perkembangan perubahan neuropatologis yang diamati pada penyakit Parkinson.<sup>15</sup> Senyawa penting lain yang terkandung dalam daun *A. muricata* L. adalah asam fenolik dan glukosid flavonoid. Kedua senyawa ini diketahui memiliki aktivitas aktioksidan yang dapat melawan radikal bebas. Terlebih lagi, ekstrak etanol daun *A. muricata* L. diketahui memiliki efek upregulasi terhadap ekspresi superoxide dismutase-1 (SOD-1) dan nuclear factor erythroid-2- related factor-2 (Nrf-2), yang berkontribusi pada aktivitasnya dalam mengurangi reactive oxygen species (ROS).<sup>16</sup> Peranan *A. muricata* L. yang berkaitan dengan aktivitas modulasi terhadap respon imun akan dibahas lebih lanjut pada sub-bab berikut ini.

## **A. Efek Anti-inflamasi**

Penelitian yang dilakukan oleh Chan, dkk. (2010) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. memiliki efek anti-reumatik yang signifikan terhadap tikus model arthritis yang diinduksi oleh complete Freund's adjuvant (CFA). Penelitian ini juga memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. dengan dosis 3; 10; 30; dan 100 mg/kg secara signifikan mengurangi edema kaki hewan coba masing-masing hingga 48,39; 66,67; 79,57; dan 72,04%. Dosis 30 dan 100 mg/kg ekstrak etanol daun *A. muricata* L. diketahui mampu menekan ekspresi TNF- $\alpha$  hingga 42,81% dan 51,82% serta mampu mengurangi ekspresi IL-1 $\beta$  hingga 35,57% dan 39,79% setelah 14 hari pasca-injeksi CFA. Lebih lanjut lagi Chan dkk. mendapati bahwa efek supresi ekstrak ini terhadap TNF- $\alpha$  lebih besar dibandingkan dengan indomethacin. Ekstrak etanol daun *A. muricata* L. juga pernah diuji untuk mengetahui efek antinociceptive dan anti-ulcerogenic pada berbagai model tikus coba. Efek antinociceptive diuji pada model tikus abses yang diinduksi dengan asam asetat. Efek antiulcerogenic dari ekstrak

etanol daun *A. muricata* L. dipelajari pada tikus model ulkus yang diinduksi etanol. Penelitian ini mendapati bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. menunjukkan aktivitas antinociceptive yang signifikan bergantung pada dosis yang diberikan. Selain itu, penelitian ini juga mendapati bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. juga secara signifikan mengurangi lesi ulseratif.<sup>17</sup>

Percobaan yang dilakukan oleh Poma dkk. (2011) juga menunjukkan bahwa edema pada kaki tikus coba yang diinduksi oleh karagenan, berkurang sebesar 71,12% setelah diberi ekstrak daun *A. muricata* L. dengan dosis 1,5 mg/kg berat badan. Tindakan anti-inflamasi ekstrak *A. muricata* L. terkait dengan inhibisi satu atau lebih jalur pensinyalan intraseluler yang terlibat dengan mediator (misalnya histamin, serotonin, bradikin, zat P, dan platelet activating factor dan prostaglandin). Sebelumnya, pada tahun 2010, de Sousa dkk. melakukan percobaan terhadap tikus untuk mengetahui efek antinociceptive dan antiinflamasi ekstrak etanol daun *A. muricata* L. yang diberikan secara oral. Hasil yang diperoleh dari percobaan ini adalah bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. dapat mengurangi kontraksi perut sebanyak 14,42% pada dosis 200 mg/kg; 41,41% pada dosis 400 mg/kg. Ekstrak etanol daun *A. muricata* L. yang diberikan juga dapat menghambat durasi paw licking yaitu sebesar 23.67% dan 45.02% pada fase pertama dan 30.09% dan 50.02%. Ekstrak etanol ini juga meningkatkan reaksi tikus coba terhadap hot-plate test yaitu sebesar 30.77% dan 37.04% pada dosis 200 mg/kg serta 82.61% dan 96.30% pada dosis 400 mg/kg masing-masing setelah 60 dan 90 menit perawatan. Edema kaki tikus coba juga berkurang sebesar 23.16% dan 29.33% (200 mg/kg) serta 29.50% dan 37.33% (400 mg/kg) masing-masing setelah 3 dan 4 jam pengaplikasian karagenan. Ekstrak etanol daun *A. muricata* L. yang diberikan 4 jam sebelum injeksi karagenan pada dosis 200 mg/kg dan 400 mg/kg dapat mengurangi volume eksudat (29.25% dan 45.74%) dan mengurangi migrasi leukosit (18.19% dan 27.95%). de Sousa dkk. berkesimpulan bahwa ekstrak *A. muricata* L. dapat digunakan sebagai substansi aktif yang memberi efek antinociceptive dan anti-inflamasi.<sup>18</sup>

