



Original Article

Efek *Eicosapentaenoic Acid* Terhadap CD8+ dalam Darah Pasien Kanker Payudara Stadium III B yang Mendapat Kemoterapi *Cyclophosphamide Adriamycin Fluorouracyl* Siklus Pertama

Rudiyuwono Raharjo* , Darwito*, Edi Dharmana**

*Bagian/SMF Ilmu Bedah dan **Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang

Abstrak

Latar belakang : Eicosapentaenoic acid (EPA) mempunyai efek sebagai imunomodulator dan meningkatkan status gizi terutama dalam kaitannya dengan tumor kakeksia pada penderita dengan keganasan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian *eicosapentaenoic acid* (EPA) terhadap jumlah sel T CD8+ pasien duktus invasif kanker payudara yang menjalani kemoterapi.

Metode : Penelitian eksperimental pada pasien wanita dengan karsinoma duktus invasif payudara stadium IIIB yang menjalani kemoterapi *Cyclophosphamide Adriamycin Fluorouracyl* (CAF) siklus I dibagi menjadi 2 kelompok : tanpa pemberian EPA (kontrol) dan diberikan EPA 225 gr/hari selama 21 hari (perlakuan). Jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer pasien diukur sebelum dan sesudah 21 hari setelah terapi.

Hasil : Empat puluh pasien mendapat kemoterapi CAF siklus I, terdiri dari 20 orang kelompok perlakuan dan 20 orang kelompok kontrol. Jumlah sel T CD8+ setelah terapi pada kelompok perlakuan lebih tinggi secara bermakna 1131,7 sel/ μ l (483–3506) dibanding kelompok kontrol 631,8 sel/ μ l (227–1616) ($p < 0,05$) dan diperoleh selisih jumlah sel T CD8+ yang berbeda bermakna sebelum dan 21 hari setelah kemoterapi pertama pada kedua kelompok penelitian ($p < 0,001$).

Simpulan : Suplementasi EPA meningkatkan jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer pasien karsinoma duktus invasif payudara stadium III B yang dilakukan kemoterapi.

Kata kunci : karsinoma duktus invasif payudara, *Eicosapentaenoic acid* (EPA), kemoterapi, CD8+

The effect of *eicosapentaenoic acid* on CD8+ number of breast cancer stadium IIIB patients receiving first cycle CAP

Abstract

Background : Eicosapentaenoic acid (EPA) has immune-modulating effects and may improve nutritional status in cancer especially in relation to its role in tumour cachexia. The aim of the study was to evaluate the efficacy of administration *eicosapentaenoic acid* for increasing the CD8+ of the stadium IIIB invasive ductus breast cancer patients underwent the first cycle chemotherapy with *Cyclophosphamide Adriamycin Fluorouracyl*.

Methods: The experimental study was conducted to women with stadium IIIB invasive ductus breast cancer who underwent chemotherapy with *Cyclophosphamide Adriamycin Fluorouracyl* (CAF) cycle I. The subjects were divided into 2 groups, the experimental group who got the EPA 225 g/day for 21 days and the control group without the EPA supplementation. The CD8+ cells number were measured before and after supplementation.

Results: Forty patients treated on the first cycle of CAF chemotherapy decided into 2 groups equally. Twenty people on the experimental group and 20 on the control group. The number of CD8+ on the experimental group was significantly increased 1131,7 cells/ μ l (483–3506) compared the control group 631,8 cells/ μ l (227–1616) ($p < 0,05$). After 21 days, significant differences between CD8+ cells number were observed before and after supplementation on both group ($p < 0,001$).

Conclusion: EPA supplementation to stadium IIIB invasive ductal breast cancer patients underwent chemotherapy increased the CD8+ cells number.

Keywords: invasive ductal breast cancer, *Eicosapentaenoic acid* (EPA), chemotherapy, CD8+

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah keganasan yang berasal dari sel pada jaringan payudara.¹ Kanker ini terjadi pada 8-9% wanita dan merupakan penyebab utama kematian pada wanita akibat kanker.^{2,3} Tujuh puluh delapan persen kanker payudara terjadi pada pasien yang berusia lebih dari 50 tahun dan hanya 6% pada pasien yang kurang dari 40 tahun dan setiap tahun didapatkan lebih dari 250.000 kasus baru di Eropa dan kurang lebih 175.000 di Amerika Serikat dengan rerata usia 64 tahun.^{2,3}

Diagnosis kanker payudara ditegakkan berdasar pemeriksaan klinis dan penunjang.^{2,3} Pemeriksaan klinis pada akhirnya akan menunjukkan stadium klinis dalam bentuk TNM dan status performa yang dinilai berdasarkan Indeks Karnofsky.^{2,3} Pemeriksaan penunjang meliputi pemeriksaan radiologis, parameter laboratoris, gambaran histopatologis serta ekspresi biomolekuler sel kanker.^{2,3} Jenis terbanyak yang ditemukan berdasarkan data registrasi kanker di pusat-pusat pendidikan di Indonesia adalah karsinoma duktus invasif dengan stadium lokal lanjut stadium IIIB.¹

Terapi yang diberikan pada pasien karsinoma duktus invasif payudara stadium III B tersebut adalah kemoterapi *neoadjuvant*.⁴ Kemoterapi hampir selalu diberikan secara multi agen berupa regimen dengan siklus tertentu untuk mendapat efek yang maksimal dan mengurangi resistensi sel kanker pada jenis pengobatan tunggal.^{3,4} Pemberian kemoterapi bersifat multi agen yang dikenal sebagai regimen. Para ahli bedah onkologi di Indonesia menetapkan regimen kemoterapi lini pertama adalah siklofosamid adriamisin - 5 - fluorourasil (CAF) dengan agen utama adalah antrasiklin dengan angka objective response rate pasca kemoterapi regimen ini berupa *partial response* dan *complete response* (CR/PR) sekitar 22%-40%.^{2,4} Penggunaan antrasiklin berpotensi menimbulkan efek samping terhadap sel normal termasuk di dalamnya adalah sistem imunitas seluler yang berada di dalam sistem perondaan sel kanker yaitu sel limfosit T CD8+ di dalam darah pasien.^{4,5,6} Antrasiklin dapat menginduksi mielosupresi ditandai dengan menurunnya limfosit setelah hari ke 7 sampai 10 setelah pemberian, dan terjadi pemulihan setelah hari ke 21.^{4,5}

Banyak zat yang diambil dari alam dan dibentuk ekstraknya agar dapat meningkatkan kemampuan imunitas dalam membunuh sel kanker maupun menghindari efek supresi akibat terapi yang diberikan pada inang. Zat ini salah satunya adalah *Eicosapentaenoic acid* (EPA) yang merupakan asam lemak esensial yang banyak terdapat di alam dengan harga terjangkau.⁷ *Eicosapentaenoic acid* dalam keseharian sering ditemui dalam bentuk omega-3 yang bisa didapat dari protein hewani seperti telur, ikan hering, ikan makarel, ikan salmon.⁷ Selain itu telah diproduksi EPA dalam bentuk susu bubuk dengan berbagai rasa agar memudahkan

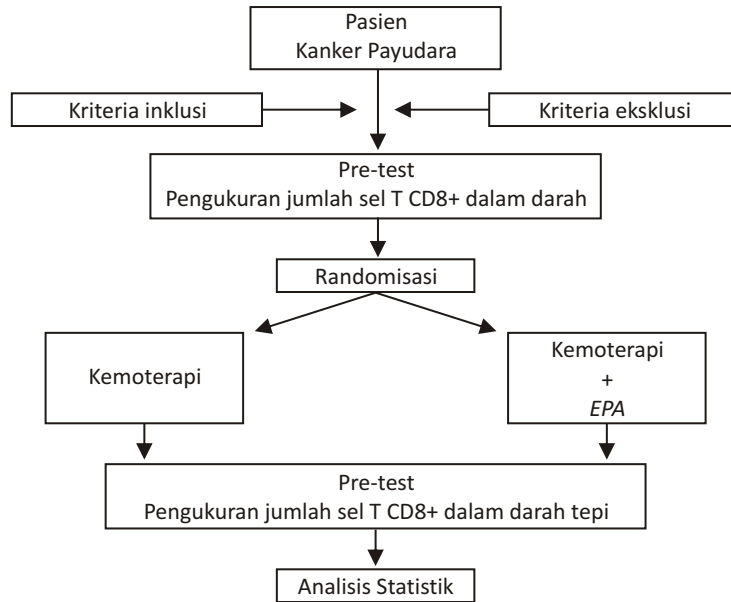
pasien untuk mengkonsumsinya.⁷ Dalam hal imunitas, EPA berfungsi sebagai suplemen untuk aktivitas imun seluler yang telah dibuktikan pada penelitian *in vitro* pada hewan yang telah diinokulasi keganasan payudara, dan didapatkan adanya perbedaan respon imun pada hewan sehat dengan suplementasi dengan hewan dengan kanker yang diberi suplementasi.⁸ Telah banyak penelitian yang dilakukan pada hewan namun belum dibuktikan pada manusia.

Melalui mekanisme anti inflamasi, EPA menimbulkan efek stimulator dan EPA mendapat perhatian khusus menyangkut fungsinya sebagai prekursor asam eicosanoid dengan jumlah karbon 20 yang penting secara fisiologis. Asam ini termasuk kelompok substansi yang secara fisiologis potensial yaitu prostaglandin, *thromboxan* dan leukotrien yang berperan sebagai mediator inflamasi.⁶ Ketiga substansi ini terbentuk dari prekursor asam lemak dengan masuknya atom oksigen ke dalam rantai asam lemak.^{6,9}

Kanker payudara merupakan pilihan pada penelitian ini karena merupakan keganasan yang cukup tinggi insidensinya yaitu sebesar 20% dari seluruh keganasan, dengan stadium IIIB merupakan stadium terbanyak serta memiliki modalitas terapi yang telah disepakati di Indonesia sehingga diharapkan hasilnya dapat dipakai secara luas.¹ Preparat EPA dipilih karena banyak dan mudah didapat pada ikan laut atau minyak ikan, mengingat negara kita adalah negara bahari dengan kekayaan laut yang berlimpah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian *eicosapentaenoic acid* (EPA) terhadap jumlah sel T CD8+ pasien kanker payudara yang menjalani kemoterapi. Namun seiring penggabungan antara EPA dengan protein dan kalori akan mencegah penurunan berat badan yang sering timbul pada pasien kanker, maka preparat yang dipilih dalam penelitian ini adalah susu bubuk.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *pre and post test randomized controlled design*. Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan kriteria inklusi penderita berusia 15-70 tahun, menderita karsinoma mammae dengan stadium III B dengan gambaran histopatologi karsinoma duktus invasif payudara, dan mendapatkan kemoterapi regimen CAF siklus I. Kriteria inklusi studi ini meliputi hasil pemeriksaan patologi anatomi yang berupa karsinoma duktus invasif dan menggunakan regimen CAF. Indeks Karnofsky ≥ 70 , dan kadar Hb >10 gr/dl sebagai syarat untuk melakukan terapi kemoterapi pada pasien. Pasien dengan kelainan hepar, paru-paru, alergi terhadap EPA, terlambat mengikuti jadwal kemoterapi lebih dari 7 hari, dan berusia di atas 70 tahun dieksklusi dari studi ini. Kriteria eksklusi adalah pasien yang alergi terhadap pemberian EPA dan pasien kanker payudara



Gambar 1. Alur penelitian

TABEL 1
Hasil uji normalitas variabel jumlah sel T CD8+

Variabel		Nilai <i>p</i>
CD8+ pre perlakuan	Kontrol	0,002
	Perlakuan	< 0,05
CD8+ post perlakuan	Kontrol	0,006
	Perlakuan	< 0,05
Selisih CD4	Kontrol	0,018
	Perlakuan	0,113

*Shapiro-Wilk

dengan kelainan hepar. Sedangkan pasien yang datang terlambat lebih dari 7 hari dari tanggal yang ditentukan untuk kemoterapi berikutnya dinyatakan *drop out*. Besar sampel dihitung berdasarkan rumus besar sampel tunggal untuk estimasi proporsi suatu populasi, dengan *confidence interval* 95%=1,96 dan tingkat ketepatan absolut =0,25 didapatkan jumlah sampel minimal sebanyak 20.³³

Pasien diambil darah vena dan diperiksa jumlah sel T CD8+ dalam darah sebelum kemoterapi. Pemeriksaan sampel darah dilakukan di laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan Agustus–Oktober 2011 dengan penyimpanan darah ditampung pada tabung vacutainer ber-antikoagulan K EDTA dan pengiriman kurang dari 24 jam. Selanjutnya dibagi secara random

menjadi kelompok perlakuan serta kontrol. Kelompok kontrol mendapatkan adriamycin dengan dosis 50mg/m² dan cyclophosphamide dengan dosis 500mg/m², fluorulasil 500mg/m². Sedangkan kelompok perlakuan mendapatkan adriamycin dengan dosis 50mg/m² dan cyclophosphamide dengan dosis 500mg/m², fluorulasil 500mg/m² diberi susu mengandung EPA dengan dosis 75 gr/ 240 ml/saji 3 kali sehari sejak hari pertama kemoterapi sampai 21 hari. Setelah itu pasien diulang pemeriksaan jumlah sel T CD8+ dari darah vena perifer. Alur penelitian seperti pada gambar 1.

Data hasil penelitian meliputi jumlah sel T CD8+ sebelum dan sesudah pemberian EPA dari kelompok kontrol dan perlakuan serta selisih jumlah sel T CD8+ sebelum dan sesudah perlakuan. Data disajikan dalam bentuk tabel. Sebelum dilakukan analisis dilakukan uji normalitas dengan Shapiro-Wilk.³² Distribusi data yang tidak normal dilakukan transformasi data. Perbedaan antar kelompok *pre-test* dan *post-test* dianalisis dengan uji *Wilcoxon signed rank test* sedangkan uji beda antara kelompok kontrol dengan perlakuan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Semua uji hipotesis dilakukan pada $\alpha=0,05$.

Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS Dr. Kariadi Semarang no.150/EC/FK/RSDK/2011, dan dimintakan persetujuan pasien (*informed consent*) setelah mendapatkan penjelasan mengenai penelitian ini. Responden tidak dibebani biaya tambahan untuk pengambilan data yang dibutuhkan peneliti.

TABEL 2
Hasil uji beda jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	Kontrol	Perlakuan	Nilai p
CD8+ pre perlakuan	700,5 (170 – 2396)	772,35 (289 – 3462)	0,495*
CD8+post perlakuan	631,8 (227 – 1616)	1131,7 (483 – 3506)	0,001*
Selisih CD8+	-68,7 (-1811 – 648)	359 (13 – 748)	0,003*

*Uji Mann-Whitney

TABEL 3
Hasil uji beda jumlah sel T CD8+ antara sebelum dan sesudah perlakuan

Variabel	Jumlah sel T CD 8+		Nilai p
	Pre perlakuan	Post perlakuan	
Kontrol	700,5 (170 – 2396)	700,5 (170 – 2396)	0,495*
EPA	772,35 (289 – 3462)	1131,7 (483 – 3506)	0,001*

*Tes Wilcoxon

HASIL

Penelitian ini melibatkan pasien wanita dengan rerata usia 45,95 ± 5,03 tahun sedangkan kelompok perlakuan (EPA) 46,0 ± 5,56 tahun. Uji normalitas data menunjukkan kelompok kontrol memiliki sebaran normal ($p=0,065$) namun untuk kelompok perlakuan adalah abnormal ($p=0,35$). Uji *Mann-Whitney* menunjukkan keduanya tidak memiliki perbedaan bermakna ($p>0,05$) dengan nilai $p=0,583$.

Jumlah sel T CD8+ diukur sebelum dan setelah 20 hari perlakuan. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah sebaran datanya normal atau tidak. Pada penelitian ini dipilih uji *Saphiro-Wilk* dengan pertimbangan jumlah sampel adalah 40 pasien (<50 pasien).

Uji beda dilakukan pada variabel jumlah sel T CD8+ pre dan post perlakuan serta selisih jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan. Variabel jumlah CD8+ pre dan jumlah sel T CD8+ post tersebut digunakan uji *Wilcoxon* mengingat sebaran kelompok perlakuan yang abnormal ($p>0,05$). Variabel selisih jumlah sel T CD8+ pada kedua kelompok dilakukan uji *Mann-Whitney*. Nilai p ketiganya disajikan dalam tabel 2.

Berdasarkan hasil tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa tidak didapat perbedaan bermakna ($p=0,495$) pada jumlah sel T CD8+ sebelum perlakuan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kedua kelompok dapat saling dibandingkan pengukurannya satu sama lain pasca perlakuan. Variabel jumlah CD8+ post perlakuan dari kedua kelompok menunjukkan perbedaan yang berbeda bermakna secara statistik ($p=0,001$). Variabel selisih jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan

perlakuan juga menunjukkan hasil berbeda bermakna ($p=0,003$).

Analisis data dilanjutkan dengan melakukan uji beda secara terpisah antara kelompok kontrol dan perlakuan antara sebelum dan sesudah perlakuan, seperti yang ditampilkan dalam tabel 3. Analisis uji beda dilakukan dengan *Wilcoxon* mengingat sebaran data yang abnormal pada kedua kelompok.

Hasil uji beda ini menunjukkan pada kelompok kontrol didapatkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara rerata pre perlakuan dan post perlakuan ($p=0,911$). Sementara itu dari hasil uji rerata pada pada kelompok perlakuan didapatkan rerata yang meningkat dari 772 menjadi 1131 dengan nilai $p<0,05$ sehingga didapatkan peningkatan yang bermakna pada kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Penilaian terhadap rerata jumlah sel T CD8+ pada kelompok kontrol sebelum dan sesudah kemoterapi tampak bahwa terjadi penurunan dari 700 sel/ μ l menjadi 631 sel/ μ l. Hal ini menunjukkan bahwa supresi sel T CD8+ memang terjadi pada pasien yang menderita karsinoma duktal invasif payudara yang menjalani kemoterapi CAF sebagai neo adjuvant. Hasil ini sesuai dengan banyak penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa supresi sistem imun memang terjadi. Supresi sistem imun ini dapat terjadi oleh karena kemoterapi yang diberikan pada pasien. Hasil analisis ini kontras dengan rerata jumlah sel T CD8+ pada kelompok perlakuan pre dan post perlakuan yaitu sebelum perlakuan rerata 772 sel/ μ l meningkat menjadi 1131 sel/ μ l. Apabila dibandingkan kedua angka ini

mengalami peningkatan yang bermakna ($p < 0,05$).

Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Catherine J Field, pemberian EPA meningkatkan jumlah sel T CD8+ baik pada darah perifer maupun intra tumor. Aktivitas sel NK dan fagositosis yang dimediasi oleh makrofag dimana distimulasi oleh sel T CD4+ yang berakibat pada aktivasi sel T CD8+ yang akan melakukan stimulasi apoptosis terhadap sel ganas. Sel T CD4+ dapat memfasilitasi imunitas anti tumor melalui beberapa jalan, antara lain: sel T CD4+ mampu memproduksi beberapa sitokin yang mampu memfasilitasi perkembangan dan pematangan dari sel T CD8+.³¹⁻³⁴ Sitokin itu antara lain sitokin tipe 1 seperti IL1, IL2, dan IFN. Sitokin tipe 2 seperti IL4, IL5, IL10 dan IL13. Selain itu beberapa sitokin seperti GM-CSF dan IL3. Sel T CD4+ juga mampu membantu sel T CD8+ dengan menghasilkan CD40 pada APC yang mempunyai efek antigen presentasi dan co stimulator dan yang terakhir sel T CD4+ dapat secara langsung maupun tidak langsung melisis sel target. Sebagai contoh GM-CSF mengaktifkan tumor spesifik CD4+ yang memacu beberapa sitokin. Sitokin ini mampu mengaktifkan makrofag dan eosinofil menghasilkan nitrit oksida dan superoksida yang mampu melisis sel.^{9,35}

EPA merupakan asam lemak *polyunsaturated* yang telah banyak diteliti penggunaannya sebagai salah satu bentuk terapi *adjuvant* di berbagai penyakit mulai dari demensia, penyakit jantung koroner, infark miokard, kanker, skizofrenia dan lain sebagainya.^{36,37} Pada penyakit kanker sendiri, EPA banyak disebut sebagai bentuk terapi *adjuvant* yang menjanjikan dan telah banyak diteliti. Hasil penelitian EPA sendiri hingga saat ini sangat bervariasi, sebagian menunjukkan efektif, sebagian tidak. Penelitian Mantovani G et al menunjukkan bahwa terapi EPA sebanyak 237gr/hari, disertai diet lain yang kaya kandungan polifenol 400mg/hari, medroxiprogesterone acetate 500mg/hari, A-lipoic acid 300mg/hari, carbocysteine lysine salt 2,7g/hari, vitamin E 400 mg/hari, vitamin A 30,000 IU/hari, vitamin C 500 mg/hari, dan selective cyclooxygenase-2 inhibitor Celecoxib 200 mg/hari merupakan bentuk terapi yang aman sekaligus efektif pada sindrom cachexia pada kanker. Indikator keberhasilan terapi ini antara lain peningkatan nafsu makan, penurunan radikal bebas oksigen dan kadar sitokin proinflamasi, serta peningkatan kualitas hidup.^{36,37} Penelitian Bruera E et al menunjukkan hasil yang serupa hanya dengan menggunakan intervensi berupa minyak ikan yang kaya kandungan EPA.³¹ Penelitian Kimura Y dan Sumiyoshi M merupakan satu dari banyak penelitian terbaru yang berusaha mengungkapkan jalur anti tumor dan anti metastase dari EPA. Hingga saat ini walau telah terbukti memiliki fungsi sebagai anti tumor dan anti metastasis, mekanisme bagaimana EPA dapat melakukan itu masih menjadi misteri.³¹

Hasil penelitian ini terjadi peningkatan jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini memberikan kesan bahwa pemberian EPA mengurangi tingkat immunodepresi yang dialami pasien-pasien kanker. Penurunan jumlah sel T CD8+ dalam darah hanya terjadi pada kelompok kontrol sedangkan pada kelompok perlakuan seluruhnya mengalami peningkatan, kemudian dibandingkan delta/ selisih jumlah CD8+ pada kedua kelompok.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilainnya faktor asupan diet pasien yang mungkin dapat berpengaruh pada imunitas pasien, status gizi pasien serta tidak dikerjakannya pengukuran kadar IL-2 dan IL-12 yang merupakan sitokin yang memicu jumlah CD8+ dalam darah pasien.

SIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini yaitu jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer pasien karsinoma duktus invasif payudara stadium III B yang dilakukan kemoterapi dan diberi EPA lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol tanpa EPA. Terdapat peningkatan jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer pasien karsinoma duktus invasif payudara stadium III B yang dilakukan kemoterapi dan diberi EPA, sedangkan kelompok kontrol tanpa EPA mengalami penurunan jumlah sel T CD8+.

Penelitian serupa yang dilakukan juga mempertimbangkan pola diet pasien sehari-hari disamping EPA yang dikonsumsi. Penelitian serupa dapat dilakukan dengan memperkirakan status gizi pasien. Pengukuran kadar serum IL-2 dan IL-12 dapat dilakukan sebagai variabel untuk mengetahui peningkatan sel T CD8+

DAFTAR PUSTAKA

1. Tjakra WM, editor. Panduan penatalaksanaan kanker solid PERABOI. 2nd ed. Jakarta: Sagung Seto; 2010. p31-58.
2. Ramli M. Management of breast cancer. In : Mukhtamar Nasional VI PERABOI; Semarang, Indonesia ; 18-20 September 2003.
3. National Comprehensive Cancer Network. Clinical Practice Guidelines in oncology. Breast Cancer Guidelines 2011.
4. Chua S, Smith IE, Hern RPA, Coombes GA, Hickish TF, Robinson AC, et al. Neoadjuvant vinorelbine/epirubicin (VE) versus standard Adriamycin-cyclophosphamide (AC) in operable breast cancer: analysis of response and tolerability in a randomised phase III trial. *Annals of Oncol.* 2005; 16(9):1435-41.
5. Takimoto CH, McLeod HL, Boucher G. Pharmacokinetics, pharmacodynamics. *Cancer: principles & practice of oncology.* Vincent T, DeVita, Samuel H, Steven A, Rosenberg, editors. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2005. p. 317-31
6. Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular Immunology.* 5th ed. Philadelphia: Elsevier-Saunders; 2005. p.4-15,22-3,65-80,81-103,182-7,247-53,258-9,266,268-9,279-80,290-5.
7. Harrison LE, Fong Y. Enteral nutrition in cancer patient: clinical

- and nutritional management. In: Rombeau JL, Rolandelli RH editors. *Clinical nutrition, parenteral nutrition*. 3rd ed. Philadelphia: WBSaunders; 2007. p. 300-23.
8. Field CJ, Schely PD. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function : lessons from n-3 fatty acids. *The Am J of Clin Nutr*. 2004 [disitasi 20 April 2010]; 79:1190-8.
 9. Rolandelli RH, Ullrich JR. Lipids and enteral nutrition: clinical and nutritional management. In: Rombeau JL, Rolandelli RH, editors. *Clinical nutrition, parenteral nutrition*. 3rd ed. Philadelphia: WBSaunders; 2001. p. 47-60.
 10. Yaqoop P. Lipids and imun respon: from molecular mechanism to clinical application. *Curr opin clin nutr metab care*. 2003; 6(2):133-50.
 11. Robinson LE, Clandinin MT, Field CJ. The role of dietary long chain n-3 fatty acids in anti-cancer imun defense and mamary tumour growth in rat: influence of diet fat composition. *Am J Clin Nutr*. 2002[Disitasi 17 Maret 2010]; 73:145-60.
 12. Gogos CA, Ginopoulos P, Salsa B, Apostolidou E. Dietary Omega-3 Poly-unsaturated acids plus vitamin E restore immunodeficiency and prolong survival for severelly ill patients with generalized malignancy. *Am J Cancer*. 1998; 82:395-402.
 13. Sobin LH, Wittekind CH editors. *Classification of malignant tumours TNM. international union against cancer UICC*. 6th ed. New York: A John Wiley & Sons Inc; 2010. p.131-41
 14. Kumpulan Naskah Ilmiah. Perhimpunan Ahli Bedah Onkologi Indonesia (PERABOI). *Muktamar Nasional VI*. Semarang: Erlangga; 2003. p. 15-7.
 15. Sukardja IDG. *Onkologi klinik*. 2nd ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2000. p. 90-150.
 16. Chu E, DeVita VC. Principles of medical oncology. In : DeVita VC, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer, principles & practice of oncology*. 7th ed. Philadelphia : Lippincott William & Wilkins; 2003. p 95-306.
 17. Takimoto CH, McLeod HL, Boucher G. Pharmacokinetics, pharmacodynamics. *cancer: principles and practice of oncology*. Vincent T. DeVita JR, Samuel H, Steven A, Rosenberg, editors. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2005. p. 317-31
 18. Hunt KK, Newman LA, Copeland EM, Bland KI. The breast. In: Schwartz's, editor. *Principles of surgery*. 9th ed. USA: McGraw-Hill; 2010. p. 423-74.
 19. Catherine JF, Patricia DS. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and imun function: lessons from n_3 fatty acids14. *Am J Clin Nutr*. 2004;79: 1190-8.
 20. Fearon K, Von Meyenfeldt M, Moses A. On behalf of the cancer cachexia study group. An energy and protein dense, high n-3 fatty acid oral supplement promotes weight gain in cancer cachexia. *Eur J Cancer*. 2001; 37(6): 121-4.
 21. Cheng T, Ting C, Sheng W, Po Jen, Ching Tai, Angel C, et al. Maintenance of CD8 effector T cells by CD4 helper T cells eradicates growing tumors and promote long term immunity. *Vaccine*. 2006; 24:6199-207.
 22. Rene EM, Ferry O, Rienk O, Cornelis J. CD4 T cells and their role in antitumor imun responses. *J Exp Med*. 1999; 189:753-6.
 23. Elemkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, Th1/th2 paterns, Pro/Anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. *Trends Endocrinol Metabs*. 1999; 10(9):359-68.
 24. Jong M, Masaki T, Yoshio S, Jeeva M, Guido F, John C. Early role of CD4 th1 cells and antibodies in HER2 adenovirus vaccine protection against autochthonous mammary carcinomas. *J Immunol*. 2005; 174: 4228-36.
 25. Annete D. Benefits of long chain omega 3 fatty acids EPA DHA. *The Benefits of Nutritional Supplements*. 2002.
 26. Denome J, Stark, Hollub. DHA/EPA and the omega-3 nutrition gap / recommended intakes. *J. Nutr*. 2005; 135(2): 206-211.
 27. Contran RS, Kumar V, Robbins SL, editors. *Robin pathologic basis of disease*. 5th ed. Philadelphia : WB Saunders; 1994. p. 105-17.
 28. Siti Wajizah. *Perspektif minyak ikan sebagai imunonutrisi*. Institut Pertanian Bogor; Desember 2004.
 29. *The healthiest omega-3s EPA & DHA are found mainly in fish oil and fish meal. Internasional fishmeal and fish oil organisation*. Brisbane (Australia): Heart Foundation. Australia; 2008
 30. Robin Emsley, Christo M, Bruera AH , Pieter O, Susan J. Randomized, placebo-controlled study of ethyl-eicosapentaenoic acid as supplemental treatment in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2002; 159(9):1596-8.
 31. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. *Perkiraan besar sampel. Dalam : Sastroasmoro S, Ismael S, editor. Dasar -dasar metodologipenelitian klinis*. 2nd ed. Jakarta : Sagung Seto; 2006. hal. 259-88.
 32. Sopiyyudin, editor. *Menghitung besar sampel. Dalam : Besar sampel dalam penelitian kedokteran dan kesehatan*. Jakarta : Arkans; 2009. hal.19-70.
 33. Lin X, Zhou Qi, Wang Li, Gao Y, Zhang W, Luo Z, et al. Pregnancy estrogen drives the changes of T-lymphocyte subsets and cytokines and prolongs the survival of H-Y skin graft in murine model. *Chin Med J*. 2010; 123(18): 2593-2599.
 34. Tyson P. *Comparative Immunological Effects of a Natural Estrogen (17-estradiol) versus a Pharmacologic Synthetic Estrogen (17-ethinyl estradiol) [Dissertation]*. Blacksburg (Virginia): Virginia Polytechnic Institute and State University ; 2007
 35. Catherine J, Patricia F. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n_3 fatty acids14. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79:1190 8
 36. Paola B, Gianfranco P, Raffaella N, Menotti C. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J Am Coll Nutr*. 2004 23(4): 281302.