

## Ekspresi VEGF Sel Adenokarsinoma Mamma Pada Pemberian Oral Ekstrak *Andrographis paniculata*

### (VEGF Expression of Adenocarcinoma Mammae After Oral Administration of *Andrographis Paniculata* Extract )

NUGRAHANINGSIH<sup>1\*</sup>, SARJADI<sup>2</sup>, EDI DHARMANA<sup>3</sup>,  
HERTANTO WAHYU SUBAGIO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Jln. Raya Sekaran-Gunungpati  
Semarang, 50229.

<sup>2</sup>Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. H Soedarto,  
SH, Tembalang, Semarang, 50275.

<sup>3</sup>Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

<sup>4</sup>Bagian Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Diterima 5 Juli 2014, Disetujui 12 Maret 2015

**Abstrak:** Angiogenesis pada pertumbuhan kanker diperlukan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan oksigen untuk pertumbuhan dan metastasisnya. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) merupakan proangiogenesis yang paling potensial pada proses angiogenesis. Penelitian dengan menggunakan ekstrak *Andrographis paniculata* secara *in vitro* menunjukkan kecenderungan penurunan kadar VEGF serum galur sel kanker PC-3. Penelitian *in vivo* secara oral memungkinkan hasil yang berbeda. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh ekstrak *Andrographis paniculata* yang diberikan secara oral terhadap ekspresi VEGF pada jaringan adenokarsinoma mamma mencit C3H. Sebanyak 24 ekor mencit C3H yang telah tumbuh kanker mamma dibagi secara acak menjadi 4 kelompok. Selanjutnya diberikan ekstrak *Andrographis paniculata* secara oral selama 14 hari dengan dosis 5 mg/ekor/hari, 10 mg/hari, dan 15 mg/hari. Satu kelompok sebagai kontrol tidak mendapatkan ekstrak *Andrographis paniculata*. Ekspresi VEGF diperiksa dengan imunohistokimia. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian peroral ekstrak sambiloto 5, 10 dan 15 mg/hari menurunkan ekspresi VEGF ( $p=0,000$ ,  $r=-0,953$ ). Ekspresi VEGF tertinggi 24,8 didapatkan pada kelompok kontrol dan terendah 19,4 pada kelompok yang mendapat ekstrak 15 mg/hari. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak sambiloto per oral menurunkan ekspresi VEGF pada jaringan adenokarsinoma mamma mencit.

**Kata kunci:** *Andrographis paniculata*, ekspresi VEGF, adenokarsinoma mamma.

**Abstract:** Angiogenesis was needed to fulfill nutrition and oxygen demand for tumor growth and its metastase. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) was a potential proangiogenic factor of angiogenesis process. *In vitro* study of *Andrographis paniculata* extract showed decreasing tend of VEGF level serum on PC-3 cancer cell line. The aim of this study was to prove the effect of oral administered *Andrographis paniculata* extract on VEGF expression of adenocarcinoma mammae C3H mice. Twenty four mice was transplanted with adenocarcinoma mammae randomly to four groups. *Andrographis paniculata* extract at dose 5, 10, and 15 mg/day were given on mice group along 14 days. One group another as a control. VEGF expression were examined use immunohistochemistry staining. Anova test showed difference VEGF expression among reseach groups ( $p=0,000$ ,  $r=-0,953$ ). The highest of VEGF expression index 24,8 was found on control group, and the lowest 19,4 was found on group which received 15 mg/day. We concluded that oral administration of *Andrographis paniculata* extract decreased VEGF expression of adenocarcinoma mamme C3H mice.

**Keywords:** VEGF expression, *Andrographis paniculata*, adenocarcinoma mammae.

\* Penulis korespondensi, Hp. 081325630638  
e-mail: nugrahaningsihwh@yahoo.com

## PENDAHULUAN

PERTUMBUHAN jaringan neoplastik yang cepat serta invasinya memerlukan nutrisi yang lebih banyak dibandingkan jaringan normal. Nutrisi tersebut diperoleh melalui pembentukan jaringan vaskuler baru. Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada. Angiogenesis dapat merupakan proses fisiologi seperti pada perkembangan organ dan diferensiasi selama embriogenesis, penyembuhan luka dan fungsi reproduksi, tetapi dapat pula terjadi pada proses patologis seperti pada tumorigenesis. Angiogenesis pada pertumbuhan kanker diperlukan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan oksigen, terkait dengan pertumbuhannya yang cepat dan metastasisnya.