Studi yang dilakukan oleh Laksmitawati dkk. (2016) menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. muricata* L. memiliki efek anti-inflamasi sebagaimana ekstrak tersebut mampu menghambat aktivitas-aktivitas mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan nitric oxide (NO). Ekstrak daun *A. muricata* L. mampu menghambat ekspresi TNF- $\alpha$  oleh sel RAW 264.7 sebanyak 46,8%. Nilai inhibisi ini secara signifikan lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol positif percobaan yaitu stimulasi LPS pada sel tanpa diberi perawatan ekstrak *A. muricata* L. Penelitian ini juga menyebutkan bahwa pemberian ekstrak daun *A. muricata* L. berdosisi 50  $\mu$ g/mL kepada sel RAW 264.7 dapat menekan ekspresi TNF- $\alpha$ , sehingga jumlah TNF- $\alpha$  pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS sama dengan sel RAW 264.7 normal yaitu 264,69 pg/mL.<sup>19</sup> Percobaan lain juga menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. muricata* L. dapat menghambat ekspresi IL-6 dan NO pada sel yang diinduksi inflamasi. Efektivitas inhibisi ini bernilai masing-masing 63,89% (219,13 pg/mL) pada dosis 50  $\mu$ g/mL dan 70,67% (9,79  $\mu$ M) pada dosis 75  $\mu$ g/mL. Berdasarkan analisis imunohistokimia, efek anti-inflamasi ekstrak daun *A. muricata* L. yang digunakan pada percobaan tersebut berasal dari kemampuan upregulasinya terhadap Hsp70.<sup>20</sup> Suatu kajian in vivo yang melibatkan model tikus inflamasi yang diinduksi karagenan dan model tikus edema yang diinduksi

tetradecanoylphorbol acetate (TPA), memberikan perawatan ekstrak air daun *A. muricata* L. pada dosis 250; 500; dan 1.000 mg/kg. Penelitian ini mendapati bahwa ekstrak *A. muricata* L. secara signifikan mengurangi edema sebanyak  $26,82 \pm 0,02\%$  pada dosis 250 mg/kg dan sebanyak  $52,70 \pm 0,12\%$  pada dosis 500 mg/kg setelah satu jam pemberian ekstrak. Dosis 2,5 dan 5 mg/telinga ekstrak *A. muricata* L. dapat mengurangi menghambat edema sebanyak masing-masing 56% dan 78%. Penelitian ini juga berhasil menunjukkan bahwa ekstrak *A. muricata* L. dapat menurunkan myeloperoxidase activity (MPO) di telinga hingga 92,5% pada dosis 5 mg/telinga dan MPO di neutrofil tikus yang diaktivasi hingga 81,98% pada dosis 200  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian ini juga membuktikan bahwa ekstrak *A. muricata* L. dapat menurunkan produksi nitrit oleh makrofag yang distimulasi LPS.<sup>21</sup> Efek anti-inflamasi *A. muricata* L. dirangkum pada Tabel 1.

## **B. Efek Immunostimulan**

Tidak hanya ekstrak daunnya, Harun, dkk. (2015) menyebutkan bahwa ekstrak metanol buah *A. muricata* L. pada dosis 6,25 dan 100  $\mu\text{g/mL}$  dapat menekan ekspresi CD18/11a oleh leukosit dan menunjukkan reduksi fagositosis leukosit pada dosis 100  $\mu\text{g/mL}$  menjadi 58,43%. Mohammed dan Abas (2016) juga mengkonfirmasi bahwa jus buah *A. muricata* L. mampu memberikan efek anti-inflamasi in vivo. Efek anti-inflamasi buah *A. muricata* L. yang dikeringkan juga pernah diteliti oleh Ishola, dkk. pada tahun 2014. Ekstrak *A. muricata* L. juga dikonfirmasi dapat mengurangi edema yang diinduksi karagenan. Lebih lanjut penelitian ini menyebutkan bahwa efek anti-inflamasi ekstrak *A. muricata* L. berasal dari kemampuannya dalam menghambat cyclooxygenase (COX)-1 dan COX-2 masing-masing sebesar 39,44% dan 55,71% pada dosis 100  $\mu\text{g/mL}$ . Namun, suatu percobaan pada model malaria serebral-tikus Swiss oleh parasit *Plasmodium berghei* ANKA (PbA), yang kemudian dirawat dengan ekstrak daun *A. muricata* L., mendapati bahwa ekstrak daun yang diberikan dengan dosis 100 mg/kg berat badan cenderung menurunkan indeks fagositosis makrofag hingga di bawah keadaan normal selama fase malaria serebral. Penelitian ini berkesimpulan bahwa ekstrak daun *A. muricata* tidak dapat meningkatkan produksi nitric oxide (NO) dan juga tidak dapat menurunkan persen parasitemia pada tikus Swiss yang menderita malaria serebral.<sup>22</sup> Padahal, hipotesa yang diberikan ialah ekstrak *A. muricata* L. seharusnya bisa berperan sebagai immunostimulan yang dapat meningkatkan kinerja makrofag dalam mengeliminasi PbA.

