



**PENGARUH SARI KEDELAI (*Glycine max* L.) TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL KANKER PARU  
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen  
(DMBA)**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Yonatha Novara Pretysta**  
**NIM 082010101025**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2012**



**PENGARUH SARI KEDELAI (*Glycine max* L.) TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL KANKER PARU  
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen  
(DMBA)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh  
**Yonatha Novara Pretysta**  
**NIM 082010101025**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2012**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. Orang tua saya tercinta Ayahanda Sujoko Agus Santoso dan Ibunda Indahsyah tercinta, terima kasih untuk segenap cinta dan kasih sayang, doa serta dukungannya selama ini yang mengajarkanku untuk lebih menghargai nilai-nilai hidup yang penuh makna sepanjang masa;
3. Seluruh keluarga besarku dan orang-orang terdekatku yang telah memberikan dukungan dalam hidupku baik secara batin maupun lahir, material maupun spiritual, fisik maupun rohani;
4. Pendidikku sedari Taman Kanak-Kanak sampai Perguruan Tinggi yang terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh ketulusan dan kesabaran;
5. Teman-teman seperjuanganku the doctor angkatan 2008 Fakultas Kedokteran.

## MOTO

“Tidaklah Allah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya.”

(terjemahan Surat *Al-isra'* 17:82)<sup>\*)</sup>

“Allah meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(terjemahan Surat *Al-mujadalah* ayat 11)<sup>\*)</sup>

“Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja.

Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi”.

(Ernest Newman)<sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup>Departemen Agama RI Al-Hikmah. 2005. *Al-Quran dan Terjemahnya*. Bandung: Diponegoro.

<sup>\*\*)</sup>Louis T.Kattsoff. 2003. *Element of Philosophy*. Jakarta: Tiara Wacana.

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Yonatha Novara Pretysta

NIM : 082010101025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai (*Glycine max* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 07 Juni 2012

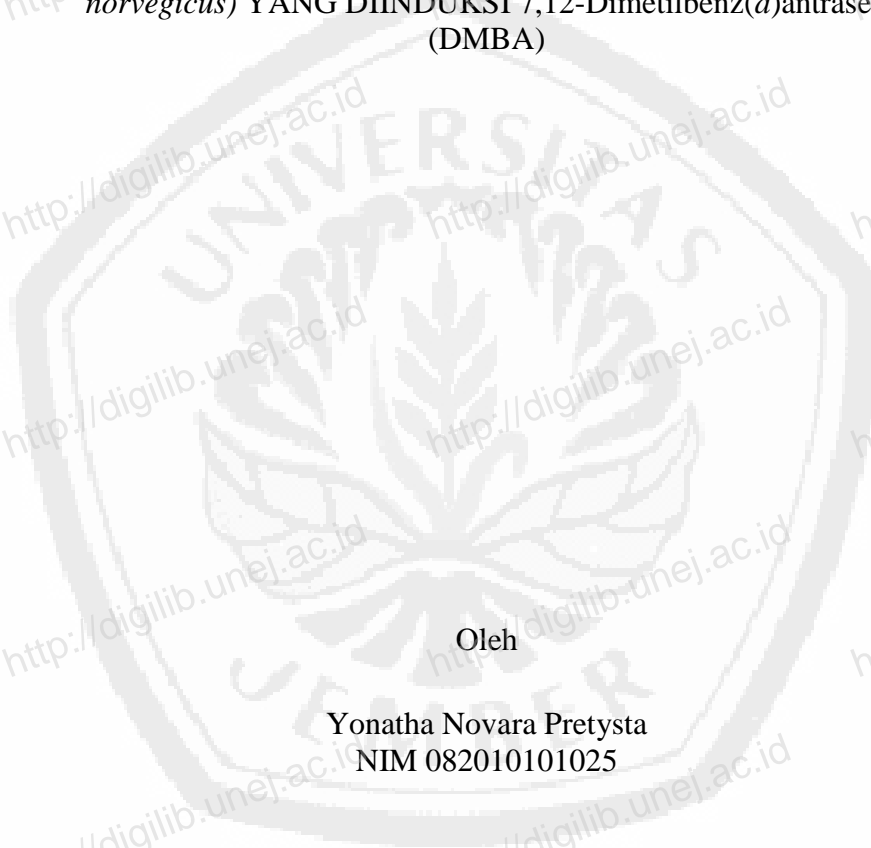
Yang menyatakan,

Yonatha Novara Pretysta

NIM 082010101025

**SKRIPSI**

**PENGARUH SARI KEDELAI (*Glycine max* L.) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI SEL KANKER PARU PADA TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) YANG DIINDUKSI 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen  
(DMBA)**



Oleh

**Yonatha Novara Pretysta**  
**NIM 082010101025**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : dr. Heni Fatmawati, M.Kes.**

**Dosen Pembimbing Anggota : dr. Muhamad Hasan, M.Kes., Sp.OT.**

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Sari Kedelai (*Glycine max* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis., 07 Juni 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Penguji I,

Penguji II,

dr. Dina Helianti, M.Kes  
NIP.19741104 200012 2 001

dr. Nindya Shinta R, M. Ked  
NIP.19780831 200501 2 001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Heni Fatmawati, M.Kes.  
NIP.19760212 200501 2 001

dr. M. Hasan, M.Kes., Sp.OT  
NIP.19690411 199903 1 001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP. 19700214199903200

## RINGKASAN

**Pengaruh Sari Kedelai (*Glycine max* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA); Yonatha Novara Pretysta; 082010101025; 2012: 70 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.**

Kanker didefinisikan sebagai penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkendali (Gilchrist, 1998). Insidensi kanker paru di Indonesia mengalami peningkatan di setiap tahunnya. Kanker paru menduduki peringkat ke empat kanker terbanyak (Amin, 1996). Hal tersebut mendorong dilakukannya penelitian untuk mendapatkan suatu agen preventif yang berasal dari alam sebagai pengobatan antikanker yang dapat menimbulkan efek toksisitas sistemik yang rendah sehingga dapat mengurangi terjadinya suatu kegagalan terapi (Li *et al.*, 1999). Salah satu usaha yang dapat dilakukan adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang mudah didapatkan yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mencegah terjadinya kanker. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antikanker adalah kedelai (*Glycine max* L.) (Koswara, 2006).

Tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merrill) merupakan spesies tumbuhan yang termasuk dalam famili Leguminosae. Senyawa tumbuhan ini diketahui mempunyai sifat antikanker, antara lain : isoflavon, inhibitor protease, phitat, saponin, phitosterol, asam lemak dan omega-3. Di antara senyawa antikanker tersebut, perhatian terbesar ditujukan kepada isoflavon (Koswara, 2006). Isoflavon memiliki efek antikanker dengan menghambat aktifitas enzim penyebab kanker, aktifitas antioksidan, dan meningkatkan fungsi kekebalan (Koswara, 2006). Jenis senyawa isoflavon yang utama antara lain adalah genistein, daidzein, dan glistein (Ayuningtyas, 2009).

Penghambatan sel kanker oleh isoflavon dicapai melalui mekanisme penghambatan regulasi siklus sel yang menyebabkan ekspresi gen abnormal menurun sehingga menginduksi apoptosis sel abnormal (Peterson *et al.*, 1997).



Secara *in vitro*, sari kedelai terbukti dapat mencegah terjadinya proses karsinogenesis (Pawiharsono, 2008). Berdasarkan hal tersebut, kedelai berpotensi sebagai agen preventif baru termasuk untuk kanker paru, maka dilakukan penelitian ilmiah lebih lanjut untuk mengetahui apakah sari kedelai (*Glycine max* L.) mempunyai pengaruh terhadap gambaran sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA).

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan desain *Post Test Only Control Group Design* (Pratiknya, 2003). Pemilihan subjek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) (Notoatmodjo, 2002). Dalam penelitian ini menggunakan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol negatif (pur dan aquadest) dan kontrol positif (DMBA) serta 3 kelompok perlakuan, yaitu P<sub>1</sub> (sari kedelai dosis 5 mg/hari), P<sub>2</sub> (sari kedelai dosis 10 mg/hari), dan P<sub>3</sub> (sari kedelai dosis 20 mg/hari).

Berdasarkan penelitian ini sari kedelai (*Glycine max* L.) terbukti mempunyai pengaruh terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru, yaitu dapat menghambat terjadinya sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi DMBA dan didapatkan jumlah sel kanker paru yang lebih sedikit pada pemberian dosis yang paling besar (dosis 20 mg/hari).

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai (*Glycine max* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Heni Fatmawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Muhamad Hasan, M.Kes., Sp.OT selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. Dina Helianti, M.Kes dan dr. Nindya Shinta R, M.Ked sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Rini Riyanti, Sp.PK selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ibunda Indasyah dan ayahanda Sujoko Agus Santoso tercinta atas dukungan moral, materi, do'a, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus;
6. Adiku tercinta, Yuan Fernanda, Mama Achy, Om agus, serta segenap keluarga besar yang selalu ceria dan memberikan motivasi, dukungan, bimbingan serta kasih sayang utukku;

7. Rekan kerjaku kelompok Cancer, Yudha, Marsel, Dhea, Delina, Raras, Ellen, Alfa, Faliq, Taufiq, Amin, dan Rahde yang telah telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat;
8. Sahabat-sahabat terbaikku, Bella Mayvani Rachman dan Yudha Alhabsy yang selalu ada untukku. Terimakasih atas motivasi, bantuan dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini;
9. M. Reza Dio yang selalu memberi dukungan, semangat dan kasih sayang selama ini;
10. Mbak-mbak kost BARA 25 dan adik-adik kost chibi F7 yang telah memberi dukungan selama ini;
11. Teman-teman angkatan 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
12. Guru-guru di TK Ria Gumukmas, SDN Bagorejo 1, SMPN 1 Kencong, SMAN 2 Lumajang, serta dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember, yang telah memberikan ilmu dan membuat penulis mencintai ilmu pengetahuan;
13. Analis Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Jember, Mas Agus, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
14. Analis Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Brawijaya, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 07 Juni 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Paru</b> .....	5
2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Paru .....	5
2.1.2 Vaskularisasi, Inervasi, dan Aliran Limfatik Paru..	7
2.1.3 Histologi Paru .....	8
<b>2.2 Kanker Paru</b> .....	10
2.2.1 Epidemiologi.....	10
2.2.2 Faktor resiko .....	11
2.2.3 Etiologi dan Patogenesis.....	11

2.2.4	Morfologi dan Manifestasi Klinis .....	12
2.2.5	Stadium Kanker Paru.....	13
2.2.6	Prinsip Terapi .....	15
2.2.7	Prognosis Kanker Paru .....	16
2.2.8	Upaya Pencegahan Kanker Paru .....	16
<b>2.3</b>	<b>Tanaman Kedelai (<i>Glycine max. L</i>) .....</b>	<b>17</b>
2.3.1	Taksonomi Kedelai .....	17
2.3.2	Morfologi dan Penyebaran Kedelai .....	17
<b>2.4</b>	<b>Kandungan dan Manfaat Kedelai Pada Kanker Paru ...</b>	<b>21</b>
<b>2.5</b>	<b>7,12-Dimetilbenz(<math>\alpha</math>)antrasen (DMBA) .....</b>	<b>24</b>
2.5.1	Definisi DMBA.....	24
2.5.2	Mekanisme DMBA .....	25
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konseptual .....</b>	<b>26</b>
<b>2.7</b>	<b>Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Besar Sampel .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>30</b>
3.4.1	Tempat Penelitian .....	30
3.4.2	Waktu Penelitian.....	31
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>31</b>
3.5.1	Variabel Bebas .....	31
3.5.2	Variabel Tergantung.....	31
3.5.3	Variabel Kendali .....	31
<b>3.6</b>	<b>Definisi Operasional Variabel.....</b>	<b>31</b>
<b>3.7</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>32</b>
3.7.1	Alat Penelitian.....	32
3.7.2	Bahan Penelitian.....	32
3.7.3	Bahan Pemeriksaan .....	32
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>32</b>

3.8.1	Perlakuan Hewan Coba.....	32
3.8.2	Pengambilan dan Penyimpanan Sediaan.....	33
3.8.3	Pembuatan Sediaan Hewan Coba.....	34
3.8.4	Pewarnaan HE.....	34
3.8.5	Proses Pengamatan.....	35
<b>3.9</b>	<b>Analisis Data.....</b>	<b>35</b>
<b>3.10</b>	<b>Alur Penelitian.....</b>	<b>36</b>
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian.....</b>	<b>37</b>
4.1.1	Data Hasil Penelitian.....	37
4.1.2	Hasil Uji Analisis.....	42
<b>4.2</b>	<b>Pembahasan.....</b>	<b>44</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>49</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan.....</b>	<b>49</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran.....</b>	<b>49</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Anatomi Paru menurut Sloane .....	6
2.2 Standar Penggolongan Stadium Karsinoma Paru .....	14
2.3 Definisi TNM dalam penggolongan stadium Internasional.....	14
2.4 Komposisi Kedelai per 100 gram Bahan .....	21
2.5 Perbandingan Protein Kedelai dengan Makanan Lain.....	21
3.1 Kelompok Perlakuan Sampel dalam Penelitian.....	33
4.1 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel Kanker Paru Tikus Wistar dengan uji <i>One Way</i> ANOVA .....	37
4.2 Hasil Uji Normalitas .....	41
4.3 Hasil Uji Homogenitas .....	42
4.4 Nilai Signifikasi Data Perlakuan <i>Uji Pos-Hoc Tukey</i> .....	42

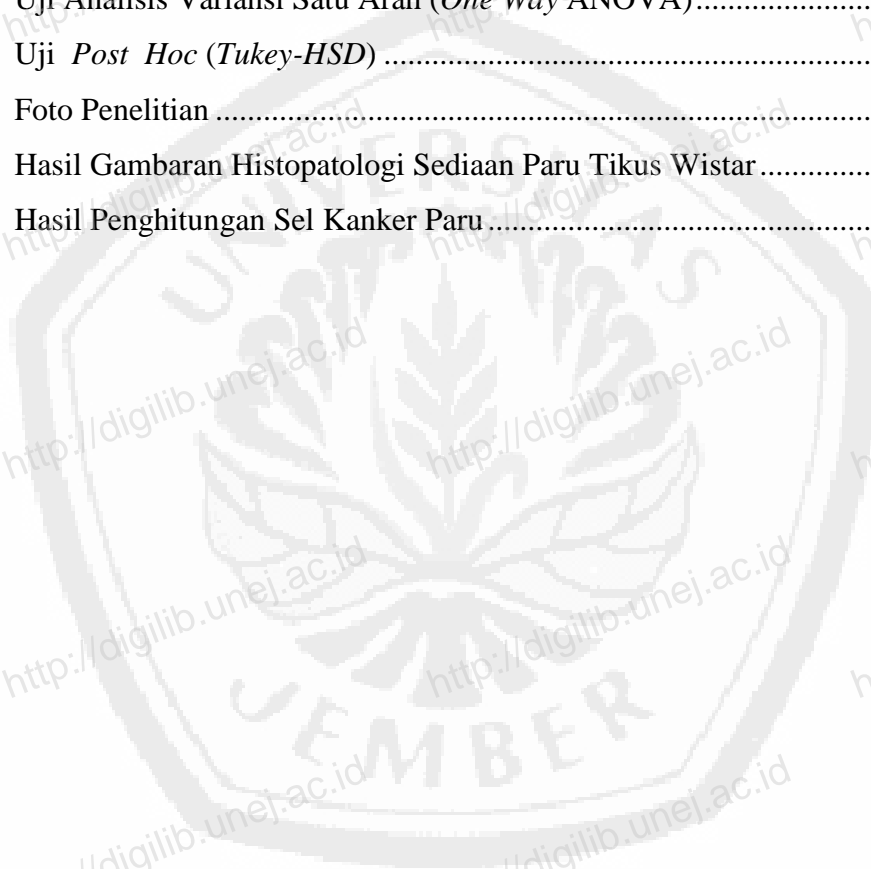
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi Paru .....	7
2.2 Histologi ParU .....	9
2.3 Bagan Kerangka Konseptual .....	26
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	29
3.2 Skema Alur Penelitian .....	36
4.1 Diagram Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel Kanker Paru .....	38
4.2 Gambaran Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel kanker Paru K1 .....	39
4.3 Gambaran Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel kanker Paru K2.....	39
4.4 Gambaran Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel kanker Paru P1 .....	39
4.5 Gambaran Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel kanker Paru P2 .....	40
4.6 Gambaran Hasil Pemeriksaan Histopatologi Sel kanker Paru P3 .....	40



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Teknik Pemrosesan Jaringan.....	55
B. Hasil Tes Normalitas Sampel ( <i>One-Sample Kolmogorov-Smirnov</i> ) ....	58
C. Hasil Tes Homogenitas Sampel ( <i>Lavene Statistic</i> ).....	60
D. Uji Analisis Variansi Satu Arah ( <i>One Way ANOVA</i> ).....	60
E. Uji <i>Post Hoc</i> ( <i>Tukey-HSD</i> ) .....	61
F. Foto Penelitian .....	62
G. Hasil Gambaran Histopatologi Sediaan Paru Tikus Wistar.....	66
H. Hasil Penghitungan Sel Kanker Paru.....	70



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit sel yang ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostatis sel pada organisme multiseluler. Akibatnya sel akan berproliferasi secara terus menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan abnormal yang menyebar dan menghancurkan organ-organ lain serta jaringan tubuh (Alberts *et al.*, 1994). Menurut *American Cancer Society* kanker didefinisikan sebagai kelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkendali. Sel kanker tersebut dapat menyebar ke bagian tubuh yang lainnya dan mengganggu fungsi selular sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Gilchrist, 1998).

Angka kematian yang diakibatkan kanker cukup tinggi di beberapa negara. Kematian akibat kanker di Indonesia menempati peringkat keenam setelah penyakit infeksi, kardiovaskular, kecelakaan lalu lintas, defisiensi nutrisi dan penyakit kongenital. Diperkirakan terdapat 170-190 kasus tiap 100.000 penduduk per tahun (Tjindarbunmi dan Mangunkusumo, 2002). Berdasarkan laporan Ditjen Bina Yanmedik tahun 2009, kanker merupakan salah satu dari sepuluh penyakit utama penyebab kematian di Rumah Sakit di Indonesia dengan *Case Fatality Rate* (CFR) atau angka kasus kematian pada tahun 2007 sebesar 4,82% dan tahun 2008 sebesar 4,70%. Kanker paru merupakan keganasan yang paling sering menimbulkan kematian diseluruh dunia (Siregar, 2007).

