



**PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT  
PROLIFERASI SEL PADA KANKER HEPAR  
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI  
7,12-Dimetilbenz(*a*)antrasen  
(DMBA)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Dhea Anyssa Rachmawati  
NIM 082010101010**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2011**



**PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT  
PROLIFERASI SEL PADA KANKER HEPAR  
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI  
7,12-Dimetilbenz(a)antrasen  
(DMBA)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Dhea Anyssa Rachmawati**  
**NIM 0820101010**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2011**

## **PERSEMBAHAN**

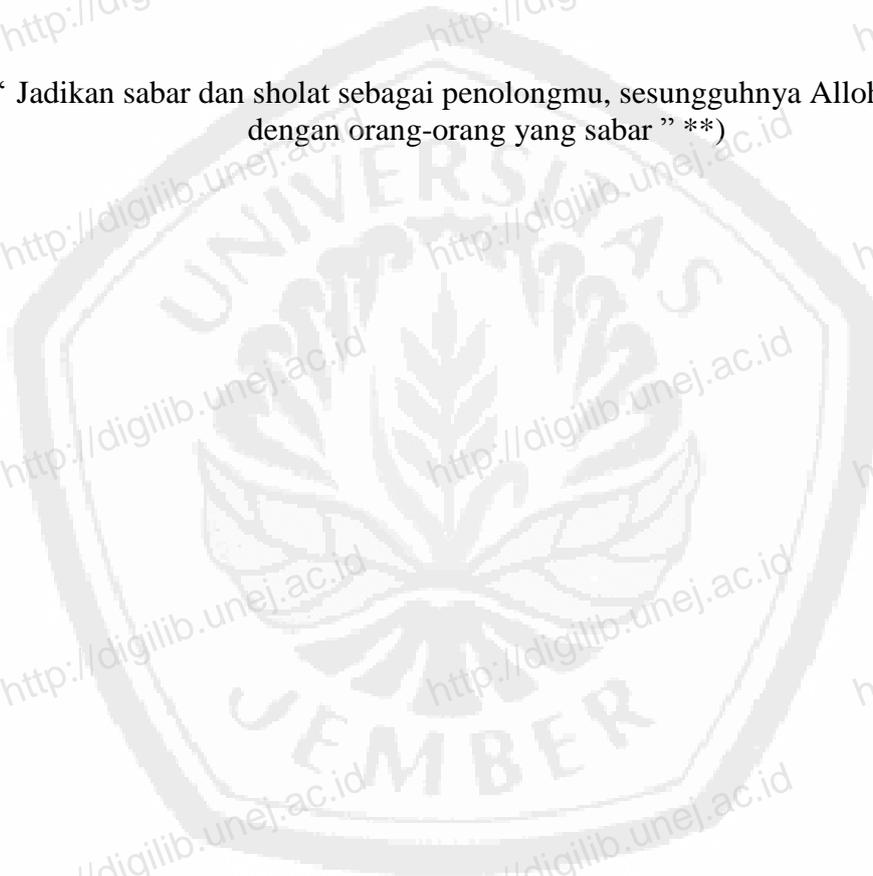
Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT, atas berkah dan rahmat-Nya sehingga saya bisa mendapatkan kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini dan telah membawa pencerahan hingga terselesaikannya skripsi ini;
2. Rasulullah Muhammad SAW, yang telah membawa pencerahan sehingga dapat sampai pada saya saat ini;
3. Ayahanda H. Sugianto dan ibunda Ir. Hj. Yogo Herlupin, atas dukungan mental maupun spiritual, dorongan, bimbingan dan kasih sayang yang tiada hentinya yang, serta jerih payah yang telah dilakukan kepada saya setiap waktu. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah motivasi terbesar saya;
4. Adik tersayang, Dheni Indra Rachmawan yang telah memberikan semangat, perhatian, pengertian, dan dukungan yang luar biasa;
5. Kekasih tersayang, Much. Nauval F. yang telah menemani, memberikan doa, dukungan dan motivasi terbaik untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
6. Sahabat-sahabat penelitianku Raras, Alfa, Faliq, Marsel, Delina, Natha, Ellen, Yuda, Rahde, Amin, Taufiq yang telah ikut berjuang keras menyelesaikan penelitian ini bersama-sama.
7. Guru-guruku tercinta, yang telah memberikan ilmu dan mendidikku dengan susah dan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
8. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## MOTTO

“ mulailah bermimpi, mimpikanlah mimpi baru dan berusaha untuk merubah mimpi itu menjadi kenyataan ” \*)

“ Jadikan sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Alloh beserta dengan orang-orang yang sabar ” \*\*)



---

\*) soichiro honda

\*\*) QS. Al Baqarah: 152

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Dhea Anyssa Rachmawati

NIM : 082010101010

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Hepar Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antracen (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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Juni 2012

Yang menyatakan,

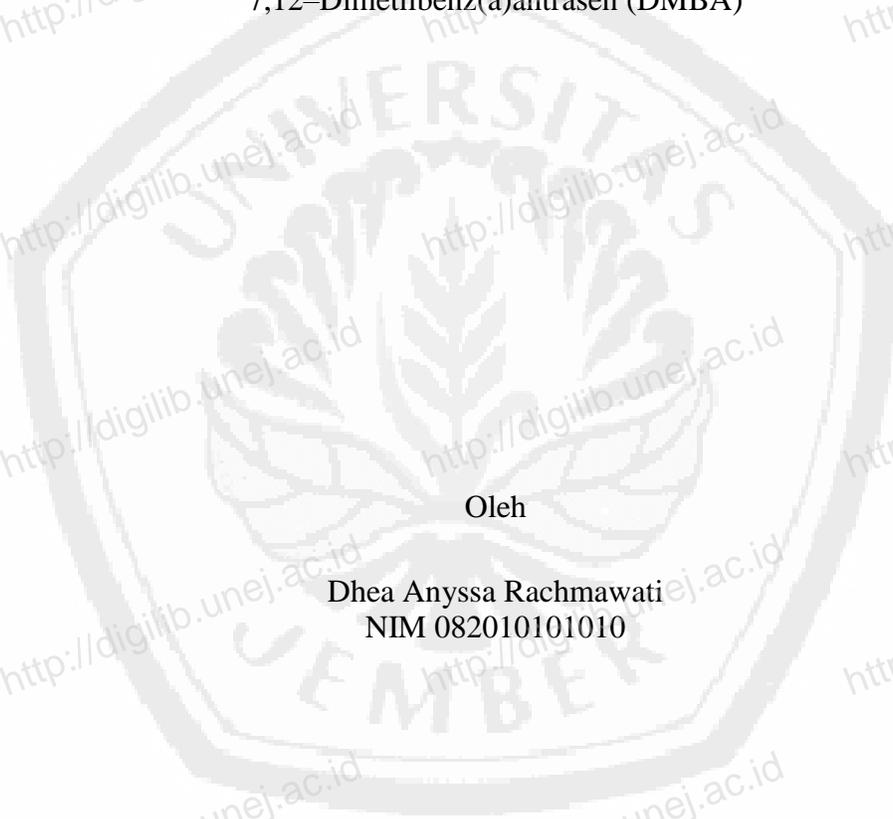
Dhea Anyssa

Rachmawati

NIM 082010101010

**SKRIPSI**

**PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT PROLIFERASI SEL  
PADA KANKER HEPAR TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI  
7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)**



Oleh

Dhea Anyssa Rachmawati  
NIM 082010101010

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Nindya Shinta Rumastika, M.Ked

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Hepar Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 19 Juni 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Penguji I

dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc  
NIP. 198002182005011001

Penguji III

Penguji II

dr. Sugiyanta, M.Ked  
NIP. 197902072005011001

Penguji IV

dr.Nindya Shinta R., M.Ked  
NIP. 197808312005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr.Enny Suswati, M.Kes  
NIP. 19700214199903200

## RINGKASAN

**Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Hepar Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA);**  
Dhea Anyssa Rachmawati, 082010101010; 2012: halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kanker merupakan salah satu jenis penyakit ganas yang telah ada di sekitar kita. Selama ini penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang sangat ditakuti oleh sebagian besar masyarakat dunia. Upaya-upaya pencegahan untuk penyakit kanker sudah dilakukan oleh sebagian masyarakat untuk terapi kanker seperti dengan pembedahan, radiasi, maupun kemoterapi. Penemuan suatu agen pencegah kanker yang berasal dari alam kian diminati oleh masyarakat karena bahan alam tidak berbahaya bagi tubuh mengingat terapi kanker yang ada selama ini memiliki efek samping yang sangat berbahaya terhadap tubuh kita. Untuk itu diperlukan suatu usaha dalam rangka menggali potensi alam sebagai agen preventif. Salah satu tanaman yang dipercaya dapat mencegah sekaligus menghambat proliferasi dari sel kanker adalah kedelai.

Kedelai merupakan salah satu sumber protein nabati utama bagi masyarakat Indonesia yang mengandung berbagai macam gizi yang diperlukan oleh tubuh. Kedelai juga mengandung suatu isoflavon yaitu suatu senyawa fitoestrogen yang memiliki aktivitas sebagai agen preventif. Tingginya kandungan isoflavon dalam kedelai dapat menjadi dasar pemanfaatan sari kedelai sebagai pencegah kanker hepar. Penghambatan sel kanker oleh isoflavon dicapai melalui mekanisme perbaikan regulasi siklus sel yang menyebabkan proliferasi gen abnormal menurun. Secara *in vitro*, sari kedelai terbukti dapat menghambat proses karsinogenesis (Pawiharsono, 2008). Berdasarkan hal tersebut, kedelai berpotensi sebagai agen preventif baru termasuk untuk kanker hepar, maka dilakukan penelitian ilmiah lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap gambaran proliferasi sel pada kanker hepar tikus wistar yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA).

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Pratiknya, 2003) dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *simple random sampling* dengan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol negatif (pemberian pur dan aquadest) dan kontrol positif (pemberian DMBA) serta 3 kelompok perlakuan, yaitu P<sub>1</sub> (pemberian DMBA dan sari kedelai dosis 5mg/hari), P<sub>2</sub> (Pemberian DMBA dan sari kedelai dosis 10 mg/hari), dan P<sub>3</sub> (Pemberian DMBA dan sari kedelai dosis 20 mg/hari).

Setiap kelompok perlakuan dilakukan pemeriksaan histopatologi menggunakan pewarnaan imunohistokimia dengan metode PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Hasil dari pemeriksaan didapatkan rerata gambaran proliferasi sel hepar tikus masing-masing kelompok adalah K<sub>(-)</sub> = 23,00, K<sub>(+)</sub> = 49,00 P<sub>1</sub> = 39,20, P<sub>2</sub> = 32,40, P<sub>3</sub> = 26,20. Terdapat penurunan proliferasi sel pada kelompok P<sub>3</sub> seiring dengan dosis pemberian sari kedelai yang tertinggi. Analisis data menggunakan *one way ANOVA* dan diperoleh perbedaan rerata proliferasi sel pada kanker hepar pada 5 kelompok, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan dengan analisis *Post Hoc* menggunakan tes Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan proliferasi.

Pada uji *Post Hoc* didapatkan nilai signifikansi yang tidak bermakna antara K<sub>(-)</sub> dan P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, antara P<sub>1</sub> dan K<sub>(+)</sub>, P<sub>2</sub>, serta antara P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>. Hasil tersebut menunjukkan bahwa gambaran proliferasi sel pada kanker hepar memiliki persamaan gambaran proliferasi. Dari hasil tersebut disimpulkan bahwa kelompok P<sub>1</sub> sudah mampu menurunkan proliferasi, namun dosis 5 mg/hari belum dapat digunakan sebagai dosis yang dapat menurunkan angka proliferasi secara optimal. Hasil uji *Post Hoc* kelompok P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub> sudah memiliki gambaran proliferasi yang sama dengan kontrol negatif. Dari hasil rerata jumlah penurunan proliferasi sel, P<sub>3</sub> (20 mg/hari) merupakan dosis yang mampu menurunkan angka proliferasi sel yang optimal.