Kim, dkk. (2016) melaporkan efek immunostimulan ekstrak daun *A. muricata* L. yang terstandar terhadap sel makrofag RAW 264.<sup>7</sup> melalui jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK). Ekstrak *A. muricata* L. mampu merangsang mRNA untuk mengekspresikan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 $\alpha$  dan TNF- $\alpha$ . Ekstrak steam *A. muricata* L. secara eksklusif mampu menginduksi up-regulasi inducible nitric oxide synthase (iNOS). Ekstrak tersebut juga secara konsisten meningkatkan produksi TNF- $\alpha$  dan nitrit seiring dengan meningkatnya ekspresi transkripsional. Penelitian yang dilakukan oleh Kim, dkk. (2016) ini bersifat kontradiksi terhadap penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Lebih lanjut lagi, Kim, dkk. menyimpulkan bahwa ekstrak *A. muricata* L. berpotensi digunakan sebagai immunbooster bagi pasien penderita immune-compromised.<sup>16</sup> Namun, tampaknya kajian efek immunostimulan *A. muricata* L. masih perlu untuk lebih didalami. Pada kasus tikus Swiss yang diinokulasi

Plasmodium berghei ANKA (PbA), ekstrak air daun *A. muricata* L. yang diberikan pada dosis pre-inokulasi sebesar 4,68 mg/hari dan pada dosis terapi sebesar 9,36 mg/hari, dapat meningkatkan ekspresi CCL22 jika dibandingkan dengan variabel kontrol yang tidak diberi terapi apapun.<sup>23</sup> Kasus malaria serebral pada tikus Swiss yang diinokulasi PbA, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A. muricata* L. dapat meningkatkan diameter spleenwhite-pulp dan juga meningkatkan produksi IL-27 serta CXCL12 yang memiliki sifat supresif terhadap produksi IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  merupakan sitokin inflamasi yang mendasari imunohistopatologi pada tikus penderita malaria serebral. Produksi IFN- $\gamma$  dapat ditekan oleh sitokin-sitokin seperti IL-27 dan IL-33.

**Tabel 1. Kandungan fitokimia yang berhasil diisolasi dari berbagai bagian tumbuhan sirsak.<sup>2,4,9</sup>**

No.	Nama Fitokimia	Bagian Tumbuhan	Tipe	Bioaktivitas
1	Anonaine	Buah; Daun	Aporphine	Antidepresif; anti-plasmodium; anti-dopamin; sitotoksik; inhibitor
2	Annonamine	Daun	Aporphine	Sitotoksik
3	Casuarine	Daun; Batang	Imino sugar	Belum dilaporkan
4	(S)-Narcorydine	Daun	Aporphine	Sitotoksik
5	Swainsonine	Daun; Batang	Imino sugar	Menstimulasi respon imun
6	Sabadelin	Akar; Daging buah	Mono epoxy, 1 carbonyl	Sitotoksik
7	Annonacin	Daun; Biji; Akar; Daging buah; Nektar	Mono THF, 4OH	Sitotoksik; insektisidal; antimikrobia; anti-tumor; neurotoksik; neurodegeneratif
8	Annonacin 10-one	Biji; Nektar	Mono THF, 3OH, 1 carbonyl	Antileishmaniasis
9	Xylomaticin	Biji	Mono THF, 4OH	Sitotoksik