Di negara berkembang seperti Cina yang mengkonsumsi 30% rokok dunia, insidensi kanker paru yang disebabkan konsumsi rokok berlebihan mengalami peningkatan setiap tahun. Sebagian besar kanker paru mengenai pria (65%) *life time risk* 1:13 dan pada perempuan 1:20 (Bahar dan Amin, 1998). Di negara industri, kanker paru merupakan penyebab nomor satu kematian akibat kanker. Selama tahun 2002, didapatkan 169.400 kasus kanker paru di Amerika Serikat dan sekitar 154.900 orang yang meninggal karena penyakit ini (Maitra dan

Kumar, 2004). Insidensi kanker paru di Indonesia mengalami peningkatan di setiap tahunnya. Kanker paru menduduki peringkat keempat kanker terbanyak (Amin, 1996). Sekitar 90% pasien kanker paru memiliki riwayat merokok.

Paru merupakan organ penting yang berfungsi sebagai alat pernapasan. Kelainan pada organ ini dapat berakibat fatal bagi kelangsungan hidup seseorang (Fauci, 2008). Merokok, bekerja di bidang industri, terkena polusi udara, terkena radiasi, dan faktor genetik merupakan etiologi lain yang dapat menjadi faktor resiko dari kanker paru. Bahan mutagen dan karsinogen tersebut dapat menyebabkan kerusakan DNA yang akan berlanjut pada mutagenesis dan karsinogenesis (Amin, 2006). Perubahan genetik tersebut menyebabkan aktivasi dari pertumbuhan sel kanker dan hilangnya kemampuan gen 3p yang merupakan gen penekan tumor. Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkontrol adalah akibat langsung yang disebabkan oleh hilangnya regulasi sinyal penekan sel tersebut. Proliferasi sel kanker yang tidak terkontrol akan menginvasi dan mengganggu fungsi sel lain disekitarnya sehingga akan menyebabkan gangguan yang semakin memburuk secara menyeluruh pada paru apabila tidak segera dihentikan (Price dan Wilson, 2006).

Hal tersebut mendorong dilakukannya penelitian untuk mendapatkan suatu agen preventif yang berasal dari alam sebagai pengobatan antikanker yang dapat mempunyai efek toksisitas sistemik rendah sehingga dapat mengurangi terjadinya suatu kegagalan terapi. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai agen preventif kanker adalah tanaman kedelai (*Glycine max* L.). Antioksidan pada kedelai berguna mengikat radikal bebas yang dapat berpotensi terhadap timbulnya penyakit kanker (Li *et al.*, 1999). Kedelai mengandung komponen yang dipercaya sebagai antikanker, antara lain inhibitor protease, phitat, saponin, phitosterol, asam lemak omega-3 dan isoflavon. Isoflavon memiliki efek antikanker dengan menghambat aktifitas enzim penyebab kanker, aktifitas antioksidan, dan meningkatkan fungsi kekebalan (Koswara, 2006). Jenis senyawa isoflavon yang utama antara lain adalah genistein, daidzein, dan glistein (Ayuningtyas, 2009).

Berdasarkan hal tersebut tingginya kandungan isoflavon dalam sari kedelai dapat menjadi dasar pemanfaatan sari kedelai sebagai agen preventif untuk kanker

paru. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kedelai sebagai agen antikanker. Sehubungan dengan hal tersebut, karya tulis ini akan meneliti tentang “Pengaruh Sari Kedelai (*Glycine max L.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru Pada Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*) Yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)”.

## 1.2 Rumusan Masalah

- a. Bagaimana pengaruh sari kedelai (*Glycine max L.*) terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)?
- b. Bagaimana pengaruh pemberian dosis sari kedelai (*Glycine max L.*) yang berbeda terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh sari kedelai terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA).

### 1.3.2 Tujuan khusus

- a. Untuk mempelajari pengaruh sari kedelai terhadap gambaran *undifferentiated* sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi DMBA.
- b. Untuk mempelajari pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap gambaran sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi DMBA.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

### 1.4.1 Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

- a. Memberikan informasi tentang peran sari kedelai terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi DMBA.
- b. Memberikan sumbangan pengetahuan bagi kemajuan di bidang kesehatan yang berhubungan dengan pengaruh sari kedelai terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi DMBA.
- c. Dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang pengaruh antikanker sari kedelai (*Glycine max* L.).

#### 1.4.2 Manfaat bagi Masyarakat

Menambah pengetahuan masyarakat mengenai khasiat sari kedelai terhadap kanker paru sehingga diharapkan prevalensi kanker paru dapat berkurang.

#### 1.4.3 Manfaat bagi Peneliti

- a. Memperluas pengetahuan peneliti mengenai zat antikanker yang terkandung dalam tumbuhan yang berasal dari alam.
- b. Menambah pengalaman di bidang penelitian terutama mengenai kanker paru yang diharapkan akan bermanfaat bagi studi lanjutan.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Paru**

Paru merupakan salah satu organ pernafasan berbentuk pyramid seperti spons, berisi udara dan terletak dalam rongga toraks. Secara fisiologis paru- paru berfungsi untuk mengeluarkan karbondioksida dari darah dan kemudian menggantinya kembali dengan mengambil oksigen dari atmosfer (Sloane, 2003).

#### **2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Paru**

Paru (Pulmo) merupakan organ respirasi yang terletak dikedua sisi mediastinum di dalam rongga toraks yang terbungkus oleh lapisan pleura.

Lapisan pembungkus paru disebut pleura. Pleura memiliki 2 bagian yaitu lapisan parietalis yang membatasi dinding toraks, meliputi permukaan toraks diafragma dan permukaan lateral mediastinum dan meluas sampai pangkal leher untuk membatasi permukaan bawah membrana suprapleura pada permukaan toraks. Bagian kedua pleura adalah lapisan viseralis yang meliputi seluruh permukaan luar paru dan meluas ke dalam fisura interlobaris. Kedua lapisan ini dipisahkan oleh ruangan sempit yang disebut rongga pleura. Rongga ini berisi cairan pleura yang berfungsi untuk mengurangi terjadinya pergesekan antara rongga pleura dengan rongga toraks (Snell, 2006).

Pada setiap lobus paru dipisahkan oleh fisura. Lobus paru dibagi menjadi beberapa segmen, segmen paru tersebut antara lain (Putz dan Pabst, 2000) :

Tabel 2.1 Anatomi Paru menurut Sloane pada tahun 2004

Lobus	Paru kanan ( <i>Pulmo Dextra</i> )	Paru kiri ( <i>Pulmo Sinistra</i> )
Superior	Segmentum apicale Segmentum posterius Segmentum anterius	Segmentum apicoposterius Segmentum anterius Segmentum lingulare superius Segmentum lingulare inferius
Medius	Segmentum laterale Segmentum mediale	
Inferior	Segmentum superius Segmentum basale mediale Segmentum anterius Segmentum basale laterale Segmentum basale posterius	Segmentum superius Segmentum basale mediale Segmentum basale laterale Segmentum basale posterius

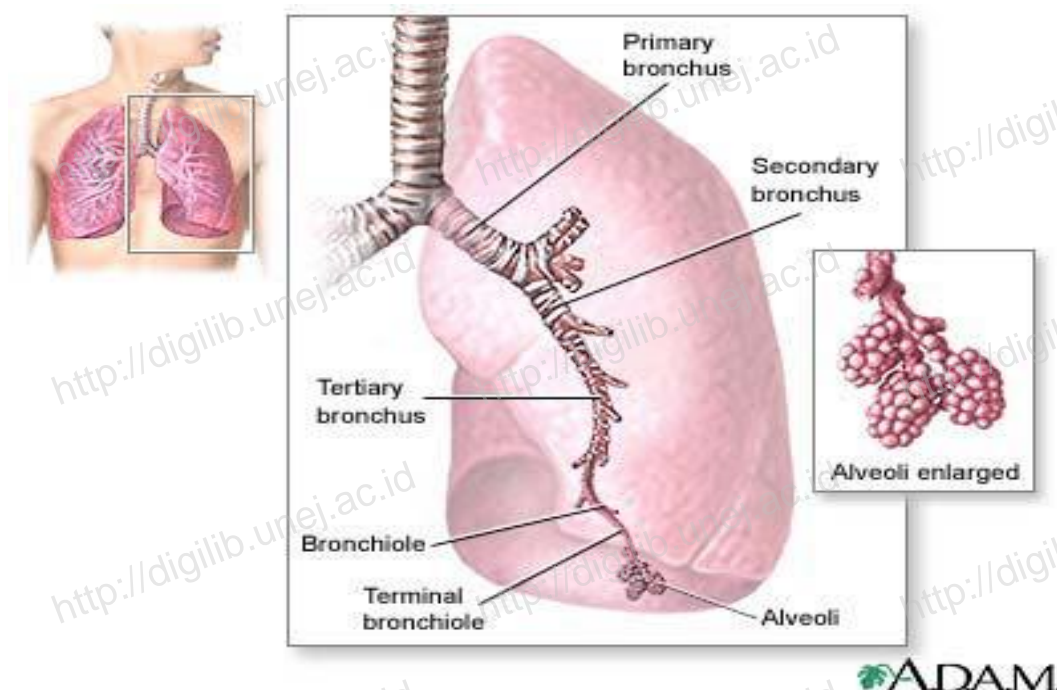
Volume paru dapat mengecil hingga 1/3 atau kurang jika rongga toraks dibuka. Paru kanan berukuran sedikit lebih besar dibandingkan paru kiri. Paru kanan memiliki 3 lobus dan paru kiri terdiri dari 2 lobus. Dalam saluran pernafasan, paru berhubungan dengan trakea. Trakea bercabang menjadi 2 bronkus primer yang berjalan ke bawah dan keluar memberikan 3 cabang bronkus di paru kanan dan 2 buah di paru kiri (Junquera, 2007).

Trakea bercabang menjadi bronkus primarius dextra dan bronkus primarius sinistra kemudian bercabang lagi menjadi bronkus lobaris, kemudian bronkus segmentalis hingga bronkiolus terminalis (Snell, 2006).

Setelah Bronkiolus terminalis terdapat asinus yang merupakan unit fungsional paru, yaitu tempat pertukaran gas. Asinus terdiri dari :

1. Bronkiolus respiratorius, yang terkadang memiliki kantong udara kecil atau alveoli pada dindingnya
2. Duktus alveolaris, seluruhnya dibatasi oleh alveolus
3. Sakus alveolaris terminalis, yaitu struktur akhir paru.

Asinus atau biasanya disebut lobulus primer memiliki garis tengah kira-kira 0,5 sampai 1,0 cm (Price dan Wilson, 2006).



Gambar.2.1. Anatomi Paru

### 2.1.2 Vaskularisasi, Inervasi dan Aliran Limfatik Paru

Paru mendapat aliran darah dari trunkus pulmonalis yang keluar dari ventrikel kanan jantung. Bifurkasio dari trunkus pulmonalis berada pada paru lobus kiri inferior setinggi vertebra IV/V dan di sebelah kiri anteroinferior bifurkasio trakea.

Paru kanan mendapat suplai darah dari arteri pulmonalis dextra. Arteri ini lebih panjang apabila dibandingkan dengan arteri pulmonalis sinistra. Arteri ini melewati mediastinum secara horisontal. Berada di sebelah anteroinferior dari bifurkasio trakea, dan di sebelah anterior dari bronkus utama. Arteri pulmonalis dextra juga terletak di sebelah posterior dari aorta ascenden, vena cava superior, dan vena pulmonalis dextra bagian atas. Arteri pulmonalis dextra memasuki paru melalui hilus paru yang merupakan tempat untuk masuk arteri, vena, bronkus, dan saluran limfe ke dalam paru. Arteri pulmonalis dextra bercabang menjadi dua, cabang yang pertama memvaskularisasi lobus superior dan cabang yang kedua memvaskularisasi lobus medial dan lobus inferior.



Paru kiri mendapat suplai darah dari arteri pulmonalis sinistra. Berbentuk lebih pendek apabila dibandingkan dengan arteri pulmonalis dextra. Terletak pada anterior dari aorta desenden dan sebelah posterior dari vena paru bagian atas. Arteri ini masuk melalui hilus paru kiri dan mengalirkan darah menuju lobus superior dan lobus inferior dari paru kiri. Aliran darah balik paru dari hilus paru menuju ke jantung di bawa melalui vena pulmonalis dextra dan sinistra. Berbeda dengan vena pada umumnya, vena pulmonalis membawa darah kaya oksigen dari paru dan menuju atrium kiri jantung (Djojodibroto, 2009).

Paru diinervasi oleh saraf parasimpatis nervus vagus dan saraf simpatis. Bagian otot polos saluran nafas diinervasi oleh nervus vagus aferen dan eferen. Nervus vagus aferen dan eferen ini kemudian membentuk pleksus, yaitu pleksus pulmonalis kanan dan pleksus pulmonalis kiri yang keduanya saling berhubungan di anteroposterior bifurkasio trakea dan bronkus utama. Pleksus anterior lebih kecil daripada pleksus posterior. Untuk pleura parietalis mendapat inervasi dari nervus intercostalis dan nervus phrenikus (Grey's anatomy, 2008).

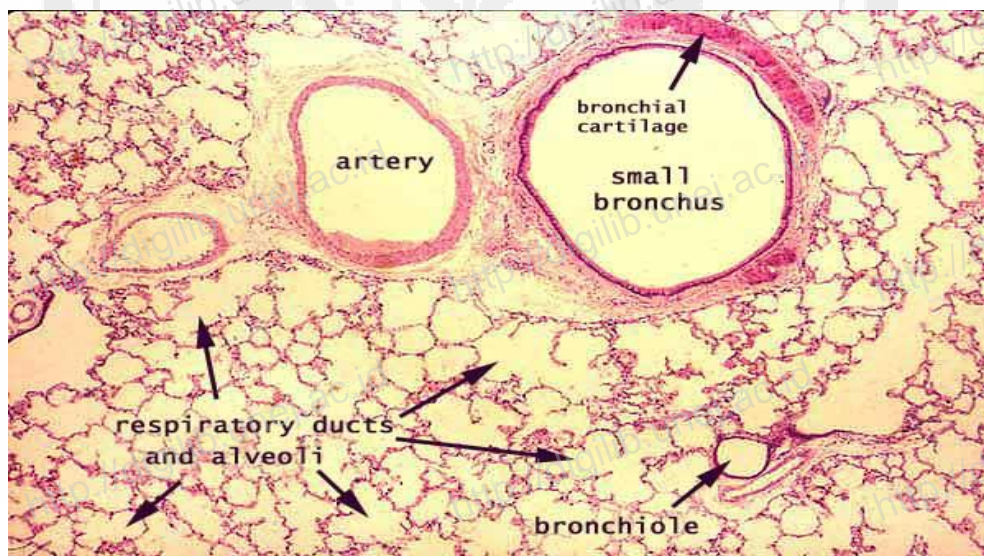
Pembuluh limfe berasal dari pleksus superficialis dan pleksus profundus, pembuluh ini terdapat pada dinding alveoli (Snell, 2006). Jaringan limfatik paru sangat rapat apabila dibandingkan dengan organ lain. Lokasi jaringan limfe berada pada jaringan ikat seperti pleura, septa interlobular, serta pembungkus peribronkovaskular. Terdapat 6 nodus limfa yang berperan dalam drainase cairan limfa paru, yaitu nodus limfa intrapulmonales, nodus limfa trakeobronkiales, nodus limfa bronkopulmonalis, nodus limfa paratrakealis, nodus limfa skaleni, dan nodus limfa di arkus aorta. Pembuluh limfe besar di sebelah kanan adalah trunkus limfatikus bronkomediastinalis, trunkus limfatikus jugularis, serta trunkus limfatikus subklavius. Dan disebelah kiri terdapat duktus torasikus (Djojodibroto, 2009).

### 2.1.3 Histologi Paru

Menurut pembagian daerahnya, sistem pernapasan di bagi menjadi 2 daerah, yaitu bagian konduksi yang berfungsi untuk menyalurkan bagian luar tubuh dengan paru yang meliputi hidung, nasofaring, laring, trakea, bronkus, bronkiolus,

dan bronkiolus terminais. Sedangkan bagian lainnya adalah bagian respirasi yaitu tempat berlangsungnya pertukaran gas yang meliputi bronkiolus respiratorius, duktus alveolaris dan alveoli.

Bronkus yang belum memasuki paru disebut bronkus ekstra pulmonalis sedangkan bronkus yang sudah memasuki paru disebut bronkus intrapulmonalis. Secara umum struktur bronkus hampir sama dengan struktur trakea yaitu di lapisi oleh mukosa respiratoris dengan sel goblet dan sel-sel silindris bersilia. Selain itu juga terdapat cincin tulang rawan hialin berbentuk C pada lamina propria. Dengan semakin mengecilnya garis tengah dari bronkus, cincin tulang rawan hialin di gantikan oleh lempeng-lempeng atau pulau-pulau tulang rawan hialin. Pada lamina propria tepatnya di bawah epitel, juga terdapat adanya lapisan otot polos yang terdiri dari anyaman berkas otot polos yang tersusun menyilang. Lamina propria bronkus banyak mengandung serat elastin dan memiliki banyak kelenjar serosa dan mukosa.



Gambar.2.2 Histologi Paru

Bronkus bercabang lebih kedalam masuk ke paru menjadi bronkiolus. Berbeda dengan bronkus, pada bronkiolus tidak terdapat tulang rawan maupun kelenjar dalam mukosannya, hanya terdapat sel goblet pada segmen awal. Dinding bronkiolus dilapisi oleh epitel selapis silindris bersilia, sedangkan untuk

bronkiolus terminalis dindingnya dilapisi oleh epitel selapis kuboid. Bronkiolus terminalis mengandung sel clara. Setiap bronkiolus terminalis bercabang menjadi dua atau lebih menjadi bronkiolus respiratorius yang berfungsi sebagai daerah peralihan antara bagian konduksi dan bagian respirasi dari sistem pernapasan. Dinding dari bronkiolus respiratorius mengandung banyak alveolus sebagai tempat pertukaran gas. Semakin ke arah distal alveolus dan duktus alveolus semakin banyak, saluran tersebut dinamakan duktus alveolaris. Duktus alveolaris bermuara pada atrium, yang berhubungan dengan sakus alveolaris.

Alveoli adalah evaginasi atau kantung luar dari bronkiolis respiratorius, duktus alveolaris, dan sakus alveolaris (Eroschenko, 2010). Di dalam kantong itulah berlangsung pertukaran O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> antara udara dan darah (Junqueira, 2007). Alveoli dilapisi oleh selapis tipis sel alveolus gepeng atau sel pneumosit tipe I. Alveoli yang berdekatan dipisahkan oleh septum interalveolar atau dinding alveolus. Septum interalveolar terdiri dari sel alveolus selapis pipih, serat jaringan ikat halus, fibroblas dan banyak kapiler yang terletak di septum interalveolar tipis. Alveoli juga mengandung makrofag alveolaris atau sel debu. Dalam keadaan normal, makrofag alveolaris mengandung beberapa partikel karbon atau debu di sitoplasmanya. Di alveoli juga ditemukan sel alveolus besar atau sel pneumosit tipe II (Eroschenko, 2010). Di dalam alveolus terdapat sel tipe I yang berfungsi untuk pergantian surfaktan, sel tipe II yang berfungsi menghasilkan surfaktan untuk mengurangi tegangan permukaan alveolus dan makrofag paru yang berfungsi untuk memfagositosis debris yang berasal dari lumen alveolus yang masuk ke dalam interstisium melalui aktivitas pinositosis pada sel tipe I (Junqueira, 2007).

## 2.2 Kanker Paru

### 2.2.1 Epidemiologi

Salah satu penyakit kanker yang menyebabkan kematian tertinggi di dunia adalah kanker paru. *WHO World Report* melaporkan, bahwa PMR kanker paru pada tahun 1999 di dunia sebesar 2,1%. Menurut WHO, *Cause Spesific Death Rate* (CSDR) kanker trakea, bronkus dan paru di dunia 13,2 per 100.000

penduduk dengan PMR 2,3% (WHO, 2004). Data yang dibuat WHO menunjukkan bahwa kanker paru adalah jenis penyakit keganasan yang menyebabkan kematian utama pada kelompok kematian akibat keganasan, bukan hanya pada laki-laki tetapi juga pada perempuan (PDPI, 2003). Hasil survei penyakit tidak menular oleh Direktorat Jenderal PPM (Pengendalian Penyakit Menular) & PL (Pengendalian Lingkungan) di 5 rumah sakit provinsi di Indonesia (Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Lampung dan Sumatra Selatan) pada tahun 2004, menunjukkan angka kesakitan yang disebabkan oleh kanker paru sebesar 30% (PDPI, 2003).

### 2.2.2 Faktor resiko

Faktor-faktor resiko kanker paru yaitu merokok, terpapar asbestos, riwayat adanya penyakit paru interstitial, terpapar zat beracun (nikel, kromium, klorometil eter), terpapar uranium atau radon, polusi udara akibat gas buangan industri dan kendaraan bermotor yang mengandung zat karsinogen terutama karsinogen benzopiren (Sat Dharma, 2009). Dari semua faktor resiko tersebut, merokok adalah penyebab utama terjadinya kanker paru pada 80-90% kasus kanker paru meskipun hanya 10-15% perokok terserang kanker paru (Kopper dan Timar, 2005).

### 2.2.3 Etiologi dan Patogenesis

Etiologi kanker paru yang sebenarnya belum diketahui, akan tetapi terdapat tiga faktor yang berpengaruh terhadap peningkatan insidensi penyakit ini yaitu merokok, bahaya industri dan polusi udara. Dari faktor-faktor tersebut yang paling berperan adalah merokok, yaitu sebesar 85% dari seluruh kasus kanker paru. Meskipun merokok berperan utama dalam peningkatan insidensi kanker paru, tetapi merokok bukan satu-satunya faktor. Faktor yang ikut berperan antara lain infeksi kronik, polusi udara dari kendaraan bermotor dan industri (Houtte, 2001).

Rangkaian perubahan molekular yang terjadi tidak bersifat acak, tetapi mengikuti sekuensi yang sejajar dengan perkembangan histologi menjadi kanker. Perubahan tersebut dimulai dari mutasi gen 3p yang merupakan gen penekan

tumor, kemudian diikuti mutasi dari P53 dan pengaktifan onkogen K-RAS (Kumar *et al.*, 2007).

Pada epitel bronkus pasien kanker paru, serta pada epitel pernapasan perokok yang tidak mengidap kanker paru ditemukan terjadi perubahan genetik tertentu, seperti hilangnya bahan kromosom 3p yang mengisyaratkan bahwa perjalanan ke karsinogen menyebabkan mukosa pernapasan secara luas mengalami mutagenesis dan setiap sel yang mengalami mutasi akan mengakumulasi sel lain yang akhirnya akan berkembang menjadi kanker (Kumar *et al.*, 2007)

#### 2.2.4 Morfologi dan Manifestasi Klinis

Kanker paru diklasifikasikan menurut jenis histologisnya. Terdapat jenis kanker paru primer antara lain karsinoma bronkogenik, adenoma, sarkoma dan mesotelioma maligna (Wilson, 2005). Sekitar 95% kanker paru merupakan jenis kanker paru bronkogenik. Kanker paru bronkogenik biasanya dibagi menjadi kanker paru sel kecil (*Small Lung Cancer*) yang terletak biasanya pada percabangan utama bronkus, dan kanker paru sel tidak kecil (*Non Small Lung Cancer*). Kanker paru sel tidak kecil diklasifikasikan lagi sebagai berikut:

1. Karsinoma sel skuamosa (epidermoid)

Kanker ini merupakan tipe histologik karsinoma bronkogenik yang paling sering ditemukan, berasal dari permukaan epitel bronkus yang terjadi perubahan epitel termasuk metaplasia ataupun displasia.

2. Adenokarsinoma

Tipe ini memperlihatkan susunan selular seperti kelenjar bronkus dan dapat mengandung mukus. Jenis karsinoma bronkogenik ini timbul pada bagian perifer segmen bronkus dan kadang dapat dikaitkan dengan jaringan parut lokal pada paru dan fibrosis interstisial kronik.

3. Karsinoma sel bronkial

Merupakan tipe dari karsinoma bronkogenik yang jarang ditemukan, dan berasal dari epitel alveolus atau bronkiolus terminalis

#### 4. Karsinoma sel besar

Adalah sel ganas yang besar dan berdiferensiasi sangat buruk dengan sitoplasma yang besar dan ukuran inti bermacam-macam. Sel ini cenderung muncul pada jaringan paru perifer, tumbuh cepat dengan penyebaran yang cepat bermetastasis ke arah yang jauh.

Karsinoma bronkogenik seringkali manifestasinya menyerupai pneumonitis. Batuk merupakan gejala umum yang sering diabaikan oleh penderitanya. Gejala umum lainnya yang sering ditemui adalah hemoptisis (batuk darah). Nyeri dada dapat timbul dengan berbagai macam bentuk akibat penyebaran neoplastik ke arah mediastinum. Gejala penyebaran intratoraks dapat juga ditemukan yaitu akibat penyebaran lokal tumor ke struktur mediastinum dapat menimbulkan suara serak akibat terserangnya saraf laringeus rekuren, disfagia akibat keterlibatan esofagus, dan paralisis hemidiafragma akibat keterlibatan saraf frenikus. Gejala penyebaran ekstratoraks bergantung pada tempat metastasis. Struktur yang sering terserang adalah kelenjar getah bening skalenus (terutama pada tumor paru perifer), kelenjar adrenal (50%), hati (30%), otak (20%), tulang (20%), dan ginjal (15%) (Price dan Wilson, 2006).

#### 2.2.5 Stadium Kanker Paru

Penggolongan stadium karsinoma paru menurut UICC (Persatuan Antikanker Internasional) pada tahun 2002 menggunakan cara TNM. Penggolongan stadium dengan cara ini memiliki makna klinis penting dalam hal penentuan lingkup lesi, formula terapi, kesamaan standar efektivitas terapi dan estimasi prognosis (UICC, 2002).



Tabel.2.2 Standar penggolongan stadium karsinoma paru Internasional revisi tahun 2002

	Stadium	TNM
0		Karsinoma in situ
I	1A	T1N0M0
	1B	T2N0M0
II	IIA	T1N1M0
	IIB	T2N1M0 T3N0M0
III	IIIA	T3N1M0 T1N2M0 T2N2M0 T3N2M0
		IIIB
	IV	

Tabel 2.3 Definisi TNM dalam penggolongan stadium internasional karsinoma paru yang telah direvisi.

Tumor primer (T)	
Tx	tumor primer tidak dapat dinilai.
T0	tidak ada tumor primer.
Tis	karsinoma in situ.
T1	diameter terbesar tumor $\leq$ 3cm, sekitarnya diselubungi paru atau pleura visceral, endoskopi menemukan tumor tak mengenai proksimal dari bronkus lobaris.
T2	ukuran tumor atau lingkupnya memenuhi salah satu kondisi berikut: diameter terbesar tumor 3cm mengenai bronkus utama, tapi jarak ke karina $\geq$ 2cm; mengenai pleura visceral; ateletaksis atau pneumonitis obstruktif yang mencapai ke hilus paru, tapi tak mengenai seluruh paru.
T3	berapapun ukuran tumor sudah mengenai langsung salah satu struktur berikut: dinding torak (termasuk tumor pankreas), diafragma, pleura, mediastinal, perikardium; tumor dalam bronkus berjarak 2cm dari karina, tapi belummengenaikan karina; ateletaksis menyeluruh atau pneumonitis obstruktif keseluruhan paru.
T4	berapapun ukuran tumor sudah mengenai langsung salah satu struktur berikut: mediastinum, jantung, pembuluh darah besar, trakea, esofagus, vertebra, karina.

Kelenjar limfe regional (N)	
NX	kelenjar limfe regional tidak dapat dinilai.
N0	tidak ada metastasis kelenjar limfe regional.
N1	metastasis ke kelenjar limfe prebronkial ipsilateral dan atau kelenjar limfe hilus paru ipsilateral, dan tumor primer langsung mengenai kelenjar limfe intrapulmonal
N2	metastasis ke kelenjar limfe mediastinal ipsilateral dan atau subkarina.
N3	metastasis ke kelenjar limfe mediastinal kontralateral, hilus paru kontralateral, kelenjar limfe skalenii atau supraklavikular ipsilateral atau kontralateral.

Metastasis jauh (M)	
MX	metastasis jauh tidak dapat dinilai.
M0	tidak ada metastasis jauh.
M1	terdapat metastasis jauh.

Sumber: Deses, 2007

Untuk penentuan stadium karsinoma paru sel kecil, dapat dibagi menjadi stadium terbatas (*limited disease*) dan stadium meluas (penyakit ekstensif). Kekhasan stadium terbatas ini adalah tumor terbatas pada rongga torak satu sisi, termasuk adanya metastasis kelenjar limfe supraklavikular atau m.skalenii anterior. Terhadap karsinoma paru sel kecil stadium terbatas harus lebih lanjut menurut stadium TNM dilakukan penentuan stadium klinis, agar dapat secara lebih tepat memberikan terapi individualisasi terbaik kepada pasien dengan stadium berbeda. Sedangkan stadium meluas (penyakit ekstensif), lesi sudah melampaui lingkup stadium terbatas (Densen, 2008).

#### 2.2.6 Prinsip Terapi

Setelah melakukan diagnosis histologik dan prosedur penentuan stadium anatomis dan fisiologis, dibuat rencana untuk pengobatan secara keseluruhan. Pengobatan yang sering digunakan adalah kombinasi dari pembedahan, radiasi, dan kemoterapi.

Pada pasien kanker paru non sel kecil (NSCLC) stadium I, II, dan beberapa kasus stadium IIIA pengobatan yang dipilih adalah pembedahan, kecuali jika



tumor tidak dapat direseksi atau terdapat keadaan yang tidak memungkinkan pembedahan, misalnya penyakit jantung. Pembedahan dapat berupa pengangkatan paru parsial atau total. Terapi radiasi umumnya dilakukan pada pasien dengan lesi stadium I dan stadium II jika terdapat kontraindikasi pembedahan, dan untuk lesi stadium III jika penyakit terbatas pada hemitoraks dan kelenjar getah bening supraklavikular ipsilateral. Jika kanker paru non sel kecil tersebar, tetapi radiasi dapat diberikan pada daerah lokal untuk tujuan paliatif. Kombinasi kemoterapi juga dapat di berikan pada pasien kanker paru non sel kecil (NSCLC).

Dasar terapi untuk pasien kanker paru sel kecil (SCLC) adalah kemoterapi, dengan atau tanpa terapi radiasi. Kemoterapi dan radioterapi dada dapat diberikan pada pasien dengan stadium penyakit yang terbatas, jika secara fisiologis mereka mampu menjalani pengobatan tersebut. Pada pasien dengan stadium penyakit yang ekstensif (luas) dilakukan pengobatan dengan kemoterapi saja. Beberapa regimen kombinasi kemoterapi yang sering digunakan terdiri dari siklofosamid, doksorubisin, dan vinkristin, serta siklofosamid, doksorubisin, dan etoposid. Terapi radiasi juga dapat digunakan untuk profilaksis metastasis ke otak, dan untuk penanganan paliatif terhadap nyeri, hemoptisis berulang, efusi, atau obstruksi saluran nafas atau vena cava superior (Price dan Wilson, 2006).

#### 2.2.7 Prognosis Kanker Paru

Prognosis keseluruhan bagi pasien karsinoma bronkogeik adalah buruk (kelangsungan hidup 5 tahun 14%) dan hanya sedikit meningkat dalam beberapa tahun terakhir, setelah didapatkan agen preventif yang baru (Price dan Wilson, 2006). Secara keseluruhan kanker paru non sel kecil memiliki prognosis yang lebih baik daripada kanker paru sel kecil. Jika kanker paru non sel kecil terdeteksi sebelum mengalami metastasis atau penyebaran lokal, dapat dicapai kesembuhan dengan lobektomi atau pneumonektomi (Kumar *et al.*, 2007).

#### 2.2.8 Upaya Pencegahan Kanker Paru

Upaya yang dapat dilakukan paling utama adalah menjauhkan anak-anak agar tidak merokok dan memberikan penyuluhan kepada orang dewasa untuk

berhenti merokok. Hal ini adalah upaya pencegahan kanker paru yang paling efektif. Menurut penelitian masih sangat sedikit, sekitar 5-20% sukarelawan yang dapat benar-benar berhenti merokok, hal ini dikarenakan zat nikotin yang terkandung dalam setiap puntung rokok yang bersifat adiktif yang memberikan efek ketergantungan seperti heroin (Harrison, 2008).

### 2.3 Tanaman Kedelai (*Glycine max.* L)

Kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max.* Namun pada tahun 1984 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max* (L) Merill.

#### 2.3.1 Taksonomi Kedelai

Tingkatan taksonomi kedelai *Glycine max.* L sebagai berikut (Suprpto, 2001):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-divisio	: <i>Angiospermae</i>
Classis	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Rosales</i>
Familia	: <i>Leguminosae</i>
Sub famili	: <i>Papilionoideae</i>
Genus	: <i>Glycine</i>
Species	: <i>Glycine max</i> (L) Merill

#### 2.3.2 Morfologi dan Penyebaran Kedelai

Penyebaran kedelai di Indonesia mulai dilaporkan pada zaman *Rhumpius* (abad ke-17). Pada waktu itu kedelai dibudidayakan sebagai tanaman makanan dan pupuk hijau. Sampai saat ini di Indonesia, kedelai banyak di dataran rendah yang tidak banyak mengandung air, misalnya pesisir utara Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, Gorontalo (Sulawesi Utara), Sulawesi Tenggara, dan Lampung serta Sumatra Selatan dan Bali.

Menurut ahli tanaman, kedelai yang sudah disebarluaskan di Indonesia bukan lagi tanaman asli. Kedelai jenis liar *Glycine uririencis* merupakan kedelai yang menurunkan berbagai kedelai yang kita kenal sekarang (*Glycine max* (L) Merrill). Berasal dari daerah Manshukuo (Cina Utara). Penyebaran tanaman kedelai ke Indonesia berasal dari daerah Manshukuo menyebar ke daerah Mansyuria: Jepang (Asia Timur) dan ke negara lain di Amerika dan Afrika (Adisarwanto dan Budiarto, 2002).

Tanaman kedelai merupakan tanaman pangan yang umumnya tumbuh tegak, berbentuk semak, dan merupakan tanaman semusim. Morfologi tanaman kedelai didukung oleh komponen utamanya, yaitu akar, daun, batang, polong dan biji dengan penjelasan sebagai berikut (Irwan, 2006):

a. Akar

Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Selain itu kedelai juga seringkali membentuk akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Pada umumnya, akar adventif terjadi karena cekaman tertentu, misalnya kadar air tanah yang terlalu tinggi. Perkembangan akar kedelai sangat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah, jenis tanah, cara pengolahan lahan, kecukupan unsur hara, serta ketersediaan air di dalam tanah. Pertumbuhan akar tunggang dapat mencapai panjang sekitar 2 m atau lebih pada kondisi yang optimal.

b. Batang dan cabang

Pertumbuhan batang kedelai dibedakan menjadi dua tipe, yaitu tipe *determinate* dan *indeterminate*. Perbedaan sistem pertumbuhan batang ini didasarkan atas keberadaan bunga pada pucuk batang. Pertumbuhan batang tipe *determinate* ditunjukkan dengan batang yang tidak tumbuh lagi pada saat tanaman mulai berbunga. Sementara pertumbuhan batang tipe *indeterminate* dicirikan bila pucuk batang tanaman masih bisa tumbuh daun, walaupun tanaman sudah mulai berbunga. Disamping itu, ada varietas hasil persilangan yang mempunyai tipe batang mirip keduanya sehingga dikategorikan sebagai *semi-determinate* atau *semi-indeterminate*.

Jumlah buku pada batang tanaman dipengaruhi oleh tipe tumbuh batang dan periode panjang penyinaran pada siang hari. Pada kondisi normal, jumlah buku berkisar 15-30 buah. Jumlah buku batang indeterminate umumnya lebih banyak dibandingkan batang *determinate*. Jumlah batang tidak mempunyai hubungan yang signifikan dengan jumlah biji yang diproduksi. Artinya, walaupun jumlah cabang banyak, belum tentu produksi kedelai juga banyak.

#### c. Daun

Umumnya, bentuk daun kedelai ada dua, yaitu bulat (oval) dan lancip (*lanceolate*). Kedua bentuk daun tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik. Bentuk daun diperkirakan mempunyai korelasi yang sangat erat dengan potensi produksi biji. Umumnya, daerah yang mempunyai tingkat kesuburan tanah tinggi sangat cocok untuk varietas kedelai yang mempunyai bentuk daun lebar.

Lebat tipisnya bulu pada daun kedelai berkait dengan tingkat toleransi varietas kedelai terhadap serangan jenis hama tertentu. Hama penggerek polong ternyata sangat jarang menyerang varietas kedelai yang berbulu lebat. Oleh karena itu, para peneliti pemulia tanaman kedelai cenderung menekankan pada pembentukan varietas yang tahan hama harus mempunyai bulu di daun, polong, maupun batang tanaman kedelai.

#### d. Bunga

Tanaman kacang-kacangan, termasuk tanaman kedelai, mempunyai dua stadium tumbuh, yaitu stadium vegetatif dan stadium reproduktif. Stadium vegetatif mulai dari tanaman berkecambah sampai saat berbunga, sedangkan stadium reproduktif mulai dari pembentukan bunga sampai pemasakan biji. Tanaman kedelai di Indonesia yang mempunyai panjang hari rata-rata sekitar 12 jam dan suhu udara yang tinggi ( $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), sebagian besar mulai berbunga pada umur antara 5-7 minggu. Tanaman kedelai termasuk peka terhadap perbedaan panjang hari, khususnya saat pembentukan bunga. Bunga kedelai menyerupai kupu-kupu.

Pembentukan bunga dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban. Pada suhu tinggi dan kelembaban rendah, jumlah sinar matahari yang jatuh pada ketiak tangkai daun lebih banyak. Hal ini akan merangsang pembentukan bunga. Periode

berbunga pada tanaman kedelai cukup lama yaitu 3-5 minggu untuk daerah subtropik dan 2-3 minggu di daerah tropik, seperti di Indonesia. Jumlah bunga pada tipe batang *determinate* umumnya lebih sedikit dibandingkan pada batang tipe *indeterminate*. Warna bunga yang umum pada berbagai varietas kedelai hanya dua, yaitu putih dan ungu.

e. Polong dan biji

Polong kedelai pertama kali terbentuk sekitar 7-10 hari setelah munculnya bunga pertama. Panjang polong muda sekitar 1 cm. Jumlah polong yang terbentuk pada setiap ketiak tangkai daun sangat beragam, antara 1-10 buah dalam setiap kelompok. Pada setiap tanaman, jumlah polong dapat mencapai lebih dari 50, bahkan ratusan. Kecepatan pembentukan polong dan pembesaran biji akan semakin cepat setelah proses pembentukan bunga berhenti. Ukuran dan bentuk polong menjadi maksimal pada saat awal periode pemasakan biji. Hal ini kemudian diikuti oleh perubahan warna polong, dari hijau menjadi kuning kecoklatan pada saat masak.

Di dalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi, mulai dari kecil (sekitar 7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100 biji), dan besar (>13 g/100 biji). Bentuk biji bervariasi, tergantung pada varietas tanaman, yaitu bulat, agak gepeng, dan bulat telur. Namun demikian, sebagian besar biji berbentuk bulat telur.

f. Bintil akar dan Fiksasi Nitrogen

Tanaman kedelai dapat mengikat nitrogen di atmosfer melalui aktivitas bakteri pengikat nitrogen, yaitu *Rhizobium japonicum*. Kemampuan memfiksasi N<sub>2</sub> ini akan bertambah seiring dengan bertambahnya umur tanaman, tetapi maksimal hanya sampai akhir masa berbunga atau mulai pembentukan biji. Setelah masa pembentukan biji, kemampuan bintil akar memfiksasi N<sub>2</sub> akan menurun bersamaan dengan semakin banyaknya bintil akar yang tua dan luruh. Disamping itu, juga diduga karena kompetisi fotosintesis antara proses pembentukan biji dengan aktivitas bintil akar.

## 2.4 Kandungan dan Manfaat Kedelai Terhadap Kanker Paru

Kacang kedelai merupakan bahan pangan sumber protein dan lemak nabati yang sangat penting peranannya dalam kehidupan. Walaupun asam amino yang terkandung dalam proteinnya tidak selengkap protein hewani, namun penambahan bahan lain seperti wijen, jagung atau menir sangat baik untuk menjaga keseimbangan asam amino tersebut.

Kedelai mengandung protein 35 % bahkan pada varietas unggul kadar proteinnya dapat mencapai 40 - 43 %. Dibandingkan dengan beras, jagung, tepung singkong, kacang hijau, daging, ikan segar, dan telur ayam, kedelai mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, hampir menyamai kadar protein susu skim kering (Margono *et al.*, 2000). Bila seseorang tidak boleh atau tidak dapat makan daging atau sumber protein hewani lainnya, kebutuhan protein sebesar 55 gram per hari dapat dipenuhi dengan makanan yang berasal dari 157,14 gram kedelai.

Tabel 2.4 Komposisi kedelai per 100 gram bahan

KOMPONEN	KADAR (%)
Protein	34-45
Lemak	18-32
Karbohidrat	12-30
Air	7

Sumber : Esti, 2000

Tabel 2.5 Perbandingan antara protein kedelai dengan beberapa bahan makanan lain

Bahan Makanan	Protein (%)
Susu skim kering	36,00
Kedelai	35,00
Kacang hijau	22,00
Daging	19,00
Ikan segar	17,00

Telur ayam	13,00
Jagung	9,20
Beras	6,80
Tepung singkong	1,10

Sumber : Esti, 2000

Kedelai mengandung senyawa antioksidan diantaranya adalah vitamin A, vitamin E, provitamin A, vitamin C dan senyawa flavonoid golongan isoflavon. Flavonoid adalah sejenis pigmen, seperti halnya zat hijau daun yang terdapat pada tanaman yang berwarna hijau. Senyawa ini biasanya memiliki ciri khas, yaitu mengeluarkan bau tertentu. Bau langu yang terdapat dalam biji kedelai adalah salah satu tanda bahwa dalam biji tersebut terdapat flavonoid. Secara ilmiah, flavonoid sudah dibuktikan mampu mencegah mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu jenis flavonoid yang sangat bermanfaat bagi kesehatan adalah isoflavon. Pada tanaman kedelai, kandungan isoflavon yang lebih tinggi terdapat pada biji kedelai, khususnya pada bagian hipokotil (*germ*) yang akan tumbuh menjadi tanaman. Sebagian lagi terdapat pada kotiledon yang akan menjadi daun pertama pada tanaman (Anderson, 1997).

Kandungan isoflavon dalam kedelai berkisar antara 2-4 mg/g kedelai. Pada umumnya senyawa isoflavon ini berupa senyawa kompleks atau terkonjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan glukosida. Jenis senyawa isoflavon ini terutama adalah genistein, daidzein, dan glistein. Selama proses pengolahan, baik melalui fermentasi maupun proses non-fermentasi, senyawa isoflavon dapat mengalami transformasi, terutama melalui proses hidrolisa sehingga dapat diperoleh senyawa isoflavon bebas yang disebut aglikon yang lebih tinggi aktifitasnya. Senyawa aglikon tersebut adalah genistein, glisitein, dan daidzein (Ayuningtyas, 2009).

Kandungan antioksidan yang terdapat dalam isoflavon berfungsi melakukan regulasi untuk menghambat pertumbuhan kanker (Asih, 2009). Penelitian yang telah dilakukan oleh Sonee *et al.* pada tahun 2004 menunjukkan bahwa isoflavon berperan sebagai antioksidan sekaligus antikanker dengan mengikat radikal bebas,

menghambat peroksidase lemak dan menghambat sel perkusor kanker untuk berkembang menjadi sel kanker. Antioksidan dalam isoflavon tersebut juga dapat menghambat produksi oksigen reaktif, sehingga menurunkan radikal bebas. Pada sel kanker, isoflavon dapat memutuskan untaian DNA pada apoptosis dan membantu mengendalikan pertumbuhan sel yang tidak diinginkan yang disebabkan hilangnya regulasi sinyal pertumbuhan dan penekan pertumbuhan karena rusaknya DNA.

Penghambatan sel kanker oleh isoflavon dijelaskan oleh Peterson *et al.* (1997) melalui mekanisme sebagai berikut:

- a. Penghambatan pembelahan/proliferasi sel (baik sel normal, sel yang terinduksi oleh faktor pertumbuhan sitokonin maupun sel kanker yang terinduksi nonil-fenol atau bi-fenol A) yang diakibatkan oleh penghambatan pembentukan membran sel, khususnya pembentukan membran sel, khususnya penghambatan pembentukan protein yang mengandung tirosin.
- b. Penghambatan regulasi siklus sel yang menyebabkan ekspresi gen abnormal menurun sehingga menginduksi apoptosis sel abnormal.
- c. Penghambatan aktivitas enzim DNA isomerase II.
- d. Sifat antioksidan dan anti-angiogenik yang disebabkan oleh sifat reaktif terhadap senyawa radikal bebas.
- e. Sifat mutagenik pada gen endoglin (gen transforman faktor pertumbuhan betha atau TGF $\beta$ )

Mekanisme ini dapat berlangsung apabila konsentrasi genistein lebih besar dari 5  $\mu$ M. Mekanisme kerja ini genistein yang menginduksi apoptosis sel dan menghambat proliferasi sel mengindikasikan genistein sebagai agen preventif.

Selain sebagai antikanker isoflavon juga dapat berpotensi dalam mencegah dan mengatasi masalah kesehatan yang lainnya yaitu dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung dengan cara membantu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Isoflavon kedelai melalui penelitian *in vivo* dan *in vitro* juga terbukti dapat menghambat enzim tirosin kinase sehingga dapat menghambat perkembangan sel kanker dan angiogenesis. Hal ini berarti,



suatu tumor tidak dapat membentuk pembuluh darah baru, dengan demikian pertumbuhan tumor tersebut dapat terhenti (Koswara, 2006).

## 2.5 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA)

### 2.5.1 Definisi DMBA

7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA) adalah salah satu turunan dari kelompok kimia polisiklik hidrokarbon aromatik (PAH). Hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) merupakan polutan organik yang dilepaskan ke lingkungan dalam jumlah besar. PAH merupakan komponen dari minyak mentah dan batubara. PAH merupakan salah satu agen karsinogenik yang potensial. Kebanyakan PAH ditemukan di lingkungan selama pembakaran tidak lengkap dari bahan organik pada suhu tinggi. PAH yang dihasilkan dibebaskan ke lingkungan lewat partikel udara atau dalam bentuk padat dan cair (Attar, 2004).

Senyawa 7,12-Dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA) berbentuk padat, berwarna kuning kehijauan dan bersifat pengoksidasi. Memiliki banyak efek toksik, diantaranya efek toksik terhadap saluran pencernaan, pernafasaan, dan absorpsi kulit serta dapat menimbulkan iritasi terhadap kulit, mata dan saluran gastrointestinal. Gejala-gejala yang ditunjukkan pada hewan percobaan diantaranya adalah kemandulan, *skin effect*, dan efek sebacea (berminyak) dari kelenjar minyak.

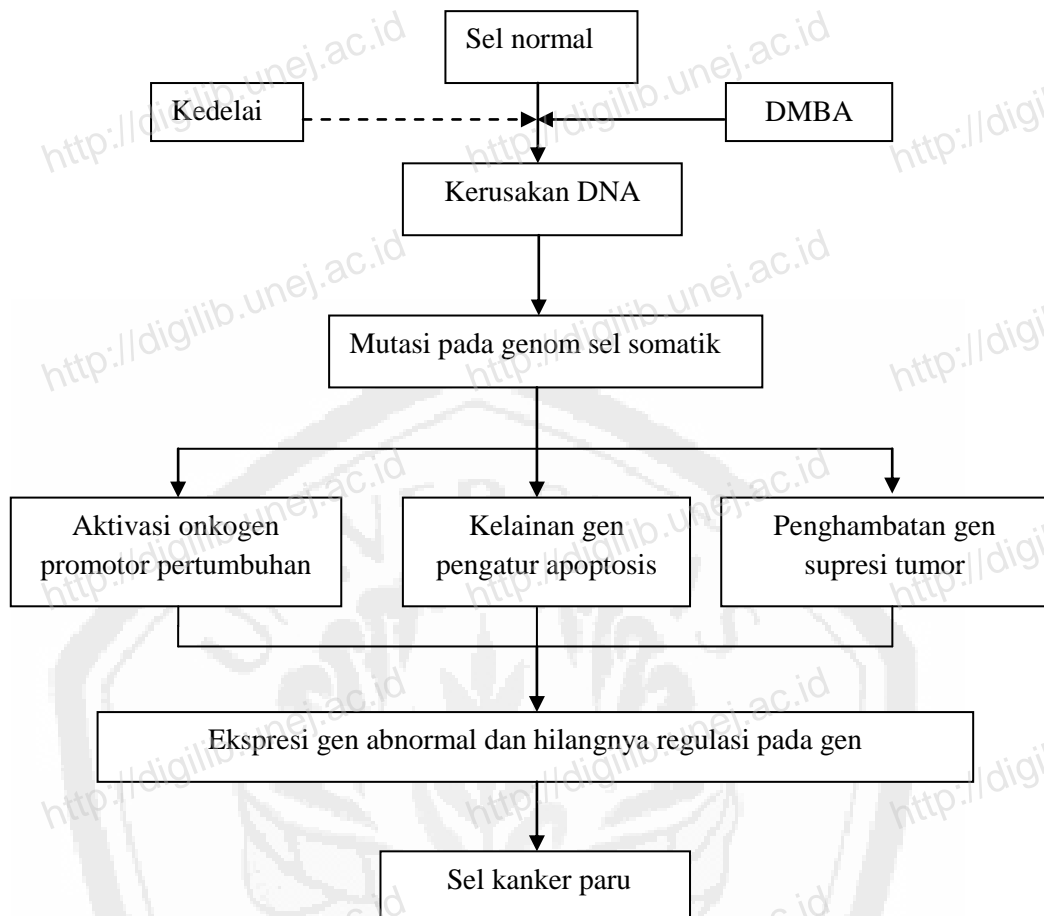
DMBA adalah salah satu dari PAH karsinogenik yang paling poten. DMBA merupakan senyawa karsinogen spesifik untuk eksperimental kanker pada hewan percobaan, tetapi bukan merupakan karsinogen *direct*. Aktivitas karsinogenik dari DMBA terjadi melalui aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 membentuk *proximate carcinogen* dan *ultimate carcinogen*. *Proximate carcinogen* adalah metabolit intermediet yang akan mengalami metabolisme lebih lanjut menjadi *ultimate carcinogen*. *Ultimate carcinogen* merupakan metabolit akhir dari karsinogen induk yang akan membentuk DNA adduct, suatu proses awal inisiasi kanker (Dandekar *et al.*, 1986).

### 2.5.2 Mekanisme DMBA

DMBA adalah bahan karsinogen yang kuat dan banyak spesifik yang banyak digunakan dalam laboratorium penelitian kanker. DMBA berfungsi sebagai inisiator tumor melalui proses mutasi yang proses promosi tumor diinduksi oleh *12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetat* sehingga membuat pertumbuhan tumor menjadi cepat (Miyata *et al.*, 2001). DMBA yang dikenal sebagai sitotoksik, karsinogenik, dan mutagenik sebagai analog dari PAH akan mengaktivasi sitokrom P450 yang bisa menyebabkan mutasi DNA dan menyebabkan terjadinya kanker (Buters *et al.*, 2003).

Mekanisme aktivasi DMBA melibatkan enzim sitokrom P450 dan atau peroksidase menjadi *intermediate* reaktif yang dapat merusak DNA yaitu terbentuknya epoksid dihidrodiol. DMBA akan dirubah oleh enzim fase I, sitokrom P450 (CYP) menjadi *ultimate carcinogen* berupa senyawa epoksida elektrofil yang merupakan metabolit aktifnya (Rowlands *et al.*, 2001). Metabolit epoksida dapat membentuk DNA *adduct* dan menyebabkan mutasi, akibatnya terbentuklah kanker (Weimer *et al.*, 2000).

## 2.6 Kerangka Konseptual



Keterangan:

-----> = langkah preventif

Gambar 2.3 Bagan kerangka konseptual

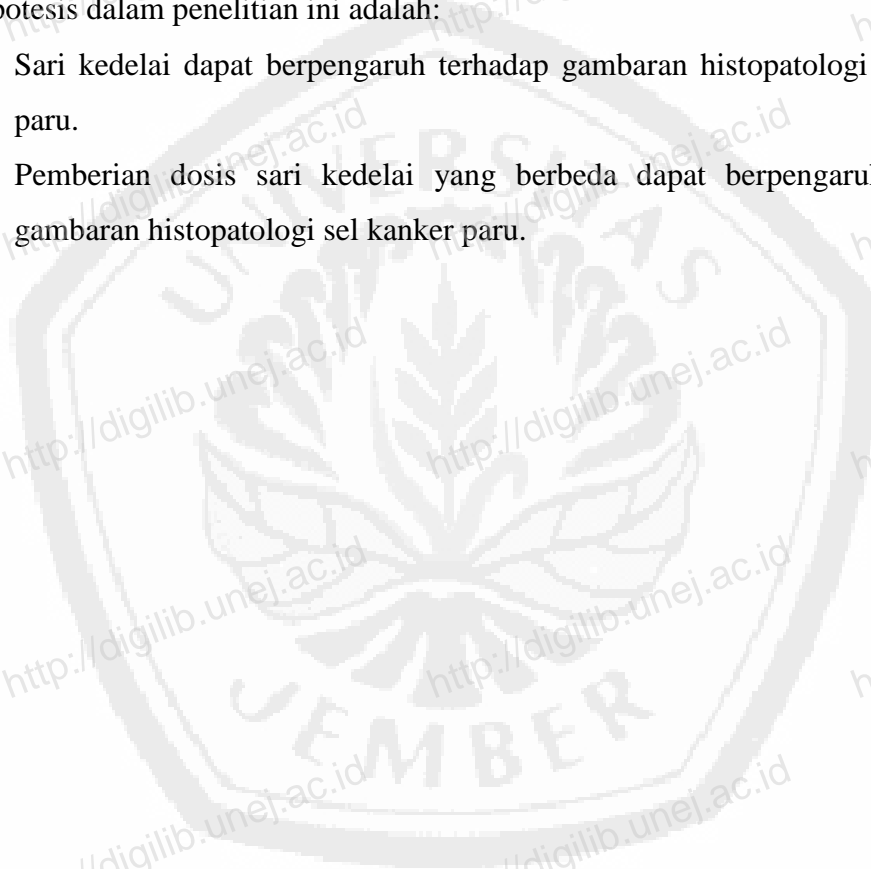
Seperti yang terdapat dalam kerangka konseptual, awalnya sel normal diberi DMBA. DMBA adalah senyawa karsinogenik yang dapat menimbulkan sel kanker. Dengan pemberian DMBA tersebut diharapkan terjadi kerusakan DNA yang menyebabkan terjadinya mutasi pada genom sel somatik sehingga merangsang aktivasi onkogen pertumbuhan sel kanker, kelainan gen pengatur apoptosis dan penghambatan gen supresi tumor. Ketiga hal tersebut menimbulkan suatu ekspresi gen abnormal dan hilangnya regulasi pada gen sehingga nanti akan

didapatkan suatu gambaran sel kanker paru. Kedelai merupakan suatu agen preventif yang akan diberikan secara bersamaan dengan DMBA, sehingga diharapkan kedelai dapat menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan DNA. Dengan dihambatnya kerusakan DNA tersebut, proses karsinogenesis yang akan terjadi selanjutnya dapat dihambat sehingga sel kanker paru tidak dapat terbentuk.

### **2.7 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- a. Sari kedelai dapat berpengaruh terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru.
- b. Pemberian dosis sari kedelai yang berbeda dapat berpengaruh terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

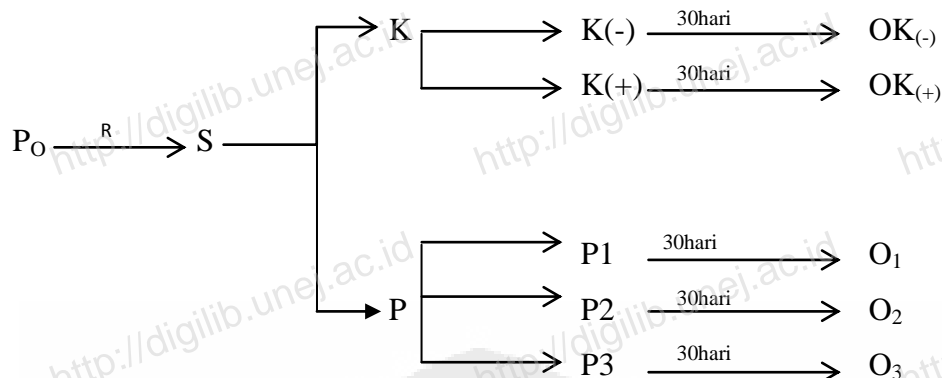
Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Pratiknya, 2003). Penelitian eksperimen merupakan kegiatan percobaan (*experiment*) yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu (Notoatmojo, 2002).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Rancangan tersebut dipilih dengan asumsi bahwa di dalam suatu populasi tertentu, tiap unit populasi adalah homogen, yaitu karakteristik antar semua unit populasi adalah sama. Pengukuran awal tidak dilakukan karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi, sehingga dapat dikembangkan rancangan eksperimental tanpa ada pengukuran awal (*pre test*), tetapi hanya pengukuran akhir (*post test*) (Pratiknya, 2003).

Rancangan penelitian ini dilakukan dengan membagi sampel dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan melalui randomisasi. Rancangan ini diperluas dengan melibatkan lebih dari satu variabel bebas, dengan kata lain perlakuan dilakukan pada lebih dari satu kelompok dengan bentuk perlakuan yang berbeda. Setelah semua perlakuan selesai, dilakukan observasi (*post test*) pada semua kelompok untuk diperoleh kesimpulan mengenai perbedaan diantaranya melalui analisis data tertentu (Notoatmojo, 2002).

Secara sistematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po : Populasi 25 tikus

R : *Simple random sampling*

S : Sampel

K<sub>(-)</sub> : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian pur dan aquadest biasa

K<sub>(+)</sub> : Kelompok kontrol positif dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen per ekor

P<sub>1</sub> : Kelompok perlakuan 1 dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 5 mg/hari per ekor

P<sub>2</sub> : Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 10 mg/hari per ekor

P<sub>3</sub> : Kelompok perlakuan 3 dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 15 mg/hari per ekor

O<sub>K(-)</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pur dan aquadest biasa setelah masa penelitian selesai

O<sub>K(+)</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen per ekor setelah masa penelitian selesai

O<sub>1</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 5 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai

O<sub>2</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 10 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai

O<sub>3</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 15 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai.

### 3.3 Besar Sampel

Populasi hewan yang akan digunakan dalam percobaan ini adalah tikus putih betina strain Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kondisi sehat, umur 8-12 minggu dan beratnya seragam, yaitu 120 gram.

Jumlah minimal tikus yang akan digunakan oleh peneliti sebanyak 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Jumlah sampel yang digunakan menurut rumus Federer yaitu:

$$(k-1)(n-1) > 15$$

$$(5-1)(n-1) > 15$$

$$4(n-1) > 15$$

$$4n - 4 > 15$$

$$4n > 15 + 4$$

$$N > 4,75 (= 5)$$

Keterangan :

k = jumlah kelompok

n = jumlah sampel dalam tiap kelompok

Jadi peneliti menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dan 3 kelompok perlakuan. Perbedaan 3 kelompok perlakuan ini adalah dosis sari kedelai sebesar 5 mg/hari, 10 mg/hari, dan 20 mg/hari, namun ketiganya mendapat perlakuan yang sama yaitu diberi DMBA setiap hari dengan dosis tunggal 4,2 mg bersamaan dengan pemberian kedelai selama 30 hari.

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.4.1 Tempat Penelitian

Perlakuan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, pembuatan sediaan histopatologi paru hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan untuk penghitungan proliferasi sel kanker dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan perlakuan dan pemeriksaan histopatologi paru pada bulan Februari 2010-Maret 2012.

## 3.5 Variabel Penelitian

### 3.5.1 Variabel Bebas

- a. DMBA dengan dosis tunggal yaitu 4,2 mg
- b. Sari kedelai dengan dosis masing-masing 5 mg/hari, 10 mg/hari, dan 20 mg/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3.

### 3.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah gambaran histopatologi sel kanker paru tikus.

### 3.5.3 Variabel Kendali

Variabel kendali meliputi :

- a. Umur hewan coba
- b. Berat badan hewan coba
- c. Jenis kelamin hewan coba
- d. Waktu dan lama perlakuan
- e. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba
- f. Ketepatan dosis DMBA dan sari kedelai

## 3.6 Definisi Operasional Variabel

1. DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen) dengan dosis tunggal sebesar 4,2 mg/hari merupakan dosis yang efektif untuk menimbulkan efek karsinogenik. Pemberian DMBA dilakukan bersamaan dengan sari kedelai.
2. Sari kedelai dengan dosis bertingkat sebesar 5 mg/hari, 10 mg/hari, dan 20 mg/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. Dosis ini adalah batasan dosis yang paling efektif untuk dapat menghambat terjadinya sel kanker paru. Sari kedelai diberikan melalui sonde setiap hari selama 30 hari.



3. Jumlah sel kanker paru tikus putih adalah jumlah total sel dengan karakteristik inti sel hiperkromatik, rasio inti dengan sitoplasma 1:1, dan inti sel membelah pada pemeriksaan HE. Dihitung melalui mikroskop dengan pembesaran 400 kali dan dinyatakan dalam satuan N sel per 10 lapang pandang.

### **3.7 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.7.1 Alat Penelitian**

Alat untuk pemeliharaan hewan coba antara lain kandang hewan dari kotak plastik, botol minuman hewan coba, kawat penutup kandang dan ekam untuk alas kandang. Sedangkan alat untuk pengambilan paru hewan coba serta mengamati sediaan histopatologi paru hewan coba yaitu mikrotom, gunting, papan fiksasi, jarum pentul, pinset, scapel, objek glass serta cover glass.

#### **3.7.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMBA (sebagai agen karsinogenesis), sari kedelai (sebagai agen preventif), minyak wijen (sebagai pelarut DMBA) dan larutan eter yang digunakan dalam pembiusan hewan coba.

#### **3.7.3 Bahan Pemeriksaan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ paru tikus yang sudah mendapat perlakuan, alkohol, xylol, paraffin, pewarnaan HE dengan pembesaran mikroskop 400 kali.

### **3.8 Prosedur Penelitian**

#### **3.8.1 Perlakuan Hewan Coba**

Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) strain Wistar sebanyak 30 ekor yang telah diadaptasikan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif ( $K_{(-)}$ ) adalah kelompok kontrol yang diberi makan dan minum biasa (tanpa perlakuan). Kelompok kontrol positif ( $K_{(+)}$ ) adalah kelompok kontrol yang diberi makan dan minum biasa serta

pemberian DMBA 4,2 mg per sonde. Kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 diberikan sari kedelai dengan dosis masing-masing 5 mg/hari, 10 mg/hari, dan 20 mg/hari per sonde dan DMBA dengan dosis tunggal 4,2 mg DMBA setiap hari selama 30 hari.

Tabel 3.1 Kelompok perlakuan dalam penelitian

Kelompok perlakuan	Diet	Dosis Karsinogen (DMBA)	Dosis Sari Kedelai
Kontrol (-)	Normal	-	-
Kontrol (+)	Normal	4,2mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen	-
1	Normal	4,2mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen	5mg/hari
2	Normal	4,2mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen	10mg/hari
3	Normal	4,2mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen	20mg/hari

Pemberian DMBA dan sari kedelai dilakukan per oral dengan menggunakan alat bantu sonde lambung bertujuan mencegah bahan tersebut dimuntahkan dari jumlah yang telah ditetapkan. Pemberian sari kedelai dan induksi DMBA dilakukan 1x/hari selama 30 hari per sonde. Berat badan tikus ditimbang setiap minggu dimulai dari sebelum perlakuan.

### 3.8.2 Pengambilan Jaringan Paru dan Penyimpanan Sediaan Histopatologi Jaringan Paru Hewan Coba

Dimulai dengan pembiusan tikus menggunakan larutan eter. Kemudian pengambilan jaringan paru hewan coba dengan beralaskan papan fiksasi dan hewan coba difiksasi menggunakan jarum pentul yang ditusukkan pada ujung keempat ekstremitasnya. Setelah itu kulit rongga thoraks abdomen hewan coba dieksisi dan jaringan parunya diambil. Jaringan paru ditempatkan di dalam wadah yang berisi formalin 10%.

Wadah yang berisi spesimen jaringan paru hewan coba dibawa ke Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dijadikan sediaan Histopatologi.

### 3.8.3 Pembuatan sediaan

Pembuatan sediaan histopatologi jaringan paru dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan menggunakan teknik pemrosesan jaringan dengan teknik *paraffin fixed embedded* dan teknik pengecatan menggunakan hematoksin eosin (HE). Spesimen dilakukan proses fiksasi, dehidrasi, clearing, dan impregnasi dengan cara mencelupkan jaringan ke dalam larutan yang akan digunakan sesuai dengan waktu yang ditentukan. Setelah itu dilanjutkan dengan proses embedding dan penyayatan jaringan dengan mikrotom. Kemudian sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu optimum (58-60 °C) selama 30 menit, dan sediaan siap dicat.

### 3.8.4 Pewarnaan HE

Setelah dibuat sediaan dengan teknik *paraffin fixed embedded*, sediaan dicelup dalam larutan *xylol* I selama 2 menit, kemudian dipindahkan pada *xylol* II selama 2 menit. Setelah dicelup dalam larutan *xylol*, sediaan tersebut dicelupkan dalam 2 bak alkohol *absolute*, masing-masing 1 menit, kemudian dipindahkan dalam 2 bak alkohol 95% masing-masing 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, dan dimasukkan dalam larutan mayer hematoksin selama 15 menit. Kemudian dibilas kembali dengan air dan dimasukkan dalam eosin antara 15 detik sampai 2 menit. Lalu dimasukkan lagi ke dalam 2 bak alkohol 95% masing-masing 1 menit. Setelah itu pindahkan dalam 3 bak alkohol *absolute* masing-masing 2 menit. Terakhir dalam *xylol* 3 bak, masing-masing 2 menit, dan dapat dilanjutkan proses mounting. Setelah itu sediaan siap diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

### 3.8.5 Proses Pengamatan

Proses pengamatan dilakukan oleh 3 peneliti, yaitu 1 peneliti dependen dan 2 peneliti independen. Hal tersebut dilakukan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kesalahan dalam perhitungan. Tiap peneliti menghitung hasil penelitian, yaitu jumlah sel kanker paru dengan ketentuan yang telah ditetapkan, baik itu mengenai daerah perhitungan maupun kriteria sel yang harus dihitung.

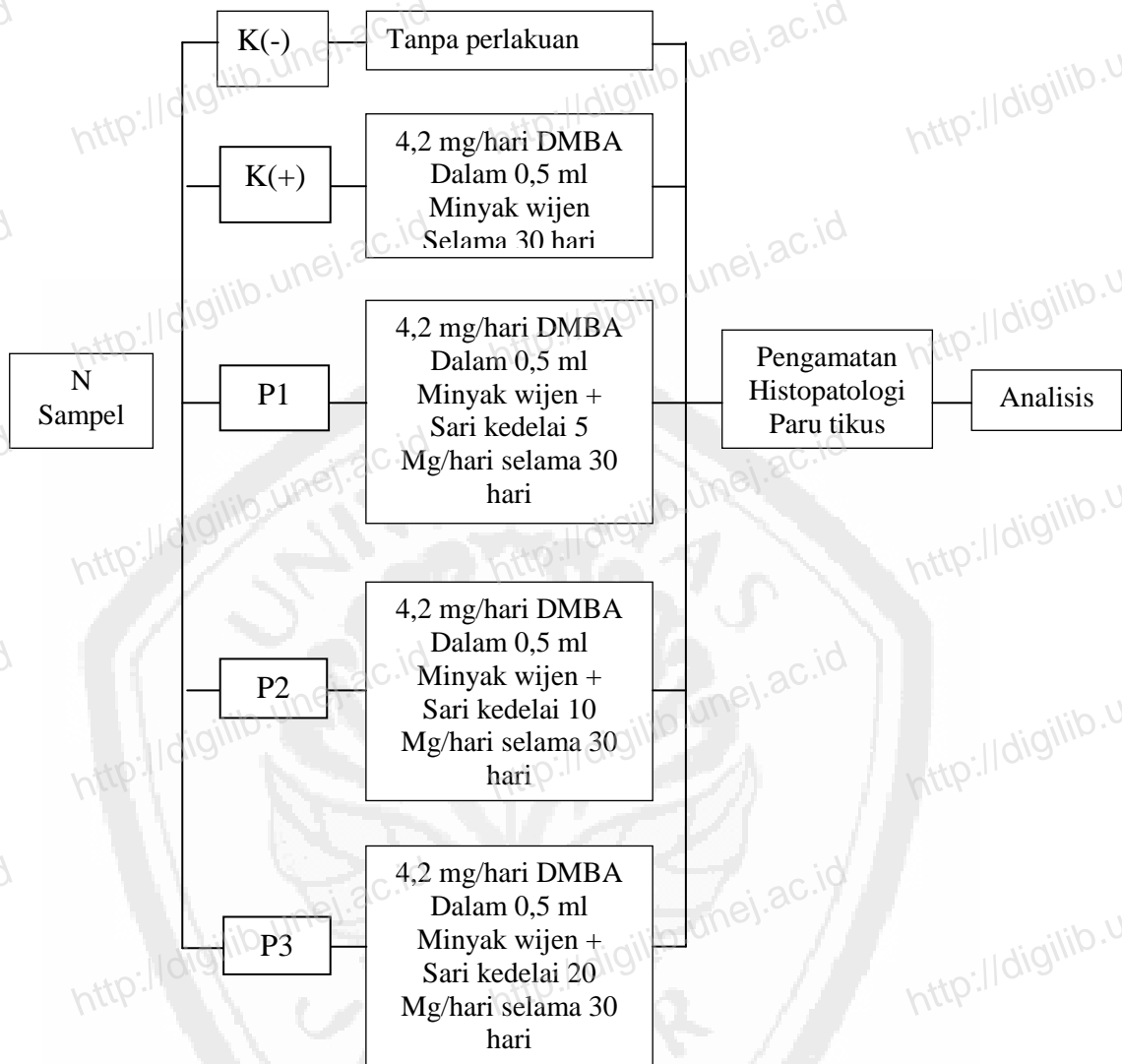
Peneliti menghitung hasil dari tiap kelompok perlakuan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali dan dilakukan sebanyak 10 lapang pandang.

### 3.9 Analisis Data Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada kelima kelompok digunakan uji *one way* ANOVA.



### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Data hasil penelitian

Lima kelompok perlakuan dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan menghitung jumlah kerusakan sel paru dalam 10 lapang pandang dengan pembesaran 400 kali. Pemeriksaan histopatologi tersebut menggunakan pewarnaan hematoxilin eosin (HE) dan dari tiap sampel didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan histopatologi sel kanker paru tikus wistar betina

Kelompok	Mean Sel Kanker	Mean Standart Deviasi
K (-)	28,20	5,54
K (+)	53,80	3,70
P1	44,20	3,42
P2	37,40	4,03
P3	27,60	5,31
Total	38,24	10,92

Keterangan:

K<sub>(-)</sub> = Kelompok kontrol negatif (tanpa induksi DMBA dan pemberian sari kedelai)

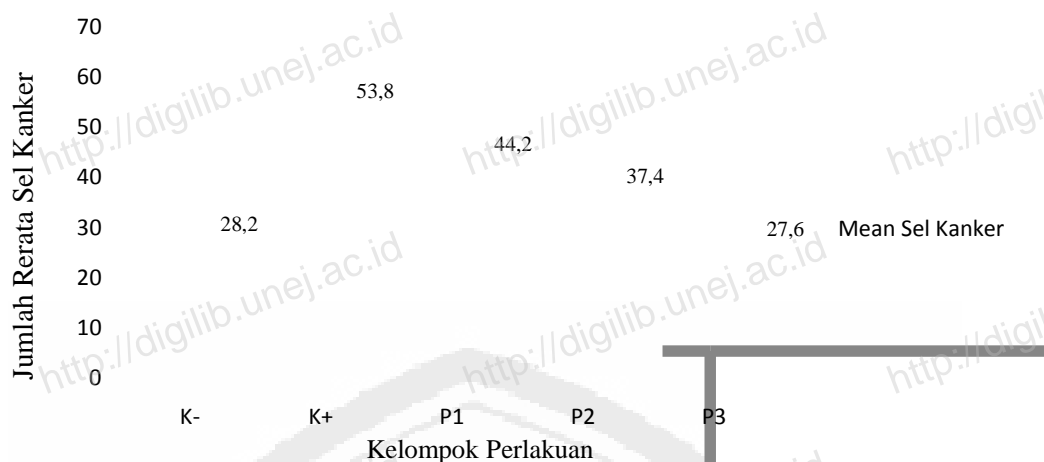
K<sub>(+)</sub> = Kelompok kontrol positif (DMBA 4,2 mg/hari)

P<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

P<sub>2</sub> = Kelompok perlakuan II (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 10 mg/hari)

P<sub>3</sub> = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa rerata jumlah gambaran sel kanker paru terbesar terdapat pada kelompok K<sub>(+)</sub> yaitu 53,80 sel/10 lapang pandang dengan pemberian DMBA 4,2 mg/hari tanpa diberi sari kedelai. Rerata terkecil terdapat pada kelompok P<sub>3</sub>. Terdapat penurunan rerata sel kanker pada kelompok perlakuan seiring dengan meningkatnya dosis pemberian sari kedelai. Diagram batang rerata hasil pemeriksaan gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus wistar dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram hasil pemeriksaan histopatologi sel kanker paru tikus wistar betina

Keterangan :

K (-) : Kelompok kontrol negatif (pur dan aquadest)

K (+) : Kelompok kontrol positif ( 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen per ekor)

P1 : Kelompok perlakuan 1 ( 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 5 mg/hari per ekor)

P2 : Kelompok perlakuan 2 (4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 10 mg/hari per ekor)

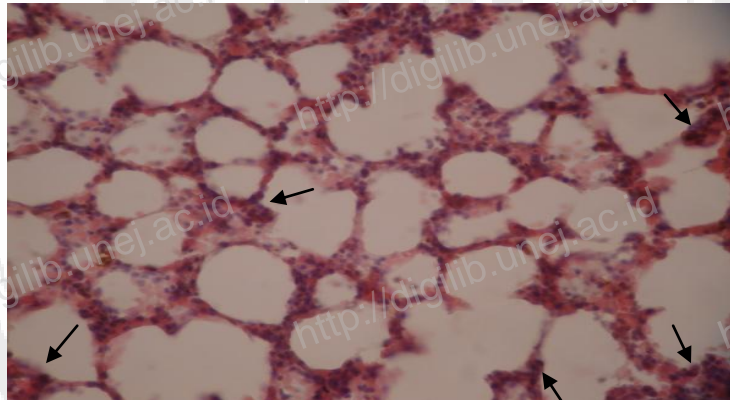
P3 : Kelompok perlakuan 3 ( 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 20 mg/hari per ekor)

Berdasarkan Tabel 4.1 dan Gambar 4.1 diketahui bahwa rerata sel kanker paru untuk kelompok kontrol negatif adalah sebesar 28,20 sel/10 lapang pandang dengan standart deviasi 5,540 dan kontrol positif sebesar 53,80 sel/10 lapang pandang dengan standart deviasi 3,70 sedangkan untuk kelompok P1, rerata sel kanker adalah 37,40 sel/10 lapang pandang dengan standart deviasi 3,42. Untuk kelompok P2 sebesar 27,60 sel/10 lapang pandang dengan standart deviasi 4,03 serta kelompok P3, rerata sel kanker adalah 38,24 sel/10 lapang pandang dengan standart deviasi 5,31.

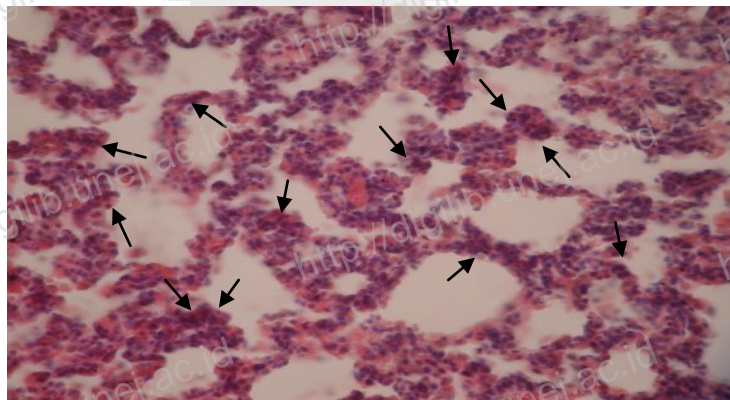
Rerata sel kanker paru pada kelompok perlakuan terbesar yaitu 53,80 pada pemberian DMBA 4,2 tanpa pemberian sari kedelai (kontrol (+)) dan rerata jumlah sel kanker paru pada kelompok perlakuan terkecil yaitu 27,60 pada

pemberian DMBA 4,2 mg dengan sari kedelai 20 mg/hari. Selain itu dapat dilihat bahwa terdapat penurunan presentase sel kanker paru seiring dengan meningkatnya dosis sari kedelai.

Pada Gambar 4.2 menunjukkan gambaran histopatologi dari setiap kelompok dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE). Ciri mikroskopis yang dapat dilihat yaitu inti sel membelah, bewarna lebih gelap, bewarna hiperkromatik pada nukleus dan perbandingan antara inti dengan sitoplasma adalah 1:1. Dari seluruh kelompok, gambaran sel kanker paru yang paling tinggi adalah pada kelompok kontrol positif (K2) diikuti dengan perlakuan 1 (P1), pada perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) dan kontrol negatif (K1). Dapat dilihat pula pada gambar 4.2, inti sel menjadi lebih gelap pada 4.2b dan c dibandingkan 4.2a, dan gambaran tersebut semakin membaik pada 4.2d dan e. Berikut ini gambaran histopatologi sel kanker paru yang ditunjukkan dengan tanda panah (↑).

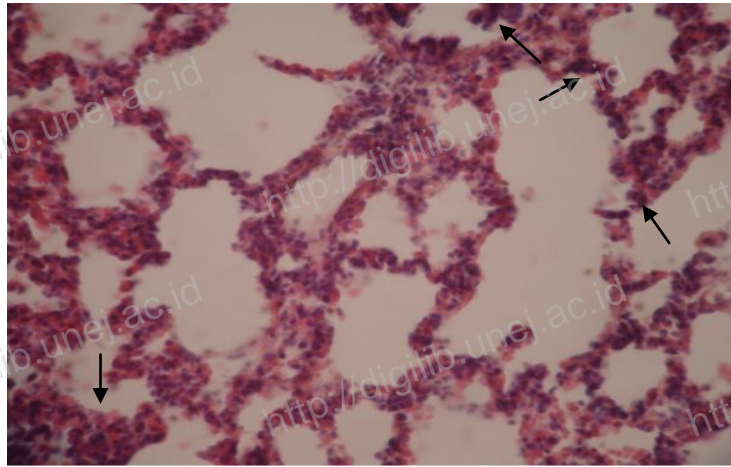


Gambar 4.2 Gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus Kontrol (-)

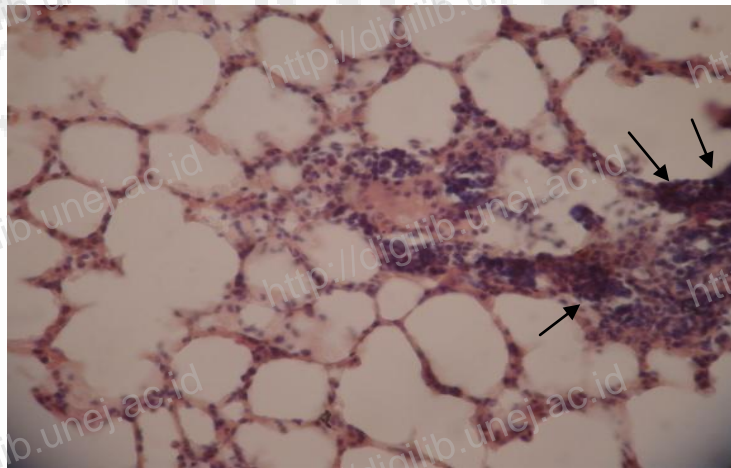


Gambar 4.3 Gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus Kontrol (+)

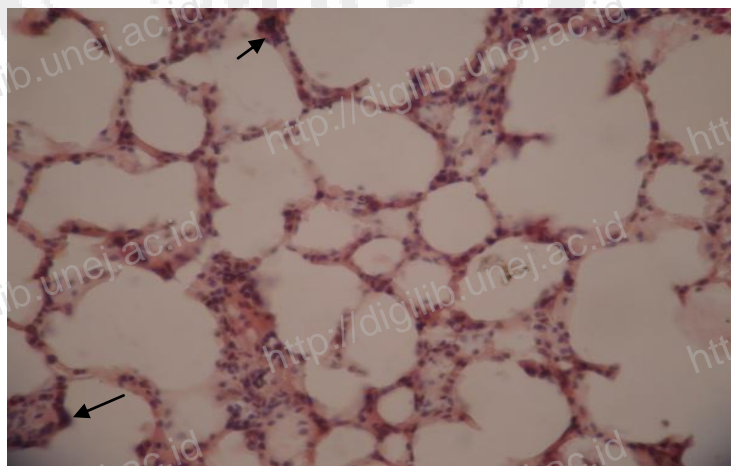




Gambar 4.4 Gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus Perlakuan 1



Gambar 4.5 Gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus Perlakuan 2



Gambar 4.6 Gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus Perlakuan 3

#### 4. 1. 2 Hasil Uji Analisis

Syarat yang harus dimiliki oleh data penelitian agar dapat melakukan analisis data dengan uji parametrik *one way* ANOVA ialah harus memiliki data yang terdistribusi normal dan varians datanya seragam. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terhadap data sebelum melakukan analisis *one way* ANOVA. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 4.2 dan tabel 4.3, dengan interpretasi 'H<sub>0</sub> diterima' (data normal atau tidak terdapat perbedaan) jika *sig.* > 0,05 dan 'H<sub>0</sub> ditolak' (data tidak normal atau terdapat perbedaan) jika *sig.* < 0,05.

Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas

		Tests of Normality					
Nomer		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah sel kanker	K (-)	,227	5	,200*	,910	5	,468
	K (+)	,206	5	,200*	,943	5	,687
	P1	,237	5	,200*	,961	5	,814
	P2	,164	5	,200*	,990	5	,980
	P3	,218	5	,200*	,943	5	,685

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Keterangan:

K<sub>(-)</sub> = Kelompok kontrol negatif (tanpa induksi DMBA dan pemberian sari kedelai)

K<sub>(+)</sub> = Kelompok kontrol positif (DMBA 4,2 mg/hari)

P<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

P<sub>2</sub> = Kelompok perlakuan II (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 10 mg/hari)

P<sub>3</sub> = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* pada tabel 4.2, diperoleh nilai *significancy* untuk semua kelompok lebih besar dari 0,05 (*sig.* > 0,05) yang menandakan data-data tersebut terdistribusi normal (H<sub>0</sub> diterima).

Tabel 4.3 Hasil Uji Homogenitas (*Test of Homogeneity of Variances*)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,939	4	20	,462

Dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*. Dari hasil perhitungan uji *Levene* pun didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,462 (*sig.* > 0,05) yang menandakan varians data seragam ( $H_0$  diterima).

Berdasarkan hasil interpretasi uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas *Levene* yang sama-sama menunjukkan *sig.* > 0,05 ( $H_0$  diterima), maka uji regresi linier dan uji *one way* ANOVA dapat dilakukan karena distribusi data normal dan varians data seragam/homogen.

Uji *One Way* Anova dilakukan untuk membedakan rerata semua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya (Ghozali, 2009). Pada uji *One Way* ANOVA ini didapatkan nilai *significancy* 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan gambaran histopatologi kanker paru pada 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

Dalam penelitian ini, data yang dibandingkan ada 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan menggunakan dosis sari kedelai yang berbeda. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, maka dilakukan analisis *Pos Hoc-Tukey HSD* dan hasilnya dinyatakan terdapat perbedaan yang signifikan apabila mempunyai nilai kurang dari 0,05 ( $Sig < 0,05$ ). Hasil dapat dilihat dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.4 Hasil Nilai Signifikasi Data Perlakuan Uji *Pos Hoc-Tukey HSD*

KELOMPOK	KELOMPOK	Nilai	Keterangan
K (-)	K (+)	,000	#
	P1	,000	#
	P2	,030	#

	P3	1,000	##
K (+)	K (-)	,000	#
	P1	,022	#
	P2	,000	#
	P3	,000	#
P1	K (-)	,0003	#
	K (+)	,022	#
	P2	,157	##
	P3	,000	#
P2	K (-)	,030	#
	K (+)	,000	#
	P1	,157	##
	P3	,019	#
P3	K (-)	1,000	##
	K (+)	,000	#
	P1	,000	#
	P2	,019	#

## Keterangan:

# : Ada perbedaan tiap kelompok

## : Tidak ada perbedaan antar kelompok

1 : Kelompok Kontrol (-)

2 : Kelompok Kontrol (+) (4,2mg DMBA dalam 0,5ml minyak wijen per ekor)

3 : Kelompok Perlakuan 1 (4,2mg DMBA dalam 0,5ml minyak wijen dan sari kedelai 10 mg/hari per ekor)

4 : Kelompok Perlakuan 2 (4,2mg DMBA dalam 0,5ml minyak wijen dan sari kedelai 15 mg/hari per ekor)

5 : Kelompok Perlakuan 3 (4,2mg DMBA dalam 0,5ml minyak wijen dan sari kedelai 20 mg/hari per ekor)

Pada pembacaan hasil perbandingan *Post Hoc Test*, diketahui bahwa hasil pengukuran sel kanker pada kelompok K(-) memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K(+), kelompok P1, kelompok P2, sedangkan pada kelompok P3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Jumlah sel kanker pada kelompok K(+), memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K(-), P1, P2, dan P3. Perbedaan kelompok P1 signifikan terhadap kelompok K(-), K(+), P2 dan P3. Jumlah sel kanker pada kelompok P2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K(-), K(+), P1 dan kelompok P3. Kelompok P3 memiliki hasil yang signifikan dengan kelompok K(+), P1 dan P2 akan tetapi tidak signifikan dengan kelompok K(-).

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus wistar yang diinduksi DMBA. Sari kedelai yang digunakan dalam penelitian ini, diberikan dalam berbagai dosis dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis kedelai tersebut terhadap gambaran sel kanker paru.

Dalam penelitian ini sel kanker terbanyak dapat terlihat pada kelompok kontrol positif yang mendapat perlakuan pemberian DMBA dosis tunggal (4,2 mg). Sebagian besar kelompok tersebut mengalami kerusakan sel dengan jumlah rerata sebesar 38,24. Pada kelompok perlakuan 2 (pemberian DMBA dengan sari kedelai sebanyak 10 mg) dan perlakuan 3 (pemberian DMBA dengan sari kedelai sebanyak 20 mg) juga terdapat sel kanker paru yang memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol positif yaitu sebesar 37,40 pada kelompok P2 dan 27,60 pada kelompok P3.

Pada uji perbandingan tiap kelompok dibandingkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, dibandingkan antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif, dan antar kelompok perlakuan, yaitu perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3.

Hasil perbandingan rerata sel kanker antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Hal ini membuktikan bahwa 7,12 Diimetylbenz(a)antrasen dapat memicu terjadinya sel kanker.

Hasil perbandingan rerata sel kanker dari kelompok perlakuan, yaitu perlakuan 2 dan perlakuan 3 terhadap kelompok kontrol positif mempunyai nilai yang signifikan. Hal ini membuktikan bahwa sari kedelai memiliki pengaruh protektif terhadap pembentukan sel kanker paru yang telah diinduksi DMBA. Tetapi pada perbandingan rerata dari kelompok perlakuan 1 terhadap kelompok kontrol positif terjadi penghambatan yang kurang bermakna. Hal ini dapat disebabkan karena dosis sari kedelai yang diberikan adalah dosis minimal (5 mg) sehingga penghambatan terhadap sel kanker paru belum maksimal.

Hasil uji perbandingan berikutnya untuk kelompok perlakuan, yaitu perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 terhadap kelompok kontrol negatif, yaitu kelompok yang hanya diberi makan dan minum biasa. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Perbedaan signifikan yang dimaksud disini adalah, rerata sel kanker paru yang lebih banyak pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 daripada kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada perbandingan antara kelompok perlakuan 3 dengan kelompok kontrol negatif tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Artinya tidak terdapat perbedaan gambaran histopatologi antara kelompok perlakuan 3 dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena peningkatan dosis sari kedelai dapat mengambat terjadinya sel kanker paru.

Analisis data perbandingan anatara ketiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 mendapatkan hasil perbedaan yang signifikan pada rerata sel kanker paru. Hal ini berarti menunjukkan bahwa pemberian sari kedelai sebanyak 5 mg/hari, 10 mg/hari, dan 20 mg/hari memberikan efek proteksi yang berbeda terhadap sel kanker paru. Selain itu, dapat dilihat adanya penghambatan jumlah sel kanker paru seiring dengan bertambahnya jumlah dosis sari kedelai yang diberikan. Hal ini membuktikan adanya perbedaan pemberian besar dosis sari kedelai terhadap efek proteksi yang diberikan.

Pada perbandingan kelompok perlakuan 2 terhadap kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 3 terdapat perbedaan signifikan jumlah sel kanker. Terdapat penurunan jumlah sel kanker jika kelompok perlakuan 2 dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1. Tetapi rerata akan lebih tinggi, jika kelompok perlakuan 2 dibandingkan dengan kelompok perlakuan 3. Artinya, pemberian sari kedelai dengan dosis 10 mg/hari dan 20 mg/hari memberikan hasil yang lebih baik dibanding dengan pemberiaan sari kedelai dengan dosis 5 mg/hari.

Pada penelitian ini digunakan DMBA dengan dosis 4,2 mg/hari sebagai induksi karsinogenesis sel kanker paru. DMBA yang dikenal sebagai sitotoksik, karsinogenik, dan mutagenik sebagai analog dari PAH akan mengaktifasi

sitokrom P450 yang bisa menyebabkan mutasi DNA dan menyebabkan terjadinya kanker (Buters *et al.*, 2003). Mekanisme aktivasi DMBA melibatkan enzim sitokrom P450 dan atau peroksidase menjadi intermediate reaktif yang dapat merusak DNA yaitu terbentuknya epoksid dihidrodiol. DMBA akan dirubah oleh enzim fase I, sitokrom P450 (CYP) menjadi *ultimate carcinogen* berupa senyawa epoksida elektrofil yang merupakan metabolit aktifnya (Rowlands *et al.*, 2001). Metabolit epoksida dapat membentuk DNA *adduct* (kerusakan DNA) dan menyebabkan mutasi, akibatnya terbentuklah kanker (Weimer *et al.*, 2000).

Pada penelitian ini, didalam sari kedelai yang telah digunakan mengandung beberapa senyawa-senyawa antioksidan antara lain vitamin A, provitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa flavonoid golongan isoflavon. Jenis isoflavon ini yang terutama adalah genistein, daidzin, dan glistin. Kandungan antioksidan yang terdapat dalam isoflavon juga berfungsi melakukan regulasi untuk menghambat pertumbuhan kanker (Asih, 2009). Sari kedelai bekerja sebagai antioksidan melalui inhibisi aktifitas isoenzim sitokrom P450, induksi enzim *glutathion S-Transferase* (GST), dan inhibisi oksidatif (Wu, 2003). Inhibisi aktivitas isoenzim sitokrom P450 yaitu CYP1A1 dan CYP1B1 menyebabkan karsinogen menjadi tidak reaktif. Selain itu antioksidan tersebut dapat menghambat produksi oksigen reaktif, sehingga menurunkan radikal bebas. CYP1A1 merupakan pemetabolisme senyawa-senyawa PAH yang salah satunya adalah DMBA (Susilowati, 2010). Pada sel kanker, isoflavon dapat memutuskan untaian DNA pada apoptosis dan membantu mengendalikan pertumbuhan sel yang tidak diinginkan.

Prokarsinogen DMBA yang digunakan dalam penelitian ini akan menghasilkan metabolit akhir yaitu *ultimate carcinogen* yang bersifat elektrofilik (memiliki atom yang kekurangan elektron) yang sangat reaktif dan bereaksi dengan atom kaya elektron di RNA, protein sel, dan terutama DNA. Interaksi antara senyawa karsinogen dengan DNA biasa disebut *DNA adduct* yang dapat menyebabkan kerusakan DNA sehingga terjadi proses karsinogenesis. Interaksi ini dapat dihambat dengan adanya detoksifikasi senyawa karsinogenesis. Interaksi ini dapat dihambat dengan adanya detoksifikasi senyawa karsinogen atau *ultimate*



karsinogen oleh enzim-enzim pemetabolisme terutama pada fase II yaitu enzim *glutathion S-transferase* (GST). Kemampuan detoksifikasi ini akan meningkat apabila ada peningkatan aktivitas (induksi) enzim-enzim ini. Peningkatan detoksifikasi menyebabkan senyawa reaktif menjadi tidak aktif dan mudah disekresikan keluar tubuh. Aktifitas selanjutnya terjadi penurunan *DNA adduct* (kerusakan DNA) dan proses inisiasi kersinogen dihambat. Kandungan isoflavon dalam flavonoid yang sangat tinggi pada sari kedelai mampu meningkatkan ekspresi enzim *glutathion S-transferase* (GST) yang dapat mendetoksifikasi karsinogen reaktif menjadi tidak reaktif dan lebih polar sehingga cepat dieliminasi dari tubuh, selain itu isoflavon juga dapat mengikat senyawa karsinogen sehingga mencegah ikatan dengan DNA (Ren *et al.*, 2003).

Penghambatan sel kanker oleh isoflavon dijelaskan oleh Peterson *et al.* (1997) melalui mekanisme sebagai berikut:

- a. Penghambatan pembelahan/proliferasi sel (baik sel normal, sel yang terinduksi oleh faktor pertumbuhan sitokonin maupun sel kanker yang terinduksi nonil-fenol atau bi-fenol A) yang diakibatkan oleh penghambatan pembentukan membran sel, khususnya pembentukan membran sel, khususnya penghambatan pembentukan protein yang mengandung tirosin.
- b. Penghambatan regulasi siklus sel yang menyebabkan ekspresi gen abnormal menurun sehingga menginduksi apoptosis sel abnormal.
- c. Penghambatan aktivitas enzim DNA isomerase II.
- d. Sifat antioksidan dan anti-angiogenik yang disebabkan oleh sifat reaktif terhadap senyawa radikal bebas.
- e. Sifat mutagenik pada gen endoglin (gen transforman faktor pertumbuhan betha atau TGF $\beta$ )

Beberapa senyawa flavonoid mempunyai potensi dan selektifitas yang tinggi untuk menghambat isoenzim CYP1A, suatu keluarga dari sitokrom P450 yang bertanggung jawab terhadap aktifasi karsinogen DMBA (Zhai *et al.*, 1998).

Aktivitas antikanker juga ditunjukkan flavonoid melalui induksi apoptosis. Flavonoid menghambat ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II yang



berperan dalam katalisis pemutaran dan relaksasi DNA. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan menyebabkan DNA terpotong dan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis seperti Bax dan Bak dan menurunkan ekspresi protein-protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 dan Bcl-XL. Dengan demikian pertumbuhan sel kanker terhambat. Sebagian besar flavonoid telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia namun bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren *et al.*, 2003).

Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu pada penelitian Susilowati mengenai efek preventif metanol kulit kayu nangka (*Artocarpus Heterophylla* Lmk.) pada karsinogenesis kanker payudara tikus betina yang diinduksi DMBA. Ekstrak metanol pada kulit kayu nangka memiliki senyawa flavonoid yang juga dimiliki oleh kedelai. Pada penelitian tersebut senyawa flavonoid yang terdapat dalam kulit kayu nangka terbukti dapat menurunkan insidensi terjadinya kanker payudara, mengurangi jumlah nodul dan rerata ukuran kanker payudara tikus, mempertahankan perkembangan berat badan tikus serta mempengaruhi keadaan histopatologi kanker payudara tikus (Susilowati, 2010). Selain itu penelitian ini juga sejalan dengan pernyataan Peterson, 1997 dalam *Second Internasional Symposium on the Role of Soybean in Preventing and Treating Chronic Disease* yang menjelaskan bahwa senyawa isoflavon dapat digunakan sebagai mekanisme antikanker pada level seluler.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan pembedahan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Sari kedelai dapat mencegah terjadinya sel kanker paru.
- b. Pada pemberian dosis yang berbeda, terdapat pula perbedaan jumlah sel kanker paru. Semakin tinggi dosis sari kedelai, semakin baik penghambatannya terhadap terjadinya sel kanker paru yaitu pada dosis 20 mg/hari.

### 5.2 Saran

- a. Dapat dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan berbagai olahan kedelai yang berbeda.
- b. Dapat dilakukan penelitian sejenis dengan mengamati kerusakan pada jaringan paru menggunakan teknik pemeriksaan yang baru.
- c. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengamati terjadinya proses karsinogenesis pada tingkat molekuler menggunakan teknik pemeriksaan imunohistokimia (*Carsinoembryonic Antigen* (CEA), *Cytokeratins* dll).
- d. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut agar didapatkan dosis efektif sari kedelai yang dapat digunakan sebagai alternatif preventif kanker paru secara luas.
- e. Dapat dilakukan penelitian mengenai kanker paru dengan menggunakan agen preventif yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto dan Budianto Rini. 2002. *Meningkatkan Hasil Panen Kedelai do Lahan Sawah-Kering-Pasang Surut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Roberts, K., dan Watson, J.D., 1994, *Molecular Biology Of The Cell*, Third ed, 1255, 1269, 1270, 1282, 1283, Garland Publ Inc, NY and London.
- Amin, Z. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II Edisi IV. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Anirbran Maitra dan Vinay Kumar. 2004. *Buku Ajar Patologi Edisi 7. Vol.2*. EGC; 13: 559-570
- Asih Astiti I. A. R. 2009. Isolasi dan identifikasi senyawa isoflavon dari kacang kedelai (*Glycine max*). *Jurnal kimia 3 (1)*. ISSN 1907-9850: 33-40.
- Asril Bahar dan Zulkifli Amin. Juni 1998. *Pendekatan diagnosis kanker paru*. Siang Klinik Bag. Ilmu Penyakit Dalam FKUI/ RSUPNCM. Jakarta.
- Attar Atef M. 2004. *The influence of Dietary Grapeseed Oil on DMBA-Induced Liver Enzymes Disturbance in the Frog, Rana ridibunda*. Pakistan. *Journal of Nutrition 3(5)*: 304- 309.
- Ayuningtyas, A. 2009. *Isoflavon dalam Kedelai Memberi Banyak Manfaat Bagi Tubuh*. Jatinangor
- Benepal T, Matakidou A, Zee Y, Houlston R, Eisen T. *Genetics of lung cancer: Current thinking on genetics predisposition to the disease and response to treatment*, <http://www.spingerlink.com/content/v347705642276520/fulltext.pdf>.
- Bredel, M. 2001. *Anticancer Drug Resistance in Primary Human Brain Tumors*. *Brain Res Brain Res Rev*; 35:161-204
- Buters, J., L. Quintanilla-Martine, W.Schober, V.J. Soballa, J. Hintermair, T. Wolff, F.J. Gonzales and H. Greim, 2003. *CYP1B1 determines susceptibility to low doses of 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced ovarian cancers in mice: correlation of CYP1B1-mediated DNA adduct with carcinogenicity*. *Carcinogenesis*. 24: 327-334.
- Desen, W. 2008. *Onkologi Dasar*. Jakarta : EGC
- Djojodibroto, R Darmanto. 2009. *Respirologi Medicine*. Jakarta : EGC.

- Esti dan Sediadi Agus. 2000. *Pembuatan Bubuk Kedelai Untuk Minuman*. Jakarta: Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Eroschenko, V. P., 2010. *Atlas Histologi Diflore*. Edisi 11. Jakarta: EGC.
- Gilchrist, D.G. 1998. *Programmed Cell Death in Plant Disease: The Purpose and Promise of Cellular Suicide*. Annu Rev Phytophatol; 36: 393-414
- Gotama, I. B. I. , Sugiarto, S. , Nurhadi, M. ,Widiyastuti, Y. Wahyono, S. , Prapti, I. J. *InventarisTanaman Obat Indonesia*. Jilid V. Jakarta, Departemen Kes. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 1999: 147-148.
- Gray's Anatomy. 2008. *The Anatomical Basis of Clinical Practice*. USA: Elsevier's Health Sciences Rights Department in Philadelphia.
- Gunawan, Setiabudy, Nafraldi, dan Elysaabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 5*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik, FK UI.
- Irwan. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine Max (L) Merrill)*. Jatinangor: Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran.
- Junqueira, LC dan Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Koswara, S. 2006. *Isoflavon, Senyawa Multi Manfaat Dalam Kedelai*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor
- Kumar, Cotran, Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC
- Li Y., Uphadyay, S., Bhuiyan, M., Sarkar, F. H. 1999. Induction of Apoptosis in Breast Cancer Cells MDA MB-231 by Genistein. *Oncogene*; 18: 3166-72
- Notoadmojo,S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan* . Jakarta: Rineka Cipta.
- Peterson, T. G., Kim, H., dan Barnes S.1997. *Mechanism of Action of the Soy Isoflavone Genistein at the Cellular Level*. Second International Symposium on the Role of Soybean in Preventing and Treating Chronic Diseases, September, Brussel, Belgique; 15-18.
- Pratiknya, A.W. 2003. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Pawiroharsono, Suyanto. 2008. *Prospek dan Manfaat Isoflavon pada Kesehatan, Direktorat Teknologi Bioindustri*, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.

- Price SA, Wilson LM. 2006. *Patofisiologi Proses-Proses Penyakit*. Vol 2 Edisi 6. Jakarta: EGC.
- Putz, R dan Pabst R. 2000. *Sobotta*. Jilid II Edisi 21. Jakarta: EGC
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L. 2003. Flavonoids: *Promising Anticancer Agents*, *Medicinal Research Review*; 23 (4): 519-534
- Rowlands, J. C., Ling He, Hakkak, R., Ronis, M. J. J., and Badger, T. M. 2001, *Soy and Whey Proteins Downregulate DMBA-Induced Liver and Mammary Gland CYP1 Expression in Female Rats*. *Journal of Nutrition*. 131, 3281-3287.
- Suprpto. 2001. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Susilowati, 2010. *Efek kemopreventif Ekstrak Metanol Kulit Kayu Nangka (Artocarpus Heterophylla Lmk.) Pada Karsinogenesis Kanker Payudara Tikus Betina yang Diinduksi DMBA*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Tjindarbumi, D., dan Mangunkusumo, R., 2002, *Cancerin Indonesia, Present and Future*, *Jpn. Clin. Oncol.*
- Van Houtte P et al, 2001. *Lung Cancer Clinical Oncology*. Edisi 8. Philadelphia.
- Weimer, T. L., Reddy, A.P., Harttig, U., Alexander, D., Stamm, S. C., Miller, M. R., Baird, W., Hendricks, J., and Bailey, G., 2000. *Influence of Naphthoflavone on 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene Metabolism, DNA adduction, and Tumorigenicity in Rainbow Trout*. *Toxicological Sciences*. 57, 217-228.
- Young RP, Hopkins RJ, Hay BA, Empton MJ, Mills GD, Black PN et al. *A Genebased Risk Score for Lung Cancer Susceptibility in Smokers and Ex-smokers*. *Postgrad Med J* 2009; 85: 515-24
- Zhai, S., Dai, R., Friedman, F., dan Vestal, R. 1998. Comparative Inhibition of Human Cytochromes 450 1A1 dan 1A2 by flavonoid. *Drug Metabolism and Disposition*; 26 (10): 989-999
- Zulkifli Amin. *Ketepatan Diagnosis Keganasan Paru Secara Fiberoptik Bronkospki KOPAPDI X*. Padang, Juni 1996

## LAMPIRAN

### A. Teknik Pemrosesan Jaringan Dengan Teknik Paraffin Fixed Embedded dan Teknik Pengecatan Hematoksilin Eosin (HE)

#### A.1 Teknik pemrosesan jaringan dengan teknik paraffin fixed embedded

1. Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, clearing, dan impregnasi dengan cara mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti di bawah ini sesuai dengan waktu yang ditentukan

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1	Formalin 70%	12-18 jam	Fiksasi
2	Alkohol 70%	1 jam	Dehidrasi
3	Alkohol 95%	1 jam	Dehidrasi
4	Alkohol 95%	2 jam	Dehidrasi
5	Alkohol 100%	1 jam	Dehidrasi
6	Alkohol 100%	1 jam	Dehidrasi
7	Alkohol 100%	1 jam	Dehidrasi
8	Alkohol 100%	1 jam	Dehidrasi
9	Xylol	1 jam	Clearing
10	Xylol	1 jam	Clearing
11	Xylol	2 jam	Clearing
12	Parafin (56-58°)	2 jam	Impregnasi

13	Parafin (56-58°)	2 jam	Impregnasi
14	Parafin (56-58°)	2 jam	Impregnasi

## 2. Embedding dan penyayatan jaringan dengan mikrotom

- a) Alat cetak yang berbahan logam dengan bentuk siku-siku disusun di atas permukaan kaca yang telah diolesi gliserin. Penggunaan gliserin ini untuk mempermudah pemisahan alat cetak dari blok parafin yang sudah beku.
- b) Dua tempat parafin cair, yaitu parafin sebagai bahan embedding dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur jaringan yang akan ditanam, disiapkan dengan temperatur optimum.
- c) Parafin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dengan permukaan jaringan yang menempel pada kaca dan diusahakan rata.
- d) Alat cetak dilepas bila parafin sudah cukup keras lalu blok jaringan diberi label dan siap disayat
- e) Blok parafin tadi ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempeng logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong kemudian didinginkan pada suhu kamar agar melekat erat.
- f) Pisau mikrotom dipegang pada pegangan mikrotom dan membentuk sudut 5-10°. Pisau harus selalu tajam dan permukaannya rata.
- g) Waterbath disiapkan dengan mengatur suhu air di bawah titik leleh paraffin ( $\pm 48$  °C).
- h) Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis dengan ketebalan yang dikehendaki, umumnya 4-8 mikron.
- i) Hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati dipindahkan ke dalam waterbat agar sayatan jaringan mengembang dengan baik.

- j) Sayatan diseleksi dan dipindahkan ke atas kaca obyek yang telah diolesi mayer albumin (putih telur) atau polisin sebagai bahan perekatnya dan sudah diberi label pada blok.

Sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu optimum (58-60 °C) selama 30 menit, dan sediaan siap dicat.