Angiogenesis dipengaruhi oleh faktor proangiogenesis dan antiangiogenesis. Sejumlah besar faktor proangiogenik yang telah diidentifikasi diklasifikasikan dalam faktor pertumbuhan, sitokin, kemokin, enzim dan prostaglandin. Proangiogenik yang termasuk dalam kelompok faktor pertumbuhan yaitu *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *acidic fibroblast growth factor* (aFGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor beta-1* (TGF- $\beta$ 1), *transforming growth factor alpha* (TGF- $\alpha$ ), dan *hepatocyte growth factor* (HGF), *placenta growth factor* (PlGF), dan *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF). Proangiogenik yang termasuk dalam kelompok sitokin adalah *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-1 (IL-1) dan Interleukin-8 (IL-8). Proangiogenik dari golongan enzim adalah *platelet-derived endothelial cell growth factor* (PD-ECGF) dan angiogenin. Prostaglandin E1 (PGE-1) dan prostaglandin E2 (PGE-2) merupakan proangiogenik dari golongan prostaglandin<sup>(1)</sup>.

VEGF merupakan proangiogenesis yang paling potensial pada proses angiogenesis. Kelompok VEGF memiliki 5 tipe yaitu: VEGF-A, *placenta growth factor* (PlGF), VEGF-B, VEGF-C dan VEGF-D<sup>(2,3)</sup>. Reseptor VEGF (VEGFR) diekspresikan oleh sel endotel dan beberapa sel non endotel<sup>(4,5)</sup>.

Angiogenesis pada kanker mamma menunjukkan adanya hubungan antara tingginya kandungan faktor angiogenik pada serum, tingginya densitas pembuluh darah pada jaringan tumor, dengan prognosis yang kurang baik dari penyakit. Penghambatan VEGF dan reseptornya menunjukkan pengaruhnya pada angiogenesis beberapa tumor padat termasuk kanker mamma, kanker kolon, kanker kandung kemih, kanker lambung, dan kanker prostat<sup>(6)</sup>. Beberapa strategi dikembangkan dengan target jalur VEGF sebagai bagian dari terapi antikanker. Pendekatan

untuk menghambat kerja VEGF yaitu penghambatan sekresi VEGF endogen dari tumor, netralisasi VEGF dalam mikrosirkulasi, dan mencegah ikatan VEGF dengan reseptornya dan selanjutnya menghambat sinyal transduksi.

Andrografolid yang diisolasi dari sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme apoptosis terhadap sel kanker HeLa<sup>(7)</sup>. Selain itu juga dapat menginduksi apoptosis sel TD-47 galur sel dari *human breast cancer*, yang dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu paparan dengan indikator adanya peningkatan ekspresi p53, bax, caspase-3 dan penurunan ekspresi bcl-2<sup>(8)</sup>. Ekstrak aquades dari *Andrographis paniculata* yang diberikan pada kultur sel adenokarsinoma mamma dari mencit C3H menunjukkan adanya peningkatan apoptosis mulai pada konsentrasi 1 mg/L<sup>(9)</sup>. Penelitian secara *in vitro* terhadap sel line kanker prostat PC-3 yang diberi ekstrak sambiloto menunjukkan adanya kecenderungan penurunan kadar VEGF sesuai dengan peningkatan dosis<sup>(10)</sup>. Ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid juga dapat menghambat angiogenesis tumor spesifik pada melanoma B16F-10 baik secara *in vitro* maupun *in vivo*<sup>(11)</sup>.

Penelitian dengan menggunakan ekstrak sambiloto yang dilakukan secara *in vitro* telah memberikan hasil yang menunjukkan pengaruhnya terhadap kadar VEGF serum galur sel kanker prostat. Adanya pengaruh lingkungan mikro terhadap pertumbuhan jaringan kanker dalam hubungannya dengan terapimemungkinkan hasil yang berbeda antara penelitian secara *in vitro* dan *in vivo*<sup>(12)</sup>. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh ekstrak *Andrographis paniculata* yang diberikan secara oral terhadap ekspresi VEGF pada jaringan adenokarsinoma mamma mencit C3H.

## BAHAN DAN METODE

**Desain dan Perlakuan.** Penelitian dilakukan dengan desain *the randomized posttest only control group*. Sampel penelitian adalah 24 ekor mencit C3H yang telah tumbuh kanker adenokarsinoma mamma. Variabel bebas adalah pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* per oral dengan dosis 5, 10 dan 15 mg/hari selama 14 hari. Variabel terikat adalah ekspresi VEGF pada jaringan adenokarsinoma mamma. Ekstrak *Andrographis paniculata* diberikan secara oral melalui sonde sekali sehari selama 14 hari. Pada hari ke 15 mencit diterminasi dengan eter dan jaringan kanker diekstirpasi. Jaringan kanker mamma dimasukkan dalam larutan formalin buffer untuk fiksasi. Selanjutnya dibuat blok parafin untuk pemeriksaan ekspresi VEGF dengan imunohistokimia.

Penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Bidang Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS.Dr. Kariadi Semarang.

**Hewan Coba.** Mencit C3H diperoleh dari Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Sebanyak 24 ekor mencit C3H ditransplan dengan menyuntikkan 0,2 mL bubur sel adenokarsinoma mamma dari mencit donor. Tujuh hari setelah transplantasi telah teraba tumor pada lokasi penyuntikan. Mencit yang telah tumbuh kanker mamma dengan diameter kira-kira 1 cm dibagi secara acak menjadi 4 kelompok masing-masing 6 ekor. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di laboratorium Eksperimental Departemen Patologi Anatomi FK UI.

**Penghitungan Ekspresi VEGF.** Pemeriksaan ekspresi VEGF menggunakan kit VEGF Ab-1 (Biocare Rb 222). Penghitungan ekspresi VEGF dilakukan dengan mikroskop cahaya. Pemeriksaan mula-mula dilakukan dengan perbesaran lemah (40x) untuk memilih 5 daerah dengan densitas yang tinggi. Selanjutnya masing-masing daerah tersebut diperiksa dengan perbesaran kuat (400x). Setiap daerah diperiksa sebanyak 200 sel sehingga total ada 1000 sel yang diperiksa<sup>(13)</sup>. Ekspresi VEGF adalah persentase sel yang positif dari jumlah sel yang dihitung. Pemeriksaan ekspresi VEGF dengan metode imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM/RS dr.Sardjito.

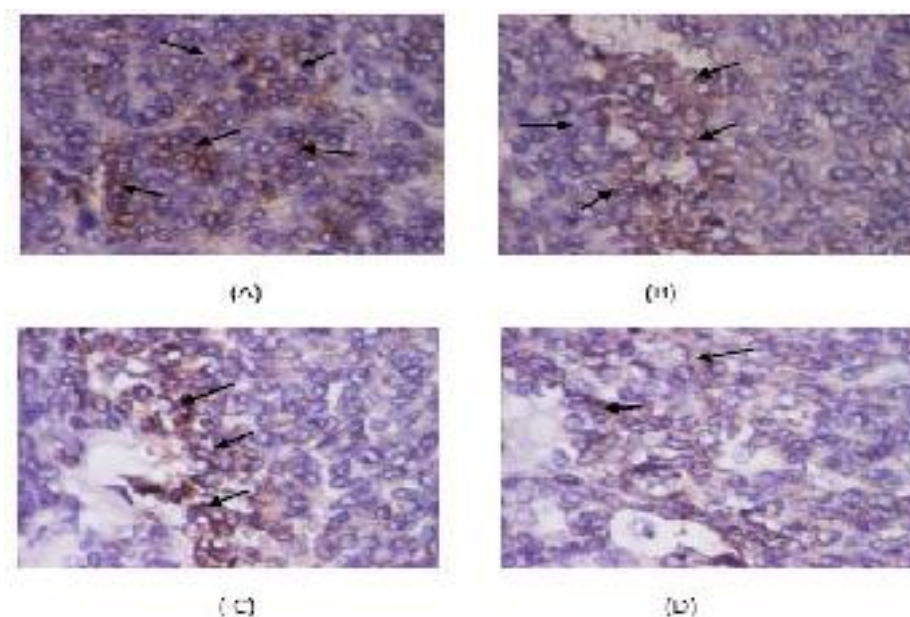
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sel dengan VEGF positif nampak sebagai sel dengan sitoplasma yang tercat coklat pada pemeriksaan

imunohistokimia (Gambar 1). Ekspresi VEGF tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol adalah 24,8 dan terendah 19,4 pada kelompok yang mendapat ekstrak 15 mg/hari. Uji Anova menunjukkan adanya perbedaan rerata kelompok penelitian dengan nilai  $p=0,000$  (Tabel 1). Hasil uji Pearson menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara dosis yang diberikan dengan ekspresi VEGF ( $r=-0,953$ ).

Penelitian secara *in vivo* merupakan penelitian yang penting untuk melihat efek terapi ekstrak *Andrographis paniculata* sebagai antikanker. Penelitian *in vivo* dilakukan pada mencit strain C3H yang secara spesifik sering digunakan untuk penelitian kanker mamma. Pemberian obat atau zat tertentu melalui oral akan mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Obat yang sampai ke sel target dan menimbulkan efek sangat tergantung pada proses absorpsi dan distribusi obat sampai pada sel target. Proses tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kondisi fisiologi saluran cerna, mekanisme absorpsi seperti transport aktif, karier protein (transporter) yang diekspresikan dan kondisi patologi individu.

Penelitian yang telah dilakukan dengan memberikan ekstrak sambiloto secara oral terhadap mencit C3H yang telah tumbuh tumor dari transplan adenokarsinomamma menunjukkan adanya penurunan ekspresi VEGF pada mencit yang mendapatkan ekstrak dibanding yang tidak mendapatkan ekstrak. Ekspresi VEGF yang menurun tersebut menunjukkan adanya pengaruh sambiloto terhadap angiogenesis. Penurunan ekspresi VEGF telah mulai nampak pada kelompok yang mendapat ekstrak sambiloto dosis 5 mg/hari dan semakin menurun dengan bertambahnya



Gambar 1. Ekspresi VEGF pada kelompok kontrol (A), dosis 5 mg/hari (B), 10 mg/hari (C) dan 15 mg/hr (D).

**Tabel 1. Rerata ekspresi VEGF dan hasil uji anova.**

Kelompok	Rerata	Anova*
Kontrol	22,55 ± 1,891	
Dosis 5 mg	19,03 ± 1,968	0,000
Dosis 10 mg	13,32 ± 1,921	
Dosis 15 mg	9,02 ± 0,458	

Keterangan = \*Tingkat kemaknaan 0,05.

dosis. Dosis 15 mg/ekor/hari memberikan hasil yang paling baik dalam penelitian ini.

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Zhao *et al.* Penelitian dilakukan untuk melihat pengaruh andrografolid yang diisolasi dari tanaman *Andrographis paniculata* terhadap kadar VEGF serum pada kultur sel line kanker prostat (PC-3). Andrografolid diberikan dengan konsentrasi 0; 1,25; 2,5; 5, 10 dan 20 µmol/L. Pemeriksaan kadar VEGF pada supernatan dilakukan setelah inkubasi selama 48 jam. Andrografolid yang diberikan pada kultur sel PC-3 dapat menurunkan pelepasan VEGF oleh sel kanker tersebut. Efek penghambatan mulai terlihat pada konsentrasi 1,25 µmol/L dan semakin kuat dengan bertambahnya konsentrasi andrografolid.

Penelitian lain dilakukan oleh Sheeja *et al.* yang mengeksplorasi efek anti angiogenesis dari ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid terhadap angiogenesis mencit C57BL/6. Dalam penelitian tersebut digunakan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* dan andrografolid yang disuntikkan secara intraperitoneal pada mencit C57BL/6 yang telah diinduksi dengan sel line tumor melanoma B16F-10 secara intradermal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid secara intraperitoneal selama 4 hari dapat menurunkan kadar VEGF serum.

Ketiga penelitian tersebut meneliti efek ekstrak sambiloto dengan cara pemberian yang berbeda yaitu secara oral, langsung pada sel kultur, dan injeksi intraperitoneal. Hasil yang didapatkan adalah adanya penurunan ekspresi VEGF jaringan kanker atau penurunan kadar VEGF serum. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak sambiloto dapat menurunkan ekspresi VEGF baik diberikan secara langsung pada sel kultur, ketika diberikan secara oral maupun ketika ketika diberikan secara intraperitoneal.

Pertumbuhan jaringan tumor yang cepat menyebabkan bertambahnya kebutuhan nutrisi dan oksigen. Konsentrasi O<sub>2</sub> menurun secara nyata pada sekitar jaringan kanker bila dibandingkan dengan jaringan normal<sup>(14)</sup>. Keadaan hipoksia ini memicu pelepasan faktor pro-angiogenesis HIF-1. Protein kompleks HIF-1 mengikat pada sekuen gen VEGF-A, gen erythropoetin (EPO) dan gen penting lain yang

berhubungan dengan enzim glikolitik dan transport glukosa, yang berpengaruh terhadap aspek-aspek biologi kanker seperti immortalitas sel, ketidakstabilan genetik, pemeliharaan stem sel, metabolisme energi dan glukosa, vaskularisasi, invasi, metastasis dan resistensi terhadap terapi<sup>(15)</sup>.

Pertumbuhan jaringan kanker sangat dipengaruhi oleh lingkungan dimana tumor tersebut tumbuh. Lingkungan mikro tersebut meliputi respon imun, kadar oksigen, penyediaan nutrisi, hormon pertumbuhan dan lain-lain. Selain itu adanya jaringan penyokong turut berperan dalam mempengaruhi pertumbuhan jaringan kanker.

Tumor tidak dapat bertambah ukurannya dari 1 mm menjadi 2 mm apabila tidak memiliki vaskularisasi. Diperkirakan zona 1 sampai 2 mm merupakan jarak maksimal dari pembuluh darah yang dapat ditempuh oleh oksigen dan nutrien melalui proses difusi. VEGF merupakan faktor kunci untuk signaling spesifik sel endotel dalam proses angiogenesis yang patologis, termasuk neovaskularisasi jaringan neoplastik. VEGF berpengaruh terhadap vaskulatur tumor melalui tiga cara yaitu a) pada tahap awal perkembangan, VEGF membantu terbentuknya vaskulatur baru, b) pada jaringan tumor yang sedang berkembang, VEGF membantu pembuluh darah yang sudah terbentuk untuk tumbuh dan memberikan suplai darah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tumor lebih lanjut dan untuk metastase, dan c) selama pertumbuhan tumor, VEGF membantu keberadaan atau kelangsungan vaskulatur sehingga dapat memenuhi kebutuhan metabolisme tumor.

Transkripsi yang dimediasi hipoksia dan faktor yang disekresi oleh pertumbuhan tumor dan jaringan penyokong menyebabkan suatu up regulasi dan aktivasi dari reseptor *growth factor*. Hasilnya adalah peningkatan permeabilitas vaskuler, ekspresi *matrix metalloproteinases* (MMPs) jaringan, dan kadang-kadang digesti matriks, yang diperlukan untuk pergerakan sel endotel. Peningkatan mitogenesis sel endotel, penyebaran dan aktivasi faktor-faktor lain menyebabkan pembentukan dan perpindahan/pergerakan sel endotel, termasuk sel pendukung lain seperti perisit, yang akan menyebabkan ekstensi pembuluh darah, peningkatan integritas kapiler, diferensiasi sel pendukung pembuluh mikro, dan pembentukan jaringan vaskuler.

VEGF tidak hanya memainkan peran dalam induksi angiogenesis, tetapi juga penting dalam mendukung keberlangsungan pembuluh darah baru yang terbentuk pada tumor. VEGF meregulasi beberapa fungsi sel endotel yaitu proliferasi, permeabilitas, *vascular tone* dan produksi molekul vasoaktif. Pada ikatan ligan, reseptor tyrosin

mengalami fosforilasi sehingga reseptornya dapat berikatan dan mengaktifasi sejumlah molekul signaling seperti fosfatidilinositol 3-kinase (PI3K), Shc, Grb2, SHP-1 dan SHP-2. Aktivasi reseptor VEGF dapat menginduksi aktivasi kaskade MAPK melalui stimulasi Raf yang menyebabkan ekspresi gen dan proliferasi sel; aktivasi PI3K yang menyebabkan aktivasi PKB dan survival sel; aktivasi PLC- $\gamma$  yang menyebabkan proliferasi sel, permeabilitas pembuluh darah dan angiogenesis.

Menurunnya ekspresi VEGF juga dapat terjadi melalui mekanisme penghambatan terhadap kadar NO<sup>(11)</sup>. NO merupakan molekul yang diturunkan dari L-arginin, dan dikatalisa oleh enzim-enzim *nitric oxide synthetase* (NOS). NO mempunyai berbagai efek biologi termasuk dalam neovaskularisasi. Peningkatan aktivitas NOS mempunyai korelasi positif terhadap densitas vaskuler dan pertumbuhan tumor<sup>(16)</sup>.

Pemberian ekstrak sambiloto dalam penelitian ini dapat menurunkan ekspresi VEGF, namun penurunan ekspresi VEGF pada penelitian belum sampai pada ekspresi VEGF jaringan mamma non neoplasia. Jaringan mamma non neoplasia memberikan ekspresi VEGF yang lemah<sup>(17)</sup> atau bahkan negatif<sup>(18,19)</sup>. Beberapa hal mungkin berpengaruh terhadap penurunan ekspresi VEGF yang belum mencapai jaringan non neoplastik. Faktor lingkungan mikro seperti jaringan penyokong sangat berperan dalam mempengaruhi proses angiogenesis. Sel-sel jaringan penyokong membantu pertumbuhan kanker melalui beberapa mekanisme antara lain berpengaruh langsung terhadap vaskulatur tumor dan pelepasan VEGF<sup>(20)</sup>. Jaringan penyokong yang berhubungan dengan kanker dapat memproduksi VEGF<sup>(21,22,23)</sup> karena adanya sinyal kemotaktik yang berasal dari sel kanker.

Pemberian obat atau zat tertentu melalui oral akan mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Obat yang sampai ke sel target dan menimbulkan efek sangat tergantung pada proses absorpsi dan distribusi obat sampai pada sel target. Proses tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kondisi fisiologi saluran cerna, mekanisme absorpsi seperti transport aktif, karier protein (transporter) yang diekspresikan dan kondisi patologis individu<sup>(24)</sup>. Poliglikoprotein (PgP) merupakan salah satu transporter yang berfungsi sebagai penolak senyawa yang beradanya sehingga keluar dari jaringan. Dapat mengurangi jumlah senyawa kimia atau obat yang terabsorpsi. PgP juga dapat menolak senyawa antikanker untuk masuk ke dalam jaringan kanker sehingga mengurangi efektifitas antikanker tersebut. Dalam terapi kanker diperlukan senyawa lain yang

dapat menghambat PgP sehingga senyawa antikanker dapat masuk ke dalam sel kanker<sup>(25)</sup>. Dalam penelitian ini ekstrak *Andrographis paniculata* diberikan sebagai zat tunggal, sehingga belum dapat disingkirkan peran PgP dalam mempengaruhi efeknya terhadap sel target.

Belum adekuatnya penurunan ekspresi VEGF belum dapat dijelaskan secara pasti dalam penelitian ini. Namun hal ini menunjukkan bahwa lingkungan mikro dan faktor-faktor biologi dalam tubuh mempunyai andil yang tidak dapat diabaikan dalam mempengaruhi efek suatu zat aktif terhadap sel target. Beberapa kemungkinan penyebab masih memerlukan penelitian lebih lanjut, antara lain: dosis yang kurang memadai, waktu pemberian yang kurang lama, sistem imun mencit atau faktor-faktor lain yang mempengaruhi farmakokinetik dan farmakodinamik sambiloto.

## SIMPULAN

Ekstrak aquades sambiloto yang diberikan secara oral dapat menurunkan ekspresi VEGF pada jaringan adenokarsinoma mamma mencit C3H. Pemberian ekstrak sambiloto dosis 15 mg/hari memberikan pengaruh yang paling baik meskipun belum dapat mencapai ekspresi VEGF jaringan non neoplastik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian didanai oleh program Penelitian Desentralisasi dari Dirjen Dikti tahun 2013.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Billioux AC, Modlick U, Bicknell R. Angiogenesis. In: Alison MR, editor. The cancer handbook. 2<sup>nd</sup> Ed. Duarte: John Wiley&Sons Ltd.; 2007.
2. Charnock-Jones S. Vascular Endothelial Growth Factors (VEGFs), their receptors and their inhibition. Cell transmissions. 2005. 21(1).
3. Ferrara N. vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. Endocrine Reviews 2004. 25:581-611.
4. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor and its receptor. The FASEB Journal. 1999. 13:9-22.
5. Su JL, Chen PS, Chien MH, Chen PB, Chen YH, Lai CC, Hung MC, Kuo ML. Further evidence for expression and function of the VEGF-C/VEGFR-3 axis in cancer cell. Cancer Cell. 2008. 13:57-60.
6. Ferrara N, Davis Smith T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocrine Review. 1997. 18:4-25.
7. Sukardiman, Rahman A, Ekasari W, Sismindari. Induksi apoptosis senyawa andrographolida dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap

- kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan*. 2005. 21(3):105-10.
8. Sukardiman, Harjotaruno, Widyawaruyanti A, Sismindari, and Zaini NC. Apoptosis inducing effect of andrographolide on TD-47 Human breast cancer cell line. *African Journal Traditional, CAM*. 2007. 4(3):345-51.
  9. Nugrahaningsih, Tjahjono, Dharmana E. Apoptosis sel adenokarsinoma mamma mencit C3H setelah pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Penelitian *In Vitro*). *Media Medika Indonesiana*. 2003. 38(3):121-4.
  10. Zhao F, He EQ, Wang L, Liu K. Anti-tumor activities of andrographolide, a diterpene from *Andrographis paniculata*, by inducing apoptosis and inhibiting VEGF level. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2008. 10(5):473-9.
  11. Sheeja K, Guruvayoorappan C, Kuttan G. Antiangiogenic activity of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *International Immunopharmacology*. 2007. 7:211-21.
  12. Shojaei F, Ferrara N. Role of the microenvironment in tumor growth and in refractoriness/resistance to anti-angiogenic therapies. *Drug Resistance Updates*. 2008. 11:219-30.
  13. Al-Dissi AN, Haines DM, Singh B, Kidney BA. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 in canine simple mammary gland adenocarcinoma. *Can Vet Journal*. 2010. 51:1109-14.
  14. Vaupel P, Mayer A, Hockel M. Tumor hypoxia and malignant progression. *Methods Enzymol*. 2004. 381:335-54.
  15. Semenza GL. HIF-1: Upstream and downstream of cancer metabolism. *Current Opinion in Genetic & Development*. 2010. 20:51-6.
  16. Laughner E, Taghavi P, Chiles K, Mahon PC, Semenza GL. HER2(neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 alpha) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol*. 2001. 21:3995-4004.
  17. Adams J, Carder PJ, Downey S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res*. 2000. 60:2898-905.
  18. Yoshiji H, Gomez DE, Shibuya M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factor in human breast cancer. *Cancer Res*. 1999. 56:2013-6.
  19. Safwat, Habib F, Elayat A, Oweiss N, Reffat S, Algaidi S. Morphometric and immunohistochemical study of angiogenic marker expressions in invasive ductal carcinomas of the human breast. *Folia Morphol*. 2009. 68(3):144-55.
  20. Liang WC, Wu X, Peale FV, Lee CV, Meng YG, Gutierrez J, Ling Fu L, Malik AK, Gerber HP, Ferrara N, and Fuh G. Cross-species vascular endothelial growth factor (VEGF)-blocking antibodies completely inhibit the growth of human tumor xenografts and measure the contribution of stromal VEGF. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2006. 281(2):951-61.
  21. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park EC, Lu N, Selig M, Nielsen G, Taksir T, Jain RK, Seed B. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell*. 1998. 94:715-25.
  22. Gerber HP, Kowalski J, Sherman D, Eberhard DA, Ferrara N. Complete inhibition of rhabdomyosarcoma xenograft growth and neovascularization requires blockade of both tumor and host vascular endothelial growth factor. *Cancer Res*. 2000. 60:6253-8.
  23. Kishimoto J, Ehama R, Ge Y, Kobayashi T, Nishiyama T, Detmar M, Burgeson RE. In Vivo detection of human vascular endothelial growth factor promoter activity in transgenic mouse skin. *Am J Pathol*. 2000. 157:103-10.
  24. Hakim L. *Farmakokinetik Klinik*. Yogyakarta: Bursa Ilmu; 2012.
  25. Marchetti S, Mazzanti R, Beijnen JH, Schellens JHM. Concise review: Clinical relevance of drug-drug and herb-drug interactions mediated by the ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *The Oncologist*. 2007. 12:927-41.