## Daftar Pustaka

1. Pino JA, Agüero J, Marbot R. Volatile components of soursop (*Annona muricata* L.). *J Essent Oil Res.* 2001;13(2):140–141. doi:10.1080/10412905.2001.9699640.
2. 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):15625–15658. doi:10.3390/ijms160715625.
3. Pareek S, Yahia EM, Pareek OP, Kaushik RA. Postharvest physiology and technology of *Annona* fruits. *Food Res Int.* 2011;44(7):1741–1751. doi:10.1016/j.foodres.2011.02.016.
4. 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):662–691. doi:10.1016/j.arabjc.2016.01.004.
5. Gajalakshmi S, Vijayalakshmi S, Devi Rajeswari V. Phytochemical and pharmacological properties of *Annona muricata*: A review. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;4(2):3–6.
6. Ferreira LE, Castro PMN, Chagas ACS, França SC, Beleboni RO. In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. *Exp Parasitol.* 2013;134(3):327–332. doi:10.1016/j.exppara.2013.03.032.
7. Somsak V, Polwiang N, Chachiyo S. In Vivo Antimalarial Activity of *Annona muricata* Leaf Extract in Mice Infected with *Plasmodium berghei*. *J Pathog.* 2016;2016:1–5. doi:10.1155/2016/3264070.
8. Rady I, Bloch MB, Chamcheu RCN, et al. Anticancer Properties of Graviola (*Annona muricata*): A Comprehensive Mechanistic Review. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018. doi:10.1155/2018/1826170.
9. 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. doi:10.3389/fphar.2018.00661
10. 10. Surono IS, Lienggonegoro LA, Indrawati L, Wibowo H. Inflammatory response of *Annona Muricata* Linn leaves extract in colorectal cancer patients. *J Glob Pharma Technol.* 2017;9(7):150–157.
11. Ibrahim RYM, Hassan AI, Al-Adham EK. The anti-ulcerative colitis effects of *annona squamosa* linn. Leaf aqueous extract in experimental animal model. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(11):21861–21870.
12. Sanusi SB, Abu Bakar MF. Soursop— *Annona muricata*. In: *Exotic Fruits.* Elsevier Inc.; 2018:391–395. doi:10.1016/b978-0-12-803138-4.00053-8.
13. Costa MS, Cossolin JFS, Pereira MJB, et al. Larvicidal and cytotoxic potential of squamocin on the midgut of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Toxins (Basel).* 2014;6(4):1169–1176. doi:10.3390/toxins6041169.
14. Torres MP, Rachagani S, Purohit V, et al. Graviola: A novel promising natural-derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo through altering cell metabolism. *Cancer Lett.* 2012;323(1):29–40. doi:10.1016/j.canlet.2012.03.031.
15. Rottscholl R, Haegele M, Jainsch B, et al. Chronic consumption of *Annona muricata* juice triggers and aggravates cerebral tau phosphorylation in wild-type and MAPT transgenic mice. *J Neurochem.* 2016;139(4):624–639. doi:10.1111/jnc.13835.
16. Kim GT, Tran NKS, Choi EH, et al. Immunomodulatory efficacy of standardized *annona muricata* (Graviola) leaf extract via activation of mitogen-Activated protein kinase pathways in RAW 264.7 macrophages. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/2905127
17. Hamid RA, Foong CP, Ahmad Z, Hussain MK. Antinociceptive and anti-ulcerogenic activities of the ethanolic extract of *annona muricata* leaf. *Brazilian J Pharmacogn.* 2012;22(3):630–641. doi:10.1590/S0102-695X2012005000001.

18. de Sousa OV, Vieira GDV, de Pinho J de JRG, Yamamoto CH, Alves MS. 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. doi:10.3390/ijms11052067.
19. Laksmitawati DR, Prasanti AP, Larasinta N, et al. Anti-inflammatory potential of gandarusa (*Gendarussa vulgaris* nees) and soursoup (*Annona muricata* L) extracts in LPS stimulated-macrophage cell (RAW264.7). *J Nat Remedies*. 2016;16(2):73–81. doi:10.18311/jnr/2016/5367.
20. Moghadamtousi SZ, Rouhollahi E, Hajrezaie M, Karimian H, Abdulla MA, Kadir HA. *Annona muricata* leaves accelerate wound healing in rats via involvement of Hsp70 and antioxidant defence. *Int J Surg*. 2015;18:110–117. doi:10.1016/j.ijssu.2015.03.026.
21. Quilez AM, Montserrat-de la Paz S, De la Puerta R, Fernández-Arche MA, GarcíaGiménez MD. Validation of ethnopharmacological use as anti-inflammatory of a decoction from *Annona muricata* leaves. *African J Tradit Complement Altern Med*. 2015;12(4):14–20. doi:10.4314/ajtcam.v12i4.3.
22. Djamiatun K, Albakoush HM, Kristina TN, Nugroho D. *Annona muricata* associated with reduced macrophage phagocytic index of Swiss mice during cerebral malaria phase. *Adv Sci Lett*. 2017;23(4):3372–3375. doi:10.1166/asl.2017.9171
23. Sara F, Edi D, Djamiatun K. The Effectiveness Combination of Soursop Leaf Water Extract ( *Annona muricata* ) and Artemisinin Based Combine Therapy on Increased Spleen CCL22 Production. *Int J Allied Med Sci Clin Res*. 2019;7(4):1297–1301.