A. 2 Teknik pengecatan hematoksilin eosin

1. Sediaan dicelup dalam larutan xylol bak 1 selama 2 menit
2. Pindahkan dalam larutan xylol II selama 2 menit
3. Dalam alkohol absolut 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit
4. Dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1menit
5. Cuci dalam air mengalir selama 10 menit
6. Masukkan dalam larutan mayer hematoksilin selama 15 menit
7. Cuci kembali dengan air
8. Masukkan ke dalam eosin antara 15 detik sampai 2 menit
9. Masukkan dalam alkohol 95% 2 bak, bak I, dan bak II, masing-masing 1 menit
10. Dalam alkohol absolut 3 bak, bak I, bak II, bak III masing-masing 2 menit
11. Terakhir, dalam xylol bak I, bak II, dan bak III, masing-masing 2 menit
12. Mounting



B. Analisis Statistik *One way* ANOVA

Hasil uji normalitas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		nomer	jumlah undifferentiated cell
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3,00	38,2400
	Std. Deviation	1,443	10,92505
Most Extreme Differences	Absolute	,156	,078
	Positive	,156	,076
	Negative	-,156	-,078
Kolmogorov-Smirnov Z		,779	,388
Asymp. Sig. (2-tailed)		,579	,998

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Tests of Normality**

	nomer	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah undifferentiated	1	,227	5	,200*	,910	5	,468
cell	2	,206	5	,200*	,943	5	,687
	3	,237	5	,200*	,961	5	,814
	4	,164	5	,200*	,990	5	,980
	5	,218	5	,200*	,943	5	,685

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Test of Homogeneity of Variances**

jumlah undifferentiated cell

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,939	4	20	,462



## Hasil Analisis Statistik

**Descriptives**

jumlah undifferentiated cell

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	28,2000	5,54076	2,47790	21,3202	35,0798	22,00	35,00
2	5	53,8000	3,70135	1,65529	49,2042	58,3958	49,00	58,00
3	5	44,2000	3,42053	1,52971	39,9529	48,4471	40,00	49,00
4	5	37,4000	4,03733	1,80555	32,3870	42,4130	32,00	43,00
5	5	27,6000	5,31977	2,37908	20,9946	34,2054	21,00	34,00
Total	25	38,2400	10,92505	2,18501	33,7304	42,7496	21,00	58,00

**ANOVA**

jumlah undifferentiated cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2461,760	4	615,440	30,558	,000
Within Groups	402,800	20	20,140		
Total	2864,560	24			

## Pos Hoc Test

**Multiple Comparisons**

jumlah undifferentiated cell

Tukey HSD

(I) nomer	(J) nomer	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-25,60000*	2,83831	,000	-34,0933	-17,1067
	3	-16,00000*	2,83831	,000	-24,4933	-7,5067
	4	-9,20000*	2,83831	,030	-17,6933	-,7067
	5	,60000	2,83831	1,000	-7,8933	9,0933
2	1	25,60000*	2,83831	,000	17,1067	34,0933
	3	9,60000*	2,83831	,022	1,1067	18,0933
	4	16,40000*	2,83831	,000	7,9067	24,8933
	5	26,20000*	2,83831	,000	17,7067	34,6933
3	1	16,00000*	2,83831	,000	7,5067	24,4933
	2	-9,60000*	2,83831	,022	-18,0933	-1,1067
	4	6,80000	2,83831	,157	-1,6933	15,2933
	5	16,60000*	2,83831	,000	8,1067	25,0933
4	1	9,20000*	2,83831	,030	,7067	17,6933
	2	-16,40000*	2,83831	,000	-24,8933	-7,9067
	3	-6,80000	2,83831	,157	-15,2933	1,6933
	5	9,80000*	2,83831	,019	1,3067	18,2933
5	1	-,60000	2,83831	1,000	-9,0933	7,8933
	2	-26,20000*	2,83831	,000	-34,6933	-17,7067
	3	-16,60000*	2,83831	,000	-25,0933	-8,1067
	4	-9,80000*	2,83831	,019	-18,2933	-1,3067

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### C. Hasil Foto Penelitian



Gambar 1. Pembuatan sari kedelai



Gambar 2. Pemberian pur dan minuman



Gambar 3. Pemberian sari kedelai melalui sonde



Gambar 4. Tikus putih strain Wistar (*Rattus Novergicus*) betina





Gambar 5. Dekaputasi untuk pengambilan jaringan paru



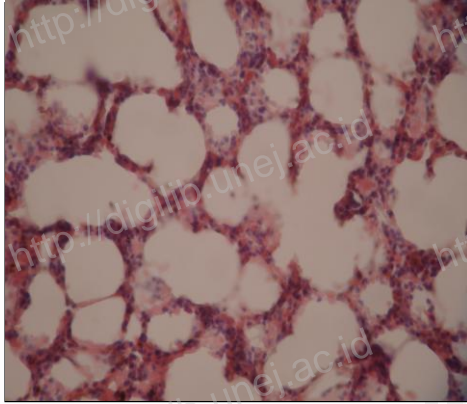
Gambar 6. Dekaputasi untuk pengambilan jaringan paru



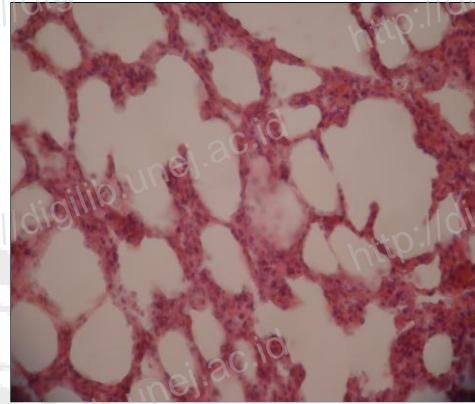
Gambar 7. Pemberian DMBA melalui sonde



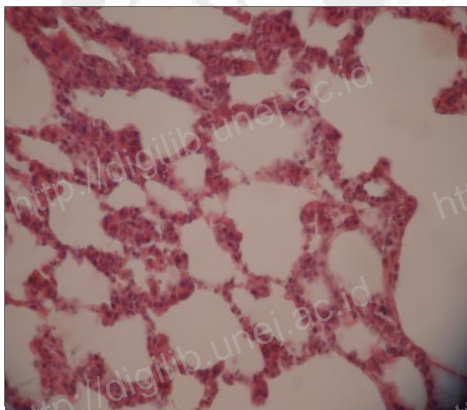
D. Hasil Gambaran Histopatologi Sel Kanker Paru pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan



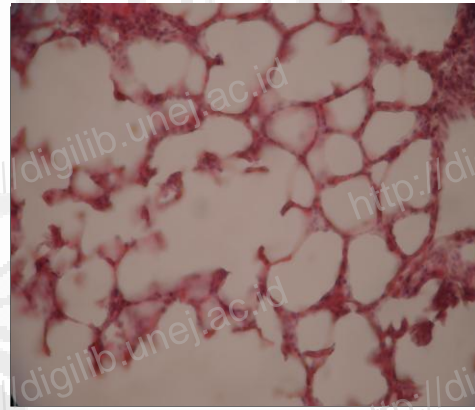
Gambar 8. Kontrol (-) 1



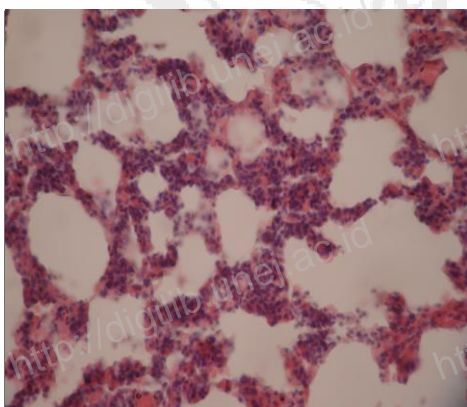
Gambar 9. Kontrol (-) 2



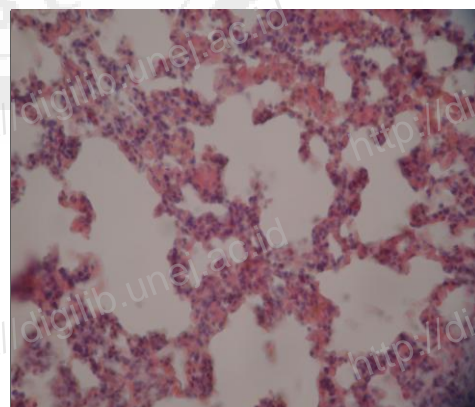
Gambar 10. Kontrol (-) 3



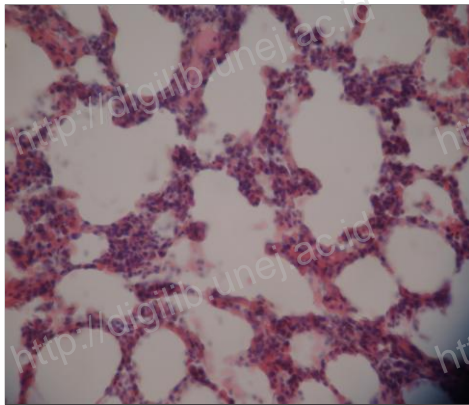
Gambar 11. Kontrol (-) 4



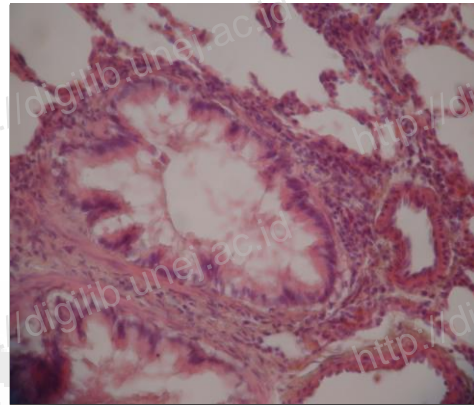
Gambar 12. Kontrol (+) 1



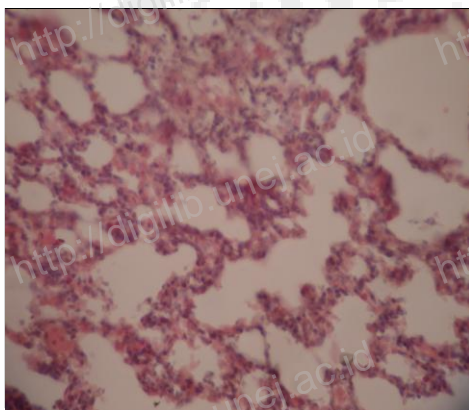
Gambar 13. Kontrol (+) 2



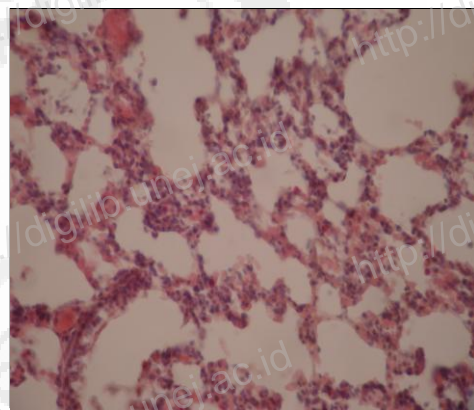
Gambar 14. Kontrol (+) 3



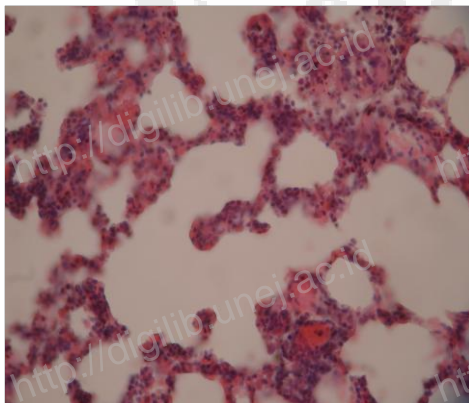
Gambar 15. Kontrol (+) 4



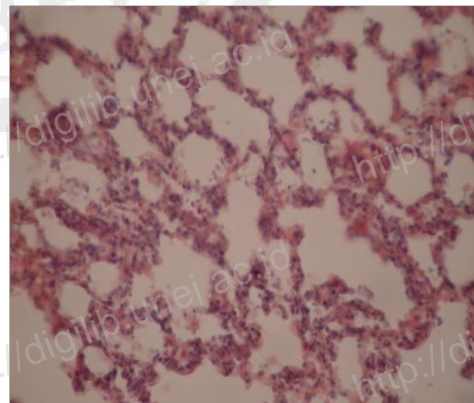
Gambar 16. Perlakuan 1 (1)



Gambar 17. Perlakuan 1 (2)

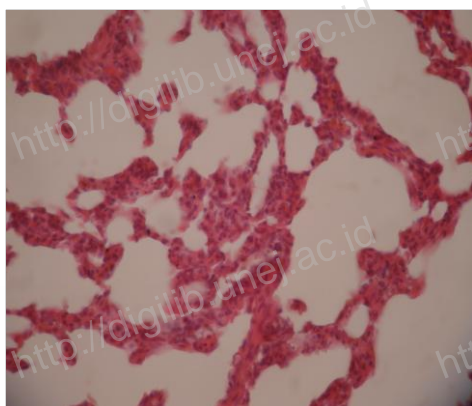


Gambar 18. Perlakuan 1 (3)

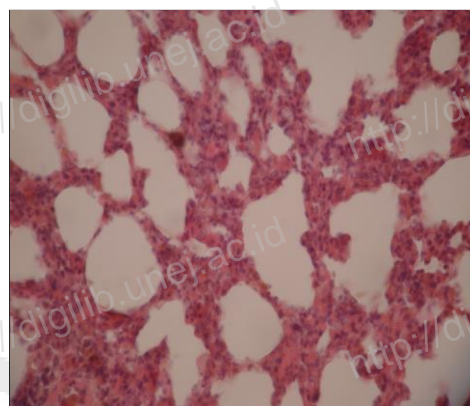


Gambar 19. Perlakuan 1 (4)

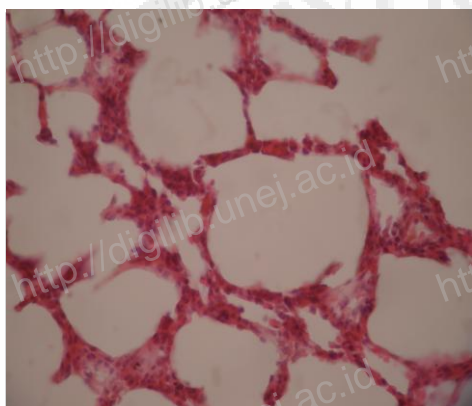




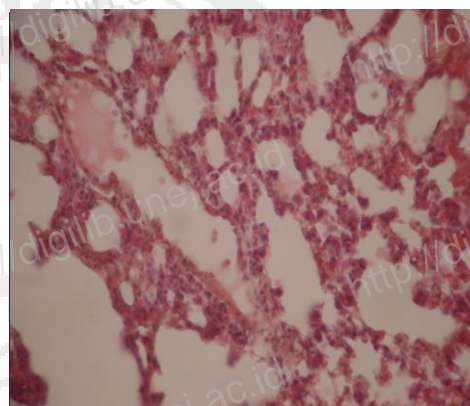
Gambar 20. Perlakuan 2 (1)



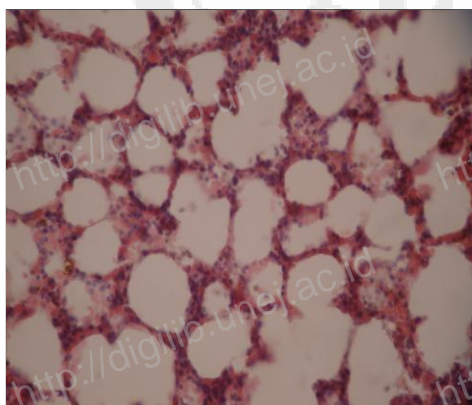
Gambar 21. Perlakuan 2 (2)



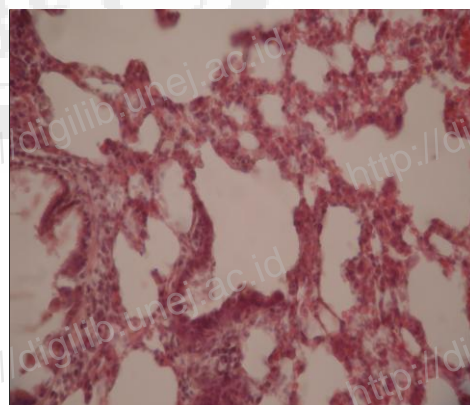
Gambar 23. Perlakuan 2 (3)



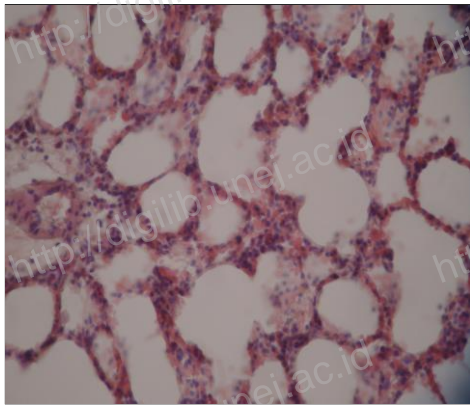
Gambar 24. Perlakuan 2 (4)



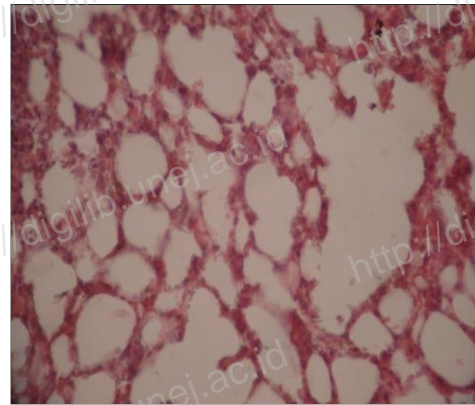
Gambar 25. Perlakuan 3 (1)



Gambar 23. Perlakuan 3 (1)



Gambar 24. Perlakuan 3 (3)



Gambar 25. Perlakuan 3 (4)



### E. Hasil Penghitungan Sel Kanker Paru Pada Masing-Masing Kelompok

#### Hasil Pengitungan Pemeriksa I

Tikus	Kelompok				
	K1	K2	P1	P2	P3
1	49	36	43	39	37
2	51	31	38	40	26
3	58	30	42	29	24
4	52	25	41	36	28
5	53	24	48	34	26

#### Hasil Penghitungan Pemeriksa 2

Tikus	Kelompok				
	K1	K2	P1	P2	P3
1	50	35	42	38	34
2	53	32	40	43	24
3	60	30	44	32	18
4	51	23	46	34	34
5	51	20	49	40	28

#### Hasil Penghitungan Pemeriksa 3

Tikus	Kelompok				
	K1	K2	P1	P2	P3
1	51	34	44	40	31
2	52	30	43	45	25
3	56	30	46	35	21
4	50	21	43	38	32
5	52	22	50	37	24

Jember,  
Mengetahui,  
Dosen pembimbing penelitian

dr. Heni Fatmawati, M.Kes  
NIP. 1976021 220050 1 2001