## PRAKATA

Alhamdulillah robbil alamin, segala puji bagi Allah SWT pemilik alam semesta, pemangku langit dan bumi, pengatur seluruh makhluk, yang memberikan anugerah betapa indah hidup dengan ajaran-Nya. Shalawat dan salam tercurah atas junjungan kita nabi besar Muhammad SAW.

Puji syukur atas anugerah yang tiada terkira berupa kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menuangkan sebuah karya yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Hepar Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Banyak hambatan dalam penyelesaian penulisan skripsi ini, namun berkat bantun serta dorongan dari berbagai pihak akhirnya kesulitan-kesulitan yang timbul dapat teratasi. Untuk itu penulis ingin mengucapkan 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. Nindya Shinta Rumastika, M.Ked selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc dan dr. Sugiyanta, M.Ked sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ayahanda H. Sugianto dan ibunda Ir. Hj. Yogo Herlupin tercinta atas dukungan moril, materi, do'a, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus;

6. Adikku tercinta, Dheni Indra R., Mbah Uti Sri Moetini, serta segenap keluarga besar yang selalu ceria dan memberikan motivasi, dukungan, bimbingan serta kasih sayang untukku;
7. Rekan penelitianku, Delina, Marsel, Ellen, Yudha, Raras, Natha, Alfa, Faliq, Taufiq, Amin, dan Rahde yang telah telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat;
8. Kekasihku, Much. Nauval yang selalu ada untukku. Terimakasih atas motivasi dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini;
9. Teman-teman angkatan 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
10. Guru-guru di TK Wijaya Tulungagung, SDN Kampung Dalem 1 Tulungagung, SMPN 2 Tulungagung, SMAN 1 Boyolangu, serta dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember, yang telah memberikan ilmu dan membuat penulis mencintai ilmu pengetahuan;
11. Analis Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Jember, Mas Agus, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
12. 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, 19 Juni 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<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> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penulisan</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Hepar</b> .....	4
2.1.1 Lokasi dan Deskripsi Anatomi .....	4
2.1.2 Vaskularisasi dan Inervasi Hepar .....	9
2.1.3 Histologi Hepar.....	10
2.1.4 Fisiologi Hepar .....	12
<b>2.2 Kanker Hepar</b> .....	12
2.2.1 Epidemiologi.....	12
2.2.2 Etiopatologi.....	15

2.2.3	Klasifikasi dan Karakteristik .....	19
2.2.4	Standar Diagnosis .....	20
2.2.5	Prinsip Terapi.....	16
2.2.6	Prognosis .....	25
<b>2.3</b>	<b>Proliferasi Sel .....</b>	<b>26</b>
<b>2.4</b>	<b>DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen).....</b>	<b>28</b>
<b>2.5</b>	<b>Kedelai .....</b>	<b>29</b>
2.5.1	Deskripsi Kedelai.....	29
2.5.2	Kandungan dan Manfaat Kedelai pada Kanker Hepar .	31
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konseptual .....</b>	<b>35</b>
<b>2.7</b>	<b>Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>36</b>
<b>3.3</b>	<b>Besar Sampel.....</b>	<b>38</b>
<b>3.4</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>39</b>
3.4.1	Tempat Penelitian .....	39
3.4.2	Waktu Penelitian.....	39
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>39</b>
3.5.1	Variabel Bebas.....	39
3.5.2	Variabel Terikat .....	39
3.5.3	Variabel Terkendali .....	39
<b>3.6</b>	<b>Definisi Operasional Variabel .....</b>	<b>39</b>
<b>3.7</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>40</b>
3.7.1	Alat Penelitian .....	40
3.7.2	Bahan Perlakuan .....	40
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>41</b>
3.8.1	Perlakuan Hewan Coba.....	41
3.8.2	Pengambilan dan Penyimpanan Jaringan Hepar.....	42
3.8.3	Pembuatan Sediaan Histopatologi Jaringan Hepar.....	42
3.8.4	Pengamatan Sediaan Histopatologi Jaringan Hepar .....	43

<b>3.9 Analisis Data Penelitian</b> .....	43
<b>3.10 Alur Penelitian</b> .....	44
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	45
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	45
4.1.1 Data Hasil Penelitian .....	45
4.1.2 Hasil Uji Analisis.....	49
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	53
4.2.1 Pengaruh Sari Kedelai Terhadap proliferasi Sel pada Kanker Hepar.....	55
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	56
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	56
<b>5.2 Saran</b> .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	57
<b>LAMPIRAN</b> .....	60

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Angka Insidens Kanker Hepar per 100.000 Penduduk Berdasarkan Jenis Kelamin serta Wilayah Geografis.....	14
2.2 Karakteristik Klinis dan PtologiK Karsinoma Hepatoselular dan Karsinoma Kolangioselular .....	20
2.3 Ilustrasi Komponen Kimia Kedelai .....	31
2.4 Komposisi Karbohidrat Kedelai (per 100 g) .....	31
2.5 Komposisi Asam Amino Esensial Protein Kedelai .....	32
2.6 Komposisi Mineral dan Vitamin Kedelai (per 100 g) .....	32
3.1 Kelompok Perlakuan dalam penelitian.....	41
4.1 Rerata Jumlah Gambaran Proliferasi Sel Hepar pada Tiap Kelompok ..	45
4.2 Hasil Uji Normalitas .....	49
4.3 Hasil Uji Homogenitas .....	49
4.4 Hasil Data <i>One Way</i> ANOVA.....	50
4.5 Hasil Uji Lanjutan.....	44

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Hepar dilihat dari ventral.....	7
2.2 Hepar dilihat dari superior.....	7
2.3 Hepar dilihat dari dorsal.....	8
2.4 Segmen hepar dilihat dari ventral.....	8
2.5 Segmen hepar dilihat dari dorsal.....	9
2.6 Histologi hepar.....	11
2.7 Kerangka Konseptual.....	35
3.1 Skema rancangan penelitian.....	37
3.2 Skema alur penelitian.....	44
4.1 Diagram rerata gambaran proliferasi sel hepar pada tiap kelompok.....	46
4.2 Gambaran histopatologi kanker hepar dengan pewarnaan HE.....	47
4.2 Gambaran proliferasi sel hepar dengan metode PCNA.....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Skema pengecatan spesimen.....	60
B. Tampilan hasil analisis.....	61
C. Penghitungan Tiap Lapang Pandang.....	63



## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker hepar adalah tumor ganas (maligna) , baik dalam jaringan itu sendiri (*primary liver cancer*) atau *secondary liver cancer* ( dapat menyebar ke bagian tubuh yang lain) yang dapat menyebabkan kematian. Kanker hepar menduduki posisi insiden tersering ke lima di seluruh dunia dan posisi ketiga yang paling sering menyebabkan kematian, dengan 500.000 kasus baru yang ditemukan setiap tahunnya. Data dari pusat kanker internasional tahun 2000 penderita kanker hepar di seluruh dunia berjumlah sekitar 564 ribu jiwa, meninggal 549 ribu jiwa. Insiden kanker hepar memiliki karakteristik distribusi geografis yang menonjol, insidennya relatif tinggi di wilayah Asia Tenggara, Pasifik Barat dan Afrika Tenggara, sedangkan relatif rendah di Amerika, Eropa, dan Oseania. Terjadi peningkatan dari 5,5/100.000 dari seluruh populasi di Amerika dan Eropa menjadi 14,9/100.000 di Asia dan Afrika. Negara dan wilayah dengan insiden kanker hepar tinggi adalah Mozambik, Uganda, Afrika Selatan di benua Afrika, sedangkan negara di Asia dengan insiden kanker hepar tinggi adalah Malaysia, Indonesia, Singapura, Hongkong, Thailand, Filipina, China, Jepang (Desen, 2008).

Rata-rata usia kejadian penyakit adalah 43,7 tahun. Mortalitas sebelum usia 30 tahun relatif rendah, mortalitas setelah usia 30 tahun meningkat tajam, mortalitas kelompok usia 30-44 tahun menduduki urutan teratas dari mortalitas akibat semua tumor ganas. Pria lebih banyak daripada wanita, rasio kelamin mortalitas adalah 2,59. Pasien dengan sirosis memiliki faktor resiko lebih tinggi daripada pasien non-sirosis dengan insidensi 2-6,6% dan 0,4%. 380 juta jiwa terinfeksi dengan Hepatitis B dan 170 juta jiwa dengan Hepatitis C (Desen, 2008; Lamerz, 2007).

Kanker hepar adalah tumor hati ganas yang paling sering ditemukan. Tumor ini berasal dari sel-sel hepar dan biasanya timbul pada hepar yang yang sirotik (Sander, 2004). Salah satu mekanisme penyebab terjadinya

kanker hepar adalah proliferasi sel yang tidak terkontrol, di samping berkurangnya apoptosis. Proliferasi sel adalah pembelahan sel (*cell division*) dan pertumbuhan sel (*cell growth*). Jumlah sel pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif, antara masuknya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi. Masuknya sel baru ke dalam populasi jaringan ditentukan oleh kecepatan proliferasinya. Mekanisme yang mendasari proliferasi sel adalah mekanisme siklus sel. Proliferasi sel distimulasi oleh faktor pertumbuhan intrinsik, jejas, kematian dan kerusakan sel, mediator biokimiawi dari lingkungan. Kelebihan stimulus atau kekurangan inhibitor akan menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol atau terjadinya kanker. Dalam pengaturan populasi sel atau homeostasis jaringan terdapat pengaturan yang disebut *Cells cycle checkpoints* berfungsi menahan siklus sel bila terjadi kerusakan DNA supaya tidak terjadi replikasi. Gangguan dari fungsi *checkpoint* akan mengakibatkan mutasi yang dapat menginduksi karsinogenesis (Sukardja, 2000).

Upaya-upaya pencegahan untuk penyakit kanker sudah dilakukan oleh sebagian masyarakat untuk terapi kanker seperti dengan pembedahan, radiasi, maupun kemoterapi. Penemuan suatu agen pencegah kanker yang berasal dari alam kian diminati oleh masyarakat karena bahan alam tidak berbahaya bagi tubuh mengingat terapi kanker yang ada selama ini memiliki efek samping yang sangat berbahaya terhadap tubuh kita. Untuk itu diperlukan suatu usaha dalam rangka menggali potensi alam sebagai agen preventif. Salah satu tanaman yang dipercaya dapat mencegah sekaligus menghambat proliferasi dari sel kanker adalah kedelai. Beberapa penelitian yang dilakukan baik studi klinis maupun epidemiologis selama 35 tahun terakhir ini, menunjukkan pentingnya kedelai untuk kesehatan dan pencegahan berbagai macam penyakit. Serat yang terkandung dalam kedelai telah diketahui dapat memperbaiki toleransi terhadap glukosa dan respon insulin pada pasien diabetes. Selain itu, kedelai juga memberikan pengaruh positif terhadap penyakit osteoporosis dan penyakit ginjal. Protein kedelai memiliki beberapa kelebihan dibandingkan protein hewani, di antaranya kandungan asam lemak

jenuhnya yang rendah dan sifat hipokloesterolemik di mana kedelai mempengaruhi konsentrasi lipid dan lipoprotein plasma, yaitu menurunkan sekitar 10% konsentrasi LDL (*Low-density lipoprotein*) dan sedikit meningkatkan konsentrasi HDL (*High-density lipoprotein*). US-FDA telah menyimpulkan bahwa konsumsi 25 gr protein kedelai per hari, dapat mengurangi resiko timbulnya penyakit jantung koroner (Anderson *et al*, 1995). Hasil penelitian menyebutkan bahwa konsumsi isoflavon kedelai dapat mengurangi frekuensi dan intensitas *hot flashes* pada wanita menopause. Salah satu fakta studi epidemiologis menyebutkan bahwa negara-negara di Asia memiliki insidensi kanker payudara dan kanker prostat 10 kali lebih rendah daripada negara-negara di Amerika. Jumlah kematian penduduk Jepang karena kanker payudara hanya seperempat dari jumlah kematian akibat kanker payudara di Amerika, karena konsumsi kedelai di Asia lebih tinggi daripada di Amerika. (Elkins, 2000). National Cancer Institute mengklasifikasikan lima komposisi kimia dalam kedelai yang bersifat anti-karsinogenik, yaitu *phytosterols*, *phytates*, *saponin*, *inhibitor protease* dan *isoflavone*. Di dalam kedelai juga terkandung phenolic-acid, yang juga memiliki aktivitas anti-kanker. Dari semua komposisi tersebut, isoflavone paling banyak mendapat perhatian dari beberapa ilmuwan karena aktivitas *anticarcinogenicnya*. Dalam isoflavone terkandung *genistein* dan *daidzein*. National Cancer Institute menyimpulkan bahwa kedelai maupun produk olahan kedelai mengambil bagian yang penting dalam usaha prevensi kanker (Elkins, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat peran sari kedelai sebagai agen preventif kanker, melalui penghambatan proliferasi sel maka digunakan dosis bertingkat sari kedelai yaitu 5mg/hari, 10mg/hari, dan 20mg/hari pada tikus wistar yang diinduksi (DMBA)7,12-Dimetilbenz(a)antrasen. Aktivitas proliferasi sel dinilai dengan menggunakan metode PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*). Potensi kedelai sebagai komoditi pangan utama di Indonesia setelah padi dan jagung sekaligus apresiasi yang lebih baik terhadap peranan kedelai dalam pencegahan kanker, diharapkan akan terjadi

peningkatan konsumsi kedelai secara nyata pada masyarakat. Pihak terkait diharapkan akan tergerak untuk mengembangkan kedelai sebagai bahan dasar pangan fungsional dalam rangka peningkatan status kesehatan masyarakat.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh sari kedelai terhadap aktivitas proliferasi sel pada kanker hepar tikus wistar yang diinduksi DMBA?
2. Bagaimana pengaruh pemberian sari kedelai dengan dosis bertingkat terhadap aktivitas proliferasi sel pada kanker hepar tikus wistar yang diinduksi DMBA?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui apakah sari kedelai dapat berperan sebagai antikanker melalui penghambatan proliferasi sel.
2. Mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap proliferasi sel pada kanker hepar.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut.

1. Bagi ilmu pengetahuan dan teknologi, yaitu:
  - a. Menjelaskan manfaat kedelai bagi kesehatan terutama pencegahan penyakit kanker
  - b. Sebagai dasar penelitian selanjutnya yang lebih spesifik.
2. Bagimasyarakat, yaitu:
  - a. Memberikan pengetahuan pada masyarakat tentang manfaat konsumsi kedelai sehingga frekuensi konsumsi kedelai meningkat
  - b. Memberikan dorongan kepada para petani kedelai untuk meningkatkan mutu varietas kedelai
  - c. Meningkatkan kualitas hidup masyarakat

3. Bagi peneliti, dapat menambah pengalaman di bidang penelitian terutama mengenai manfaat kedelai sebagai penghambat proliferasi sel hepar yang diharapkan akan bermanfaat bagi studi lanjutan.



## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

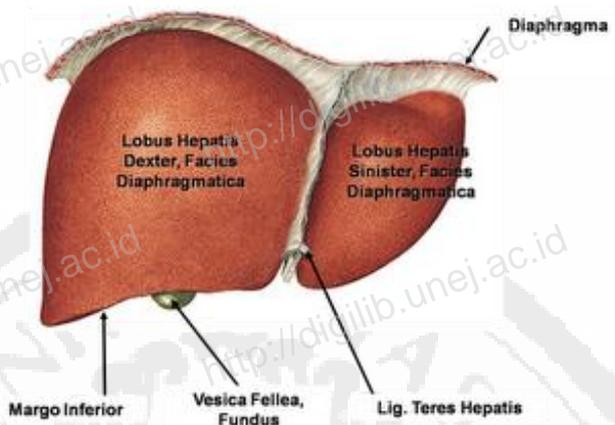
### **2.1 Hepar**

#### **2.1.1 Lokasi dan Deskripsi Anatomi**

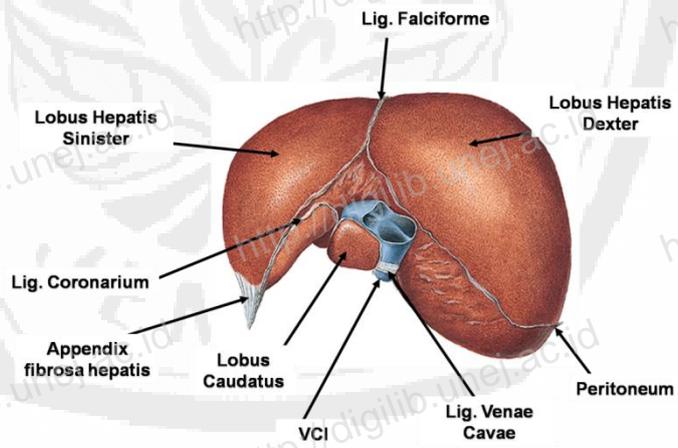
Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia dengan berat 1200-1800 gram. Hepar berstruktur lunak, lentur, dan terletak di bagian atas cavitas abdominalis tepat di bawah diafragma. Sebagian besar hepar terletak di profunda arcus costalis dextra, dan hemidiaphragma dextra memisahkan hepar dari pleura, pulmo, pericardium dan cor. Hepar terbentang ke sebelah kiri untuk mencapai hemidiaphragma sinistra. Permukaan atas hepar yang cembung melengkung di bawah kubah diafragma. Fascies visceralis atau posteroinferior membentuk cetakan visera yang letaknya berdekatan sehingga bentuknya menjadi tidak beraturan. Permukaan ini berhubungan dengan pars abdominalis oesophagus, gaster, duodenum, flexura coli dextra, ren dextra dan glandula suprarenalis dextra, serta vesica biliaris (Snell, 2006).

Hepar dapat dibagi menjadi lobus hepatis dextra yang besar dan lobus hepatis sinistra yang kecil oleh perlekatan ligamentum falsiformis. Lobus hepatis dextra terbagi lagi menjadi lobus quadratus dan lobus caudatus oleh adanya vesica biliaris, fisura ligamenti teretis, vena kava inferior dan fisura ligamenti venosi. Porta hepatis atau hilus hepatis terdapat pada fascies visceralis dan terletak di antara lobus caudatus dan lobus quadratus. Bagian atas ujung bebas omentum minus melekat pada pinggir-pinggir porta hepatis. Pada tempat ini terdapat duktus hepatica dextra dan sinistra, ramus dextra dan sinistra arteri hepatica, vena porta hepatis, serta serabut-serabut saraf simpatis dan parasimpatis. Di sini terdapat beberapa kelenjar limfe hepar. Kelenjar limfe ini menampung cairan limfe hepar dan vesica biliaris dan mengirimkan serabut eferennya ke nodi lymphoidei coeliaci. Seluruh hepar dikelilingi oleh capsula fibrosa, tetapi hanya sebagian ditutupi oleh peritoneum. Hepar tersusun atas lobuli hepatis. Vena centralis pada masing - masing lobulus bermuara ke vena hepatica. Di dalam ruangan di antara

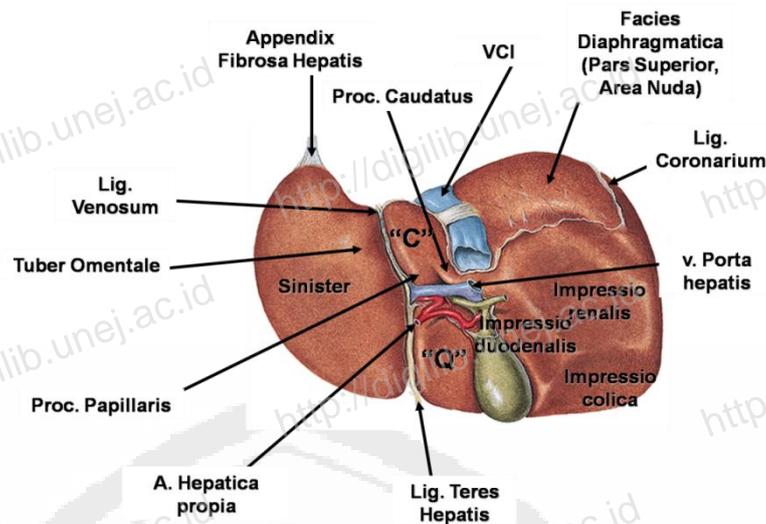
lobulus terdapat canalis hepatis yang berisi cabang-cabang arteri hepatica, vena porta hepatis, dan sebuah cabang duktus choledocus (trias hepatis). Darah arteri dan vena berjalan di anatar sel-sel hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena sentralis (Snell, 2006).



gambar 2.1 Hepar dilihat dari ventral (Pabst, & Putz, 2007).

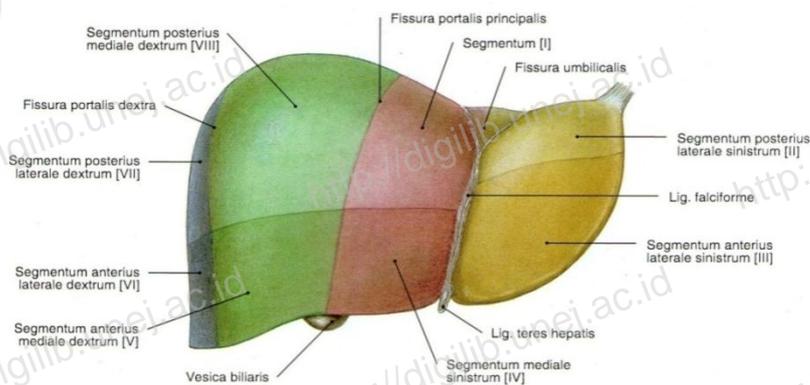


gambar 2.2 hepar dilihat dari superior (Pabst, & Putz, 2007).

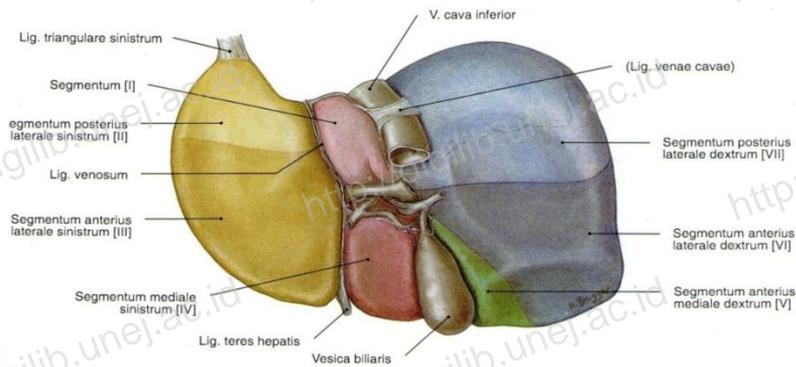


gambar 2.3 Hepar dilihat dari dorsal  
(Pabst, & Putz, 2007).

Couinaud membagi hepar atas 8 segmen. Segmen I adalah lobus kaudatus, segmen II adalah segmentum posterius lateral sinistra, segmen III adalah segmentum anterior lateral sinistra, segmen IV adalah segmentum medial sinistra, segmen V adalah segmentum anterior medial dextra, segmen VI adalah segmentum anterior laterale dextra, segmen VII adalah segmentum posterior laterale dextra, segmen VIII adalah segmentum posterior lateral dextra, bagian superior dan inferior segmen IV menjadi segmen IVa dan Ivb (Desen, 2008; Pabst, & Putz, 2007).



gambar 2.4 Segmen hepar dilihat dari ventral  
(Pabst, & Putz, 2007).



Gambar 2.5 Segmen hepar dilihat dari dorsal  
(Pabst, & Putz, 2007).

### 2.1.2 Vaskularisasi dan Inervasi Hepar

Hepar mendapat pasokan darah ganda dari arteri hepatica (30 %) dan vena porta (70 %). Arteri hepatica berisikan darah arterial yang mengandung oksigen, sedang vena porta mengangkut darah venosa yang mengandung hasil – hasil pencernaan yang diabsorpsi dari traktus gastrointestinalis. Darah arterial diangkut ke vena sentralis dari masing – masing lobulus hepatis. Vena sentralis mengalirkan darahnya ke dalam vena hepatica yang bermuara ke dalam vena inferior. Arteri hepatica (propria) adalah salah satu cabang arteri hepatica komunis yang berasal dari truncus coeliacus yang adalah salah satu cabang aorta abdominalis untuk organ traktus gastrointestinalis yang asalnya dari bagian cranial usus (Tanudjaja, 2008).

Di dekat porta hepatis arteri hepatica propria membagi diri menjadi cabang terminal kiri dan kanan yang disebut arteri hepatica sinistra dan arteri hepatica dextra. Vena porta dibentuk oleh persatuan vena mesenterica superior dan vena lienalis di posterior collum pancreatic. Pada ujung kanan porta hepatis vena porta berakhir dengan membagi diri menjadi dua buah truncus sinistra dan truncus dextra. Vena hepatica yang mengalirkan darah dari hepar dibentuk oleh persatuan vv. Centralis lobuli hepatic, lalu bermuara ke dalam vena cava inferior tepat di caudal diaphragm. Ada dua kelompok vv.hepatica yaitu kelompok superior vv. Hepatica terdiri atas hanya vena kanan dan vena kiri, tetapi biasanya ada vena tengah yang asalnya dari lobules caudatus. Kelompok inferior terdiri atas

6 – 18 venae kecil yang mengalirkan darah dari lobus hepatis dexter dan juga sebagian caudatus (Tanudjaja, 2008).

Saraf yang menuju ke hepar mengandung serabut simpatis maupun serabut – serabut parasimpatis (nervus vagus). Saraf ini mencapai hepar melalui plexus nervosus hepaticus, yang derifat terbesarnya adalah plexus coeliacus, yang juga menerima serabut – serabut halus (filament) dari nervus vagus ( N.X) sinistra, N.X dextra dan nervus phrenicus dextra (Tanudjaja, 2008).

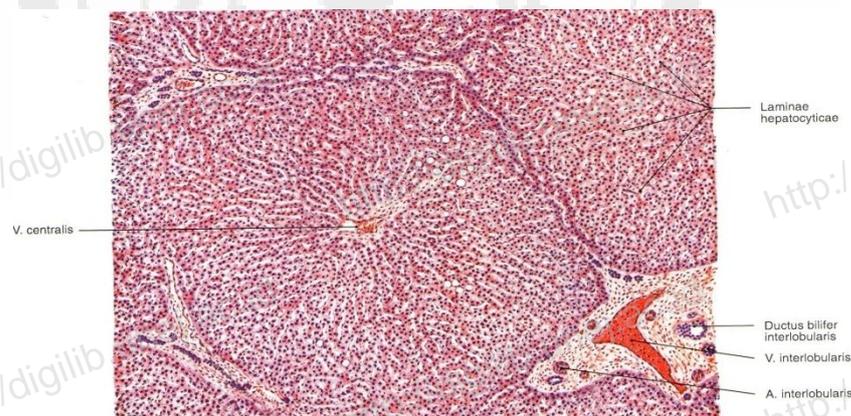
Pada hepar normal rasio oksigen arteri hepatic dan vena porta adalah 50%:50%, bila terjadi sirosis berubah menjadi 75%:25%. Pasokan darah kanker hepar sebagian terbesar dari arteri hepatic, hanya darah untuk bagian tepi berasal dari vena porta (Desen, 2008).

### 2.1.3 Histologi Hepar

Hepar terbungkus oleh sebuah lapisan mesotel serosa, yang membentuk kapsula glisson. Secara histologis, hati tersusun oleh beberapa tipe sel. Hepatosit merupakan 70% dari semua sel di hepar dan 90% dari berat hepar total. Hepatosit tersusun dalam unit-unit fungsional yang disebut asinus, atau lobulus. Setiap lobulus memiliki sebuah vena sentral (vena terminalis) dan traktus portal yang terletak di perifer. Sel duktus biliaris membentuk duktulus dalam traktus portal lobulus hepar. Duktulus dari lobulus yang berdekatan menyatu menjadi duktus yang berjalan menuju hilus hepar, dengan ukuran dan garis tengahnya secara bertahap membesar. Duktus-duktus empedu intrahepatik besar membentuk duktus empedu ekstrahepatik yang keluar dari porta hepatis. Sel vaskular, hepar memiliki perdarahan ganda. Organ ini menerima darah dari arteri melalui arteri hepatica dan darah vena melalui vena porta. Arteri hepatica dan vena porta masuk ke hepar di porta hepatic lalu bercabang menjadi pembuluh lebih halus berjalan sejajar sampai mencapai traktus. Cabang- cabang kecil vena porta dan arteri hepatica bersama-sama dengan duktus empedu terbungkus dalam suatu jaringan ikat traktus portal dan dikenal sebagai triad portal. Dari traktus portal, darah vena dan arteri masuk ke dalam sinusoid lobulus dan mengalir menuju vena terminal, yang merupakan pembuluh utama yang keluar dari lobulus. Sinusoid dilapisi oleh sel

kupffer yang membentuk suatu lapisan berpori tak kontinyu yang secara tidak sempurna memisahkan ruang darah dari sel hepar. Terdapat sebuah ruang sempit disse yang memisahkan sel kupffer dari sel-sel hepar (Sander, 2004).

Seluruh sel dalam hepar mempunyai kemampuan untuk regenerasi. Sel hepar tergolong sel yang stabil. Dalam keadaan normal sel hepar tidak mengalami replikasi, tetapi apabila hepar mengalami cedera, sel terangsang untuk replikasi. Kemampuan regeneratif ini sangat vital bagi penderita pada fase penyembuhan kerusakan hepar akibat infeksi virus, obat, atau trauma. Apabila terjadi kerusakan hepar yang menetap atau berulang, struktur asinar atau tubular normal akan hilang dan diganti oleh nodul sel hepar regeneratif yang fungsinya menjadi tidak efisien. Beberapa perubahan terjadi secara alamiah di dalam sel hepar akibat pengaruh usia. Pada fetus, hepar relatif lebih besar dibandingkan dengan keadaan tubuhnya karena hepar merupakan tempat hemopiesis terbesar, sedang pada hepar orang dewasa dapat mengalami keadaan semacam ini apabila terjadi berbagai kelainan hematologis. Hepar pada fetus mensintesis  $\alpha$ -fetoprotein, suatu protein serum fetus, yang diganti oleh albumin pada saat menjelang akhir gestasi. Sintesis  $\alpha$ -fetoprotein oleh hepar pada orang dewasa biasanya menunjukkan terdapatnya karsinoma sel hati. Pada usia lanjut hepar menjadi berkerut dan sering berwarna coklat tua akibat meningkatnya kadar lipofusin pada sel hepar (*brown atrophy*) (Sander, 2004).



gambar 2.6 Histologi hepar  
(Pabst, & Putz, 2007).

#### 2.1.4 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ utama metabolisme zat dalam tubuh manusia, hepar memiliki fungsi sintesis, sekresi, ekskresi biotransformasi, makrofag pertahanan dan berbagai fungsi penting lain. Fungsi sekresi yaitu hepatosit yang mensekresi getah empedu (500-1000 ml per hari) ke dalam saluran usus, ikut dalam siklus enterohepatik. Fungsi metabolisme di mana hepar merupakan organ utama dalam metabolisme zat karbohidrat, protein, asam amino, lemak, vitamin, hormon. Fungsi koagulasi darah di mana hepar dapat mensintesis berbagai faktor koagulasi. Biotransformasi dan detoksifikasi sel Kupffer dalam hati berefek filtrasi dan membersihkan zat asing serta memodulasi respons imun (Desen, 2008).

Hepar memiliki daya kompensasi yang sangat besar. Kerusakan yang sangat parah pada hepar baru akan timbul manifestasi gangguan fungsi hepar, seperti gangguan fungsi sekresi getah empedu, gangguan sintesis albumin dan faktor koagulasi serta gangguan fungsi detoksifikasi (Desen, 2008).

## **2.2 Kanker hepar**

### **2.2.1 Epidemiologi**

Pemahaman tentang kausa kanker dapat diperoleh melalui studi epidemiologik yang menghubungkan pengaruh lingkungan, ras (mungkin hereditas), dan budaya tertentu terhadap timbulnya neoplasma tertentu. Penyakit tertentu yang dikaitkan dengan peningkatan resiko timbulnya kanker (gangguan praneoplastik) juga memberikan petunjuk tentang patogenesis kanker. Beberapa perspektif tentang kemungkinan timbulnya bentuk tertentu suatu kanker dapat diperoleh dari data insiden dan mortalitas nasional. Diperkirakan bahwa sekitar 1,3 juta kasus kanker baru akan terjadi pada tahun 2002, dan 555.500 orang akan meninggal akibat kanker di Amerika Serikat (Lamerz, 2007).

Tingkat kematian (rasio antara mortalitas dan insidensi) kanker hepar juga sangat tinggi, di urutan kedua setelah kanker pankreas. Secara geografis, di dunia terdapat tiga kelompok wilayah tingkat kekerapan kanker hepar, yaitu tingkat kekerapan rendah (kurang dari tiga kasus); menengah (tiga hingga sepuluh kasus); dan tinggi (lebih dari sepuluh kasus per 100,000 penduduk). Tingkat kekerapan tertinggi tercatat di Asia Timur dan Tenggara serta di Afrika Tengah,

sedangkan yang terendah di eropa Utara; Amerika tengah; Australia dan Selandia Baru (Tabel 2.1) (Sudoyo, *et al.*, 2007).

Kanker hepar menempati urutan kelima sebagai penyakit kanker tersering di Indonesia, setelah kanker cervix, payudara, kulit dan nasofaring. Angka mortalitas penderita kanker hepar di Indonesia mencapai lebih dari satu juta orang. Dari pengamatan di berbagai rumah sakit di Indonesia pasien kanker hepar pada fase lanjut meninggal rata-rata 2 – 6 bulan sejak diagnosa ditegakkan. Dari kajian epidemiologi dan biologi molekuler di Indonesia sudah terbukti bahwa penyakit ini berhubungan erat dengan sirosis hati, hepatitis virus B aktif, hepatitis B carier dan pada penderita hepatitis virus C. Dari 483 kasus ternyata 367 orang (76%) berhubungan erat dengan ketiga penyakit ini. Indonesia dikelompokkan sebagai daerah endemi sedang sampai tinggi hepatitis B di dunia. Hal ini diungkapkan oleh Achmad Sujudi yang pada waktu itu menjabat sebagai Menteri Kesehatan dalam jumpa pers *Pekan Peduli Hepatitis B* di Indonesia tahun 2003. Ada 15 - 20 juta penduduk mengidap hepatitis B dan 7 – 8 juta orang hepatitis C dan pada masa ini jumlah ini terus meningkat, berarti setiap 100 penduduk indonesia terdapat 6 – 10 orang penderita hepatitis B dan 2 – 3 orang penderita hepatitis C (Rasyid, 2006).

*Aflatoksin B1* juga memegang peranan penting sebagai penyebab kanker hepar di samping ketiga kasus di atas. Bagi Indonesia, pemeriksaan yang dilakukan beberapa tahun lalu menunjukkan pencemaran *Aflatoksin B1* cukup tinggi pada beberapa jenis makanan. Iklim Indonesia yang lembab memudahkan tumbuhnya jamur ini pada bahan makanan yang tersimpan lama. Data dari berbagai rumah sakit di Indonesia menunjukkan ada 20% kasus kanker hepar yang tidak menunjukkan keterkaitan dengan infeksi hepatitis B maupun hepatitis C, sayangnya tidak dilakukan pemeriksaan keterkaitan dengan *Aflatoksin B1*. Hanya disebutkan dugaan bahwa kasus kanker hepar itu berhubungan dengan virus lain atau karsinogen termasuk *Aflatoksin B1* (Rasyid, 2006).

Wilayah geografis	Angka insidens	
	Laki-laki	Perempuan
<b>Global</b>	14,97	5,51
<b>Afrika</b>		
Afrika Timur	14,44	6,02
Afrika Tengah	24,21	12,98
Afrika Utara	4,95	2,68
Afrika Selatan	6,16	2,07
Afrika Barat	13,51	6,16
<b>Asia</b>		
Asia Timur	35,46	12,66
Asia Tenggara	18,35	5,70
Asia Tengah Selatan	2,77	1,45
Asia Barat	5,60	2,04
<b>Kepulauan Pasifik</b>	12,98	6,38
<b>Eropa</b>		
Eropa Timur	5,80	2,55
Eropa Utara	2,61	1,39
Eropa Selatan	9,84	3,45
Eropa Barat	5,85	1,61
<b>Amerika</b>		
Karibea	7,58	4,17
Amerika Tengah	2,06	1,64
Amerika Selatan	4,80	3,68
Amerika serikat dan Kanada	4,11	1,68
<b>Australia dan Selandia Baru</b>	3,60	1,19

Tabel 2.1 Angka insidens kanker hepar per 100.000 penduduk berdasarkan jenis kelamin serta wilayah geografis

Sekitar 80% dari kasus Kanker hepar di dunia berada di negara berkembang seperti Asia Timur dan Asia Tenggara serta Afrika Tengah, yang diketahui sebagai wilayah dengan prevalensi tinggi hepatitis virus. Di negara maju dengan tingkat kekerapan kanker hepar rendah atau menengah, prevalensi infeksi VHC (Virus Hepatitis C) berkorelasi baik dengan angka kekerapan kanker hepar. Menarik untuk dipelajari hasil pengamatan berdasarkan data dari registrasi kanker dari seluruh dunia menengarai adanya kecenderungan meningkatnya kekerapan kanker hepar di banyak negara maju, sedangkan di negara berkembang

bahkan terjadi penurunan. Diduga hal ini berkaitan dengan meningkatnya seroprevalensi infeksi VHC di negara maju dan hasil upaya eliminasi faktor infeksi VHB di negara berkembang (Sudoyo, *et al.*, 2007).

Distribusi global dari kanker hepar berkaitan erat dengan prevalensi geografis dari karier kronik (VHB) dan (VHC) yang mencapai 400 juta di seluruh dunia. Secara epidemiologi, 52 % kasus kanker hepar ( 230.000 ) di dunia akibat terinfeksi kronik virus hepatitis B dan 25 % kasus ( 110.000 ) pada penderita terinfeksi kronis virus hepatitis C. Penderita dengan karier kronik hepatitis B ( HbSAg + ) berisiko 102 kali lebih tinggi daripada bukan karier kronik untuk terjadinya kanker hepar. Sedangkan penderita terinfeksi kronik hepatitis C ( Anti HCV + ) mempunyai risiko terjadi kanker hepar 17 kali lipat dibandingkan bukan pengidap. Hal ini menjadikan hepatitis virus merupakan masalah kesehatan dunia. Dengan pengelolaan yang baik pada penderita ini diharapkan dapat menurunkan insidensi kanker hepar (Hidayat, 2007). Sekitar 500 kasus baru kanker hepar per 100.000 penduduk terjadi tiap tahun dengan ratio laki-laki : perempuan 2-6 : 1. Penyakit ini timbul pada semua golongan usia, rata-rata usia kejadian penyakit adalah 43,7 tahun. Di China, mortalitas kanker hepar adalah 20,4/100.000 penduduk (pria 29,0/100.000, wanita 11,2/100.000), menempati 18,8% dari mortalitas seluruh tumor ganas, di urutan kedua hanya di bawah kanker lambung. Kawasan insiden tinggi mencakup pesisir tenggara, seperti propinsi Jiangshu, Fujian, Guangxi, Shanghai, Guangdong, Zhejiang. Mortalitas sebelum usia 30 tahun relatif rendah, setelah usia 30 tahun meningkat tajam, mortalitas kelompok usia 30-44 tahun menduduki urutan teratas dari mortalitas akibat semua tumor ganas. Rasio kelamin mortalitas adalah 2,59. (Desen, 2008)

### 2.2.2 Etiopatologi

Kanker disebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol. Kanker akan muncul bila DNA sel normal mengalami kerusakan sehingga menyebabkan mutasi genetik. Etiologi kanker hepar belum jelas, menurut data yang ada, virus hepatitis, aflatoksin dan pencemaran air minum merupakan 3 faktor utama yang

terkait dengan timbulnya kanker hepar, di samping faktor resiko usia, jenis kelamin dan adanya sirosis hati (Desen, 2008; Ryder, 2003)

a. Virus Hepatitis

Hubungan antara virus hepatitis khususnya HBV (*Hepatitis B Virus*) dan kanker hepar sudah sejak awal menjadi perhatian, banyak data klinis menunjukkan HBV dan kanker hepar berkaitan erat. Distribusi geografis epidemi HBV dan kanker hepar di seluruh dunia berdekatan, area berinsiden tinggi HBV juga berinsiden tinggi kanker hepar, seperti benua Afrika, Asia Tenggara, Jepang dan China merupakan area berinsiden sedang dan tinggi untuk HBV, insiden kanker hepar bisa mencapai 25-100/100.000. sedangkan pada daerah Eropa menunjukkan peningkatan insiden HCV dan sirosis hati menjadikan faktor predisposisi yang tinggi untuk terjadinya kanker hepar, namun morbiditas standar kanker hepar pada pria hanya 3/100.000 (Desen, 2008).

Pasien kanker hepar dengan petanda HBV serum positif secara mencolok lebih tinggi dari kelompok orang normal, angka positif HbsAg mereka mencapai 90% lebih. Karier HBV memiliki angka kejadian kanker hepar secara mencolok lebih tinggi dari kelompok orang normal. Estimasi di kalangan karier HbsAg resiko menderita kanker hepar setidaknya dibanding orang normal lebih besar 100x lipat (Desen, 2008).

HBV menimbulkan hepatitis akut dan kronis, sirosis hati, dan atas dasar itu serta dengan efek sinergis dari faktor pemicu karsinogenesis lain, pada akhirnya menimbulkan kanker hepar. Di dalam sel kanker hepar terkandung integrasi DNA HBV. Secara klinis sering ditemukan pasien kanker hepar mengalami proses timbulnya penyakit dari hepatitis akut – hepatitis kronik – sirosis hati – kanker hepar. Kejadian karsinoma hepatoseluler bersama dengan sirosis hati relatif tinggi, sekitar 80-90% lebih. Karsinoma kolangioseluler jarang sekali atau tidak disertai sirosis hati (sekitar 0-33,3%). Pasien dengan sirosis hati berpeluang menderita kanker hepar lebih tinggi dari pasien tanpa sirosis hati (Desen, 2008).

b. Aflatoksin

Aflatoksin merupakan golongan senyawa toksik (mikotoksin, toksin yang berasal dari fungi) yang dikenal mematikan dan karsinogenik bagi manusia dan hewan. Spesies penghasilnya adalah golongan fungi (jenis kapang) dari genus *Aspergillus*, terutama *A. flavus* dan *A. parasiticus* yang berasosiasi dengan produk biji-bijian berminyak atau berkarbohidrat tinggi. Kandungan aflatoksin ditemukan pada biji kacang-kacangan (kacang tanah, pistacio, atau bunga matahari), rempah-rempah (seperti ketumbar, jahe, lada, serta kunyit), dan sereal (seperti gandum, padi, sorgum, dan jagung). Aflatoksin juga dapat dijumpai pada susu yang dihasilkan hewan ternak yang memakan produk yang terinfeksi fungi tersebut. Obat juga dapat mengandung aflatoksin bila terinfeksi fungi ini. Daerah tropis merupakan tempat berkembang biak paling ideal. Aflatoksin dapat mengakibatkan penyakit dalam jangka pendek (akut), maupun jangka panjang (kronis). Keracunan akut jarang terjadi sehingga tingkat kewaspadaan masyarakat terhadap pencemaran aflatoksin pada pangan dan pakan relatif rendah (Sudoyo, *et al.*, 2007).

Toksin ini memiliki paling tidak 13 varian, yang terpenting adalah B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, dan M<sub>2</sub>. Aflatoksin B<sub>1</sub> dihasilkan oleh kedua spesies, sementara G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub> hanya dihasilkan oleh *A. parasiticus*. Aflatoksin M<sub>1</sub>, dan M<sub>2</sub> ditemukan pada susu sapi dan merupakan epoksida yang menjadi senyawa antara. Aflatoksin B<sub>1</sub>, senyawa yang paling toksik, berpotensi merangsang kanker, terutama hepar. Batas maksimum kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> dan aflatoksin total pada produk olahan jagung dan kacang tanah adalah masing-masing 20 dan 35 ppb (parts-per-billion). Pemaparan pada kadar tinggi dapat menyebabkan sirosis, kanker hepar, serta gangguan pencernaan, penyerapan bahan makanan, dan metabolisme nutrisi. Toksin ini di hepar akan direaksi menjadi epoksida yang sangat reaktif terhadap senyawa-senyawa di dalam sel. Efek karsinogenik terjadi karena basa guanin pada DNA akan diikat dan mengganggu kerja gen (Badan POM RI, 2004).

c. Pencemaran Air Minum

Hasil epidemiologi di China ditemukan bahwa pencemaran air minum dan kejadian kanker hepar berkaitan erat. Kecamatan Qidong di propinsi Jiangshu, menunjukkan peminum air kolam memiliki mortalitas kanker hepar lebih tinggi dari peminum air sumur dalam. Alga biru hijau dalam air saluran perumahan dan air kolam dianggap sebagai salah satu karsinogen utama. Hasil survei epidemiologi menunjukkan, di beberapa daerah yang memiliki insiden kanker hepar tinggi setelah dilakukan penggantian air minum dari air kolam menjadi air sumur dalam, mengubah makanan dari jagung menjadi beras, serta meningkatkan taraf hidup, mortalitas kanker hepar tampak berhenti meningkat (Desen, 2008).

d. Usia

Usia rata-rata resiko tinggi terkena kanker hepar adalah usia 66 tahun, dimana mungkin menjelaskan waktu perkembangan tumor yang lama dibawah pengaruh penyakit hepar. Tumor ini jarang menyerang seseorang dengan usia di bawah 45 tahun pada daerah yang memiliki resiko rendah infeksi HBV. Pada daerah dengan prevalensi HBV tinggi, distribusi usia seseorang dengan kanker hepar meningkat pada usia antara 45-65 tahun (Ryder, 2003).

e. Jenis Kelamin

Faktor resiko perkembangan kanker hepar lebih tinggi pada pria, hal ini dibuktikan dengan fakta bahwa pria lebih sering sebagai karier HBV daripada wanita. Faktor resiko HBV lebih tinggi daripada HCV dengan perbandingan antara pria dan wanita yaitu 1,2:1 dibandingkan dengan 1,9:1 pada HBV. Alasan untuk ini masih belum jelas (Ryder, 2003).

f. Obesitas

Suatu penelitian kohort prospektif pada lebih dari 900.000 individu di Amerika Serikat dengan masa pengamatan selama 16 tahun mendapatkan peningkatan angka mortalitas sebesar lima kali akibat kanker hepar pada kelompok individu dengan berat badan tertinggi (Indeks masa tubuh: 35-40 Kg/m<sup>2</sup>) dibandingkan dengan kelompok individu yang Indeks masa tubuhnya normal (Sudoyo, *et al.*, 2007).

g. Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) merupakan faktor resiko. Untuk penyakit hepar kronik maupun kanker hepar melalui terjadinya perlemakan hepar dan steatohepatitis non-alkoholik (NASH). Di samping itu, DM dihubungkan dengan peningkatan kadar insulin dan *insulin like growth factors* (IGFs) yang merupakan faktor promotif potensial untuk kanker. Indikasi kuatnya asosiasi DM dan kanker hepar terlihat dari banyak penelitian antara lain dilaporkan bahwa dari 115 kasus kanker hepar dan 230 pasien non kanker hepar rasio odd dari DM adalah 4,3, meskipun diakui bahwa sebagian dari kasus DM sebelumnya menderita sirosis hepatis. selain itu, ditemukan pula bahwa insidensi pasien kanker hepar pada kelompok DM dua kali lipat dibandingkan dengan insidensi kanker hepar kelompok bukan DM. DM merupakan faktor resiko kanker hepar tanpa memandang umur, jenis kelamin dan ras, dengan angka resiko 2,16 (Sudoyo, *et al.*, 2007).

### 2.2.3 Klasifikasi dan Karakteristik

Secara histologis karsinoma hepar dibagi menjadi 3 jenis, yaitu karsinoma hepatoselular, karsinoma kolangioselular dan karsinoma campuran. Tipe tumor masif: diameter > 5 cm, massa soliter atau nodul multipel yang menyatu menjadi tumor massif, jika diameter massa kanker > 10 cm disebut makromassif.

a. Karsinoma hepatoselular

Kanker sel hati di RRC menempati 95% lebih dari kanker hepar primer, berasal dari hepatosit.

b. Karsinoma kolangioselular

Di RRC menempati sekitar 3% , berasal dari epitel saluran empedu intrahepatik.

c. Karsinoma campuran

Mencakup dua komponen, yaitu karsinoma hepatoselular dan karsinoma kolangioselular.

Karsinoma hepatoselular dan karsinoma kolangioselular dalam hal kekhasan klinik maupun patologi memiliki perbedaan besar, seperti yang tampak pada tabel 2.2 (Desen, 2008).

	<b>Karsinoma hepatoselular</b>	<b>Karsinoma kolangioselular</b>
Jenis kelamin	Lebih banyak pada pria	Lebih banyak pada wanita
Latar belakang penyakit hati	Infeksi hepatitis virus, sirosis	Kolangitis, schistosomiasis hati
Konsistensi tumor	Lunak	Keras
Emboli tumor di vena porta	Sering	Jarang
Cara metastasis	Intra hepatic	Ke kelenjar limfe portal
Vaskularisasi	Umumnya kaya vaskular	Avaskular
CT dengan kontras	Isodens atau hipodens	Sangat hipodens
Petanda tumor	AFP	CEA, CA 19-9
Disertai sirosis	Sering, berat	Jarang, ringan
Kemoterapi embolisasi	Dapat efektif	Tidak efektif

Tabel 2.2 karakteristik klinis dan patologi karsinoma hepatoselular dan karsinoma kolangioselular (Desen, 2008).

#### 2.2.4 Standar Diagnosis

Pada tahun 2001 Komite Khusus Kanker hepar Asosiasi anti tumor China telah menetapkan standar diagnosis dan klasifikasi stadium klinis kanker hepar (Desen, 2008).

##### a. Standar Diagnosis Klinis

1. AFP  $\geq$  400  $\mu$ g/L, dapat menyingkirkan kehamilan, tumor embrional sistem reproduksi, penyakit hati aktif, kanker hepar metastatik, selain itu teraba hati membesar, keras dan bermassa nodular besar atau pemeriksaan pencitraan menunjukkan lesi penempat ruang karakteristik kanker hepar.
2. AFP < 400  $\mu$ g/L, dapat menyingkirkan kehamilan, tumor embrional sistem reproduksi, penyakit hati aktif, kanker hepar metastatik, selain itu terdapat dua jenis pemeriksaan pencitraan menunjukkan lesi penempat ruang karakteristik kanker hepar atau terdapat dua petanda kanker hepar positif serta satu pemeriksaan pencitraan menunjukkan lesi penempat ruang karakteristik kanker hepar.

3. Menunjukkan manifestasi klinis kanker hepar dan terdapat kepastian lesi metastatik ekstrahepatik (termasuk asites hemoragik makroskopis atau di dalamnya ditemukan sel ganas) serta dapat menyingkirkan kanker hepar metastatik.

b. Standar Klasifikasi Stadium Klinis Kanker hepar

1. Ia : tumor tunggal berdiameter  $\leq 3$  cm, tanpa emboli tumor, tanpa metastasis kalenjar limfe peritoneal ataupun jauh.
2. Ib : tumor tunggal atau dua tumor dengan diameter gabungan  $\leq 5$  cm, di separuh hati, tanpa emboli tumor, tanpa metastasis kalenjar limfe peritoneal ataupun jauh.
3. IIa : tumor tunggal atau dua tumor dengan diameter gabungan  $\leq 10$  cm, di separuh hati, atau dua tumor dengan diameter gabungan  $\leq 5$  cm, di kedua belahan hati kiri dan kanan, tanpa emboli tumor, tanpa metastasis kalenjar limfe peritoneal ataupun jauh.
4. IIb : tumor tunggal atau multipel dengan diameter gabungan  $> 10$  cm, di separuh hati, atau tumor multipel dengan diameter gabungan  $> 5$  cm, di kedua belahan hati kiri dan kanan, tanpa emboli tumor, tanpa metastasis kalenjar limfe peritoneal ataupun jauh. Terdapat emboli tumor di percabangan vena portal, vena hepatic atau saluran empedu.
5. IIIa : tidak peduli kondisi tumor, terdapat emboli tumor di pembuluh utama vena porta atau vena kava inferior, metastasis kalenjar limfe peritoneal atau jauh.
6. IIIb : tidak peduli kondisi tumor, tidak peduli emboli tumor, metastasis.

#### 2.2.5 Prinsip Terapi

Tiga prinsip penting dalam terapi kanker hepar adalah terapi dini efektif, terapi gabungan, dan terapi berulang. Semakin dini diterapi, semakin baik hasil terapi terhadap tumor. Terapi efektif menuntut sedapat mungkin memilih cara terapi terbaik sebagai terapi lini pertama. Dewasa ini reseksi bedah terbaik pun belum dapat mencapai hasil yang memuaskan, berbagai metode terapi kanker

hepar memiliki kelebihan masing-masing, harus digunakan secara fleksibel sesuai kondisi pasien, semaksimal mungkin membasmi dan mengendalikan tumor, tapi juga semaksimal mungkin mempertahankan fisik, memperpanjang *survival*. Terapi satu kali terhadap kanker hepar sering kali tidak mencapai hasil ideal, seringkali diperlukan terapi ulangan sampai berkali-kali. Misalnya dilakukan reseksi ulangan pada rekurensi pasca operasi (Desen, 2008).

a. Metode Hepatektomi

Hepatektomi merupakan cara terapi dengan hasil terbaik saat ini. *Five years survival rate* pasca operasi sekitar 30-40%, pada mikrokarsinoma hati ( $\leq 5$  cm) dapat mencapai 50-60%. Hepatektomi terdiri atas hepatektomi beraturan dan hepatektomi tidak beraturan. Hepatektomi beraturan adalah sebelum insisi hepar dilakukan diseksi, memutus aliran darah ke lobus hepar (segmen hepar) terkait, kemudian menurut lingkup anatomis lobus hepar dilakukan reseksi jaringan hepar. Sedang hepatektomi tidak beraturan tidak perlu mengikuti secara ketat distribusi pembuluh dalam hepar, tapi hanya perlu berjarak 2-3 cm dari tepi tumor, mereksesjaringan hati dan percabangan pembuluh darah dan saluran empedu yang menuju lesi, lingkup reseksi hanya mencakup tumor dan jaringan hepar di sekitarnya. Metode reseksi ini sesuai untuk kanker hepar disertai sirosis hati. Kunci dari hepatektomi adalah mengontrol perdarahan. Pada kasus dengan sirosis hati, obstruksi porta hepar setiap kali tidak boleh lebih 10-15 menit, bila perlu dapat diobstruksi berulang kali (Desen, 2008).

Komplikasi utama pasca hepatektomi adalah meliputi kegagalan fungsi hepar yang timbul beberapa hari hingga beberapa minggu pasca operasi, seringkali berkaitan dengan pasien penyakit hepar kronis. Perdarahan pasca operasi, kebanyakan karena hemostasis selama operasi kurang tuntas, gangguan koagulasi, nekrosis permukaan irisan hepar. Dapat juga terjadi infeksi subdiafragma, karena pasca operasi terjadi akumulasi darah dan cairan di bawah diafragma, maka timbul abses subfrenik, fistel cairan empedu, perdarahan saluran cerna atas (Desen, 2008).

## b. Transplantasi Hepar

Bagi pasien kanker hepar dan sirosis hati, transplantasi hati memberi kemungkinan untuk menyingkirkan tumor dan menggantikan parenkim hati yang mengalami disfungsi. Dilaporkan harapan hidup 3 tahun mencapai 80%, bahkan dengan perbaikan seleksi pasien dan terapi perioperatif dengan obat antiviral seperti *lamivudin*, *ribavirin* dan *interferon* dapat dicapai harapan hidup 5 tahun sebesar 92%. Kematian pasca transplantasi tersering disebabkan oleh rekurensi tumor di dalam maupun di luar transplan. Rekurensi tumor bahkan mungkin diperkuat oleh obat antirejeksi yang harus diberikan. Tumor berdiameter kurang dari 3cm lebih jarang kambuh dibandingkan dengan tumor yang diameternya lebih dari 5 cm (Sudoyo, *et al.*, 2007).

## c. Terapi Lokal

Terapi lokal terdiri atas dua jenis terapi, yaitu terapi ablatif lokal dan injeksi obat intratumor. Yang pertama meliputi ablasi radiofrekuensi, koagulasi gelombang mikro, laser, pembekuan, ultrasound energi tinggi terfokus, dll; yang kedua yang tersering ditemukan adalah injeksi alkohol absolut intratumor.

### 1. Ablasi Radiofrekuensi (RFA)

RFA merupakan metode ablasi lokal yang paling sering dipakai dan efektif dewasa ini. Elektroda RFA ditusukkan ke dalam tumor, elektroda tersebut melepaskan energi radiofrekuensi, sehingga jaringan tumor mengalami nekrosis koagulatif panas, denaturasi, sehingga secara selektif membunuh jaringan tumor. RFA perkutan memiliki keunggulan mikroinvasif, aman, efektif, sedikit komplikasi, mudah diulangi dll. sehingga mendapat perhatian luas untuk terapi kanker hepar (Desen, 2008).

### 2. Injeksi Alkohol Absolut Intratumor Perkutan

Penggunaan terapi ini umumnya pada kanker hepar kecil yang tidak dapat direseksi atau sebagai terapi adjuvan pasca kemoembolisasi arteri hepatic.

Metode ini menggunakan panduan teknik pencitraan dan dilakukan pungsi tumor hati perkutan, ke dalam lokasi tumor disuntikkan alkohol absolut. Pengaruh luas penyebaran alkohol absolut dalam kanker hepar dan dosis toleransi tubuh manusia, maka sulit mencapai efek terapi ideal terhadap kanker hepar dengan ukuran besar (Desen, 2008).

d. *Transarterial Embolization/Chemo Embolization (TAE/TACE)*

Berdasarkan meta analisis, pasien kanker hepar stadium menengah-lanjut (*intermediate-advanced stage*) hanya terapi TACE saja yang menunjukkan penurunan pertumbuhan tumor serta dapat meningkatkan harapan hidup. TACE dengan frekuensi 4 kali setahun dianjurkan pada pasien yang fungsi hatinya cukup baik serta tumor multinodular asimtomatik tanpa invasi vaskular atau penyebaranekestrahepatik, yang tidak dapat diterapi secara radikal. Sebaliknya bagi pasien yang dalam keadaan gagal hati, serangan iskemik akibat terapi ini dapat mengakibatkan efek samping berat (Sudoyo, *et al.*, 2007)

e. Kemoterapi

Kemoterapi terdiri atas kemoterapi sistemik, kemoterapi kateterisasi transarteri hepatik, kemoterapi vena porta, dll. Kanker hepar relatif kurang peka terhadap kemoterapi, sehingga efektifitas kemoterapi sistemik kurang baik (Ryder, 2003).

f. Radioterapi

Radioterapi eksternal sesuai untuk pasien dengan lesi kanker hepar yang relatif terlokalisasi, medan radiasi dapat mencapai seluruh tumor, selain itu sirosis yang tidak parah, sehingga pasien dapat mentolerir radioterapi. Radioterapi umumnya digunakan bersama metode terapi lainnya seperti kemoembolisasi transarteri hepatik. Untuk kasus stadium lanjut dengan metastasi tulang, radiasi lokal diberikan untuk mengatasi nyeri. Komplikasi tersering dari radioterapi adalah gangguan fungsi hepar, hingga timbul ikterus dan asites hingga tidak dapat menyelesaikan seluruh dosis terapi (Desen, 2008)

### 2.2.6 Prognosis

Prognosis kanker hepar tergantung dari jumlah dan ukuran dari nodul, fungsi ginjal saat didiagnosa, dan pemilihan terapi. Semakin buruk stadium kanker hepar, semakin dibutuhkan pilihan terapi yang lebih optimal. AFP (*Alfa Feto Protein*), skor *Child-Pugh* dan adanya atau ketiadaan dari ascites dapat memprediksikan kanker hepar. Pasien jarang didiagnosa dengan Kanker hepar pada stadium awal *carcinoma in situ* ketika fungsi hepar masih bisa dipertahankan. Harapan hidup lima tahun adalah 89-93% dengan terapi reseksi dan 71% dengan terapi perkutaneus. Kanker hepar stadium akhir diartikan sebagai kanker terminal dengan harapan hidup <6 bulan dan tidak ada keuntungan yang didapatkan dari terapi. Sistem TNM (*Tumor Nodes Metastasis*) dan klasifikasi Okuda adalah klasifikasi stadium yang paling sering digunakan. Berdasarkan sistem skoring tersebut pasien diklasifikasikan pada resiko rendah, resiko sedang dan resiko berat/tinggi pada kematian dengan satu tahun usia harapan hidup masing-masing 72%, 34% dan 7%. AFP digunakan sebagai indikator penyebaran kanker. Sebuah penelitian di Italia menyebutkan bahwa prognosis 176 pasien kanker hepar yang menunjukkan kadar albumin rendah, bilirubin tinggi, AFP yang meningkat, trombosis vena porta dan lesi yang tidak diterapi mempunyai harapan hidup yang buruk. Sebuah survey yang dilakukan di Jepang pada prognosis harapan hidup pasien kanker hepar pasca reseksi hepar menunjukkan peningkatan hasil dan menurunkan angka kematian pada dekade terakhir. Usia, derajat kerusakan hepar, level AFP, jumlah tumor, keganasan tumor intra-hepatik, metastasis ekstra-hepatik, invasi vena porta dan vena hepatica merupakan faktor prognosis independen pasien kanker hepar dengan terapi reseksi (Lamerz, 2007). Kanker hepar yang tidak diterapi, survival rata-rata alamiah adalah 4,3 bulan. Data 1465 kasus pasca reseksi radikal kanker hepar dari Institut Riset kanker hepar Universitas Fudan di Shanghai menunjukkan *5 years survival rate* 51,2%. Dari 1389 kasus kanker hepar di RS Kanker Universitas Zhongshan di Guangzhou, pasca hepatektomi *5 years survival rate* 37,6%, untuk kanker hepar <5 cm *survival rate* 57,3% (Desen, 2008)

### 2.3 Proliferasi Sel

Populasi sel atau homeostasis jaringan ditentukan oleh kecepatan proliferasi sel, differensiasi dan apoptosis. Tiap sel mempunyai mekanisme pengawasan supaya sel selalu konstan untuk menjaga kestabilan integritas dengan genomnya. Bila terjadi mutasi onkogen maka akan terjadi mekanisme untuk membatasi perluasan atau perbanyakkan sel, dengan penekanan proliferasi dan meningkatkan (*triggering*) apoptosis. Gangguan keseimbangan antara apoptosis dan proliferasi adalah faktor penting untuk terjadinya perkembangan dari tumor (tumorigenesis) dan progresi tumor. Proliferasi sel yang tidak terkontrol merupakan salah satu mekanisme penyebab terjadinya kanker, di samping faktor berkurangnya apoptosis. Proliferasi sel adalah pembelahan sel (*cell division*) dan pertumbuhan sel (*cell growth*). Jumlah sel pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif, antara masuknya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi. Masuknya sel baru ke dalam populasi jaringan ditentukan oleh kecepatan proliferasinya. Sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel (apoptosis) ataupun karena berdiferensiasi menjadi jenis sel lain (Hartono, 2009).

Peningkatan jumlah sel dalam populasi tertentu dapat terjadi karena peningkatan proliferasi, penurunan apoptosis atau diferensiasi sel. Proliferasi sel distimulasi oleh faktor pertumbuhan intrinsik, jejas, kematian dan kerusakan sel, mediator biokimiawi dari lingkungan. Kelebihan stimulus atau kekurangan inhibitor akan menyebabkan pertumbuhan sel yang tak terkontrol atau terjadinya kanker. Faktor yang mendasari mekanisme dan pengaturan proliferasi sel adalah siklus sel. Penginduksian pertumbuhan sel dihubungkan dengan pemendekan siklus sel pada fase G<sub>0</sub> sampai sel memasuki siklus sel. Pada fase G<sub>0</sub> sampai memasuki siklus sel terdapat penghambatan fisiologis untuk terjadinya proliferasi sel. Pertumbuhan sel dapat dicapai dengan memperpendek atau memperpanjang siklus sel (Hartono, 2009).

Pada mamalia, proliferasi sel diawali adanya stimulus eksternal seperti *growth factor* (suatu peptide yang merangsang pertumbuhan dengan mengaktifkan sintesa DNA) untuk memasuki G<sub>1</sub>. Suatu sel akan mengalami replikasi sampai

akhir G1 kemudian *growth factor* akan menetap menjadi *growth factor induced signal* atau menjadi *growth factor inhibitor*, perubahan tersebut tergantung dari protein yang mengatur siklus sel. *Growth factor* menginduksi sel untuk memasuki siklus sel melalui kontrol point *G1 restriction point*. Proses pembelahan sel menjadi pembelahan selanjutnya melalui tahapan yang disebut siklus sel. Siklus sel terdiri dari 4 tahapan yaitu *presynthetic growth phase I (G1)*, *DNA synthetic phase (S)*, *premitotic growth phase (G2)*, *mitotic phase (M)* (Sukardja, 2000).

Waktu yang diperlukan oleh satu sel mejalani siklus pertumbuhan sangat bervariasi dari beberapa jam sampai tahunan. Waktu siklus yang terpendek 24 jam dan yang terpanjang tidak diketahui, karena ada sel yang tidak tumbuh lagi. Keluar dan masuknya sel kedalam siklus sel dikontrol oleh perubahan tingkatan dan aktivitas protein yang disebut *cyclins*. Protein yang berhubungan dengan siklus sel yaitu *cyclins dependent kinase (CDKs)* dan *Cyclin-dependent kinase inhibitor (CKIs)*. *Cyclins* tersebut sangat penting untuk signal transduksi dan koordinasi pada tiap tahapan siklus sel. Sintesis dan degradasi dari CDKs diatur oleh ikatan *CDK inhibitors*. Penting untuk pengaturan *Cells cycle checkpoints (G1→S dan G2→M)* menahan siklus sel bila terjadi kerusakan DNA supaya tidak terjadi replikasi. *Checkpoint* berfungsi untuk merespon sel terhadap kerusakan DNA, proses ini sangat penting untuk menjaga integritas sel/genome. Pada siklus sel terdapat beberapa *checkpoint* yaitu : *G1 checkpoint* untuk pada fase S, *G2 checkpoint* menahan siklus sel, sebagai respon kerusakan DNA yang tidak replikasi selama fase S, *M check point* untuk menginaktifkan *chromosomal segregation* sebagai respon dari *misalignment* pada *mitotic spindle*. Komponen dari checkpoint adalah protein yang beraksi sebagai sensor kerusakan DNA, *signal transducer* atau *effector*. Gangguan dari fungsi *checkpoint* akan mengakibatkan mutasi yang dapat menginduksi karsinogenesis (Sukardja, 2000; Hartono, 2009). Kegagalan pemantauan secara memadai terhadap keakuratan replikasi DNA akan menyebabkan akumulasi mutasi dan transformasi ganas yang mungkin terjadi. Sebagai contoh, pada saat DNA dirusak (misal oleh radiasi), protein supressor tumor TP53 (protein fosforilasi dengan berat molekul 53 kD) akan distabilkan dan menginduksi transkripsi CDKI P21. Inhibitor ini

akan menahan sel dalam fase G<sub>1</sub> atau G<sub>2</sub> sampai DNA dapat diperbaiki. Pada tahapan tersebut TP53 menurun, CDKI P21 berkurang, dan sel dapat melanjutkan tahapan. Jika kerusakan DNA terlalu parah, TP53 akan menginduksi suatu kaskade peristiwa untuk membuat sel melakukan apoptosis (Kumar *et al.*, 2007).

#### 2.4 DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen)

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 karsinogenesi. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 yang diekspresikan oleh payudara dan hati akan membentuk *proximate carcinogen* serta *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. Senyawa DMBA adalah prokarsinogen yang dikonversi menjadi metabolit yang paling poten (*ultimate carcinogen*) yaitu DMBA-3,4-diol-1,2 epoxide. *Cytochrome P-450* dan *microsomal epoxide hydrolase* (mEH) memetabolisme DMBA menjadi dua metabolit yaitu metabolit elektrofilik dan metabolit yang mampu membentuk *DNA adduct*. *Cytochrome P-450 CYP1B1* mengoksidasi DMBA menjadi 3,4-epoxides yang diikuti dengan hidrolisis epoxides oleh mEH membentuk metabolit *proximate carcinogenic* dan DMBA-3,4-diol. Metabolit ini nantinya dioksidasi oleh CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* (DMBA-3,4-diol-1,2 epoxide). Enzim CYP1A1 dan CYP1B1 ini diekspresikan baik dalam hati dan payudara dimana kedua enzim ini dapat diinduksi oleh DMBA. Metabolit aktif dari DMBA adalah DMBA-3,4-diol-1,2 epoxides yang mampu membentuk *DNA adduct*. Metabolit DMBA yang membentuk *DNA adduct* menentukan mutasi dalam gen dan mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa epoxide tersebut nantinya akan berikatan secara kovalen dengan gugus amino eksosiklik deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA. Interaksi ini

(DNA *adduct*) dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan inisiasi kanker. Sel yang mengalami mutasi akan menyebar melalui pembuluh darah menuju organ lain salah satunya yaitu hepar, yang mengakibatkan sel mengalami mutasi dan menyebabkan transformasi dari sel jinak menjadi sel anaplastik sehingga terjadi kanker hepar (Susilowati, 2010).

## 2.5 Kedelai

### 2.5.1 Deskripsi Kedelai

Tanaman kedelai termasuk phylum Magnoliophyta, kelas Magnoliopsida, ordo Fabales, famili Fabaceae, subfamili Faboideae, genus *Glycine* dan spesies *Glycine max*. Kedelai merupakan tumbuhan semak semusim, tingginya berkisar 20-60 cm. Batang tumbuhan kacang-kacangan ini bersegi, berwarna hijau keputihan. Daunnya majemuk, menyisip ganjil, bulat telur, ujung tumpul, tepi rata dengan panjang berkisar 5-10 cm. Tumbuhan kedelai memiliki beberapa bunga yang relative padat. Kelopaknya agak berbulu dengan panjang mencapai 7 mm, penampang bunga kedelai berwarna kemerah-merahan. Dari setiap batang daun hanya tumbuh 2-3 polong, membujur panjang berkisar 4-5 cm, berbulu lebat, terdiri dari 2-4 benih. Biji kedelai terdiri dari kulit (*hull*) dan dua buah kotiledon, ditambah dengan dua buah struktur berukuran kecil, yaitu hipokotil dan *plumule*. Kotiledon merupakan bagian terbesar, beratnya sekitar 90% berat biji total; serta mengandung minyak dan protein di dalam sel-selnya. Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan adanya "*protein bodies*" (dikenal juga sebagai "*aleurone grains*"), serta "*lipid bodies*" (atau "*spherosomes*"), yang masing-masing merupakan tempat penyimpanan protein dan minyak. Protein bodies berukuran diameter sekitar 10 mikron, sedang lipid bodies berukuran sekitar 0,2 – 0,5 mikron (Muchtadi, 2010).

Tanaman kedelai merupakan tanaman asli dari Asia Timur dan telah dibudidayakan di Cina sejak 5000 tahun yang lalu. Pada awalnya kedelai ditanam untuk memberikan hara pada tanah, sebagai bagian rotasi tanaman. Terdapat banyak jenis kedelai, misalnya kedelai hitam dan coklat, tetapi sekarang yang banyak diproduksi adalah kedelai kuning. Buah kedelai berbentuk polong, seperti

kacang, bertangkai pendek, pipih. Buah mudanya berwarna hijau, sedangkan buah tuanya berwarna kuning (Muchtadi, 2010).

Di Indonesia, kedelai merupakan salah satu komoditi pangan utama setelah padi dan jagung. Kedelai merupakan bahan pangan utama setelah padi dan jagung. Kedelai merupakan bahan pangan sumber protein nabati utama bagi masyarakat. Kebutuhan kedelai dari tahun ke tahun terus meningkat. Kedelai dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan protein murah bagi masyarakat dalam upaya meningkatkan kualitas SDM Indonesia. Dengan pengertian dan apresiasi yang lebih baik terhadap peranan kedelai dalam pencegahan berbagai penyakit, diharapkan akan terjadi peningkatan konsumsi kedelai secara nyata pada masyarakat golongan menengah dan atas. Demikian pula pihak pangan diharapkan akan tergerak untuk mengembangkan kedelai sebagai bahan dasar pangan fungsional dalam rangka peningkatan status kesehatan masyarakat (Muchtadi, 2010).

Banyak bukti yang menunjukkan peranan kedelai sebagai sumber-sumber zat gizi bermutu tinggi, yaitu: protein dalam jumlah yang cukup dan bermutu tinggi, dengan pola asam amino esensial yang mendekati pola yang direkomendasikan oleh FAO, lemak dalam jumlah yang cukup, juga bermutu tinggi, karena sebagian asam-asam lemaknya terdiri dari asam-asam lemak esensial yaitu linoleat dan linolenat dan tidak kalah pentingnya, kedelai juga mengandung vitamin-vitamin dan mineral yang diperlukan oleh tubuh. Dengan harapan kedelai dikenal di seluruh dunia sebagai bahan pangan yang murah harganya, tetapi tinggi nilai gizinya (Muchtadi, 2010)

#### 2.5.2 Kandungan dan Manfaat Kedelai pada Kanker hepar

Komposisi kimia kedelai bervariasi tergantung pada varietas dan kondisi pertumbuhannya. Melalui pemuliaan tanaman, sangat mungkin akan diperoleh biji kedelai dengan kadar protein sekitar 40-45% dan kadar lemak sekitar 18-20%. Umumnya untuk kenaikan kadar protein, akan diikuti penurunan sekitar 0,5% kadar lemak. Komponen kimia kedelai disajikan pada tabel 2.3 (Muchtadi, 2010).

Tabel 2.3 Ilustrasi komponen kimia kedelai

Komponen	Jumlah
Air, G	8,5
Energy, Kkal	416
Protein, g	35,5
Lemak (lipid total), g	19,9
Karbohidrat	30,2
Serat, g	9,3
A b u, g	4,9

Reference (<http://www.nal.usda.gov/2009>)

Kedelai mengandung sekitar 30% karbohidrat, yang dapat dibagi menjadi dua grup, yaitu gula larut air (*sukrosa*, *stakhiosa* dan *rafinosa*) dan serat tidak larut (*insoluble fiber*). Fraksi tidak larut merupakan campuran polisakarida kompleks dan turunannya. Komponen utama fraksi ini adalah karbohidrat dinding sel tanaman yaitu *selulosa*, *hemiselulosa* dan senyawa *pektat*. Karbohidrat tidak larut tersebut tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan dan dikenal sebagai bagian dari serat pangan (*dietary fiber*) (Muchtadi, 2007). Komposisi karbohidrat diilustrasikan pada tabel 2.4 berikut.

Tabel 2.4 Komposisi karbohidrat kedelai (per 100 g)

Jenis karbohidrat	Jumlah
Karbohidrat kompleks, g	21
Karbohidrat sederhana, g	9
Stakiosa, mg	3.300
Rafinosa, mg	1.600
Serat pangan tidak larut, g	10
Serat pangan larut, g	7

Sumber : USDA Nutrient Database for Standard Reference  
(<http://www.nal.usda.gov/2009>)

Produk olahan kedelai yang diproses dengan baik mempunyai nilai gizi yang tinggi, berdasarkan daya cernanya yang tinggi dan profil asam amino esensialnya (Muchtadi, 2010).

Tabel 2.5 Komposisi asam amino esensial protein kedelai

Asam amino esensial	Produk olahan kedelai		
	Tepung kedelai	Konsentrat protein	Isolate protein
	(mg/100 g Protein)		
Isoleusin	46	48	49
Leusin	78	79	82
Lisin	64	64	64
Metionin+sistin	26	28	26
Fenilalanin+tirosin	88	89	92
Treonin	39	45	38
Triptofan	14	16	14
Valin	46	50	50

Sumber : USDA Nutrient Database for Standard Reference  
(<http://www.nal.usda.gov/2009>)

Penelitian yang dilakukan pada hewan percobaan menunjukkan bahwa daya cerna protein kedelai sebanding dengan protein bernilai gizi tinggi lain seperti daging, susu, ikan, dan telur. Nilai cerna konsentrat dan isolat protein kedelai kedelai pada manusia berkisar antara 91-96%, yang sebanding dengan nilai cerna protein susu (Muchtadi, 2010). Selain ilustrasi mengenai protein kedelai, penulis juga mengilustrasikan komposisi mineral dan vitamin kedelai per 100 gram kedelai seperti yang disajikan pada tabel 2.6.

Komponen	Jumlah
<b>Mineral :</b>	
Kalsium (Ca), mg	277
Zat besi (Fe), mg	15,7
Magnesium (Mg), mg	280
Fosfor (P), mg	704
Kalium (K), mg	1797
Natrium (Na), mg	2
Seng (Zn), mg	4,9
Tembaga (Cu), mg	1,7
Mangan (Mn), mg	2,52
Selenium, Se, mcg	17,8
<b>Vitamin:</b>	
Vit c (asam askorbat), mg	6
Vit B1 (tiamin), mg	0,87
Vit B2 (riboflavin), mg	0,87
Vit B3 (Niasin), mg	1,62
Vit B5 (asam pantotenat), mg	0,79
Vit B6 (piridoksin), mg	0,38
Asam folat, mcg	375
Ara Vit A, mcg	2
Vit D, mg	1,95

Tabel 2.6 Komposisi mineral dan vitamin kedelai (per 100 g)  
Sumber: USDA Nutrient Database for Standard Reference  
(<http://www.nal.usda.gov/2009>)

Rendahnya insidensi penyakit yang berhubungan dengan hormon di negara-negara di mana kedelai dikonsumsi secara reguler, merupakan stimulis timbulnya perhatian para peneliti untuk mempelajari manfaat kedelai bagi kesehatan (Setchel et al, 1984). Sejumlah penelitian intervensi telah dilakukan dengan menggunakan produk kedelai mengandung isoflavon. Salah satu fakta studi epidemiologis menyebutkan bahwa negara-negara di Asia memiliki insidensi kanker payudara dan kanker prostat 10 kali lebih rendah daripada negara-negara di Amerika. Jumlah kematian penduduk Jepang karena kanker payudara hanya seperempat dari jumlah kematian akibat kanker payudara di Amerika, karena konsumsi kedelai di Asia lebih tinggi daripada di Amerika (Elkins, 2000).

National Cancer Institute mengklasifikasikan lima komposisi kimia dalam kedelai yang bersifat anti-karsinogenik, yaitu *phytosterols*, *phytates*, *saponin*, *inhibitor protease* dan *isoflavone*. Di dalam kedelai juga terkandung *phenolic-acid*, yang juga memiliki aktivitas anti-kanker. Dari semua komposisi tersebut, isoflavone paling banyak mendapat perhatian dari beberapa ilmuwan karena aktivitas *anticarsinogenicnya*. Isoflavon adalah senyawa *polifenol* yang dapat memperlihatkan peranan seperti *estrogen*, sehingga sering disebut sebagai *fitoestrogen* yaitu senyawa yang memiliki aktivitas *estrogenik* yang berasal dari tumbuhan (Elkins, 2000).

Kedelai mengandung dua jenis isoflavon utama yaitu *genistein* dan *daidzein*, ditambah satu jenis isoflavon minor yaitu *glisitein*. Penelitian yang dilakukan terhadap efek antikanker pada kedelai paling banyak dilakukan adalah pada *genistein*. *Genistein* adalah analog alami dari obat *Tamoxifen*, yang merupakan sebuah *anti-estrogenik* yang digunakan sebagai terapi kanker mammae. *Tamoxifen* bekerja memblokir kemampuan *estrogen* untuk menstimulasi adanya perubahan pada sel payudara yang hasilnya terlihat pada formasi tumor. *Genistein* juga memperlihatkan kemampuan untuk menghancurkan enzim kanker tertentu yang merubah sel normal menjadi sel kanker. *Genistein* secara langsung menghentikan formasi dan pertumbuhan kanker. Lebih jauh dijelaskan bahwa kedelai juga terkandung zat antioksidan yang kuat dan mencari radikal bebas yang berkontribusi terhadap kerusakan DNA yang terlihat pada formasi tumor.

*Genistein* juga menghambat aktivitas enzim yang lain yang mengontrol replikasi selular. Salah satunya adalah DNA topoisomerase, yang dihasilkan sebagai enzim spesifik setelah diberi paparan obat kemoterapeutik untuk melawan kanker (Elkins, 2000).

Kandungan isoflavon produk olahan kedelai bervariasi dan dipengaruhi bukan saja oleh jenis (kultivar) kedelai yang digunakan, tetapi juga oleh proses pengolahannya. Kemungkinan selama pengolahan kedelai ada beberapa bagian isoflavon yang hilang atau rusak akibat proses pemanasan (Muchtadi, 2010).





## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

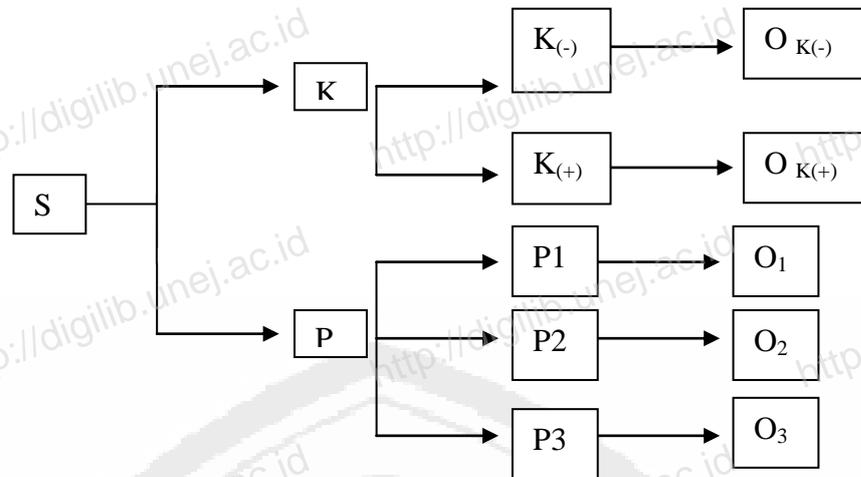
Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Pratiknya, 2003). Prosedur eksperimental bermaksud untuk membandingkan efek variasi variabel bebas terhadap variabel tergantung melalui manipulasi atau pengendalian variabel bebas tersebut (Azwar, 2010).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Peneliti menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Dalam rancangan penelitian ini kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dibentuk dengan prosedur random sehingga keduanya dianggap setara, yaitu karakteristik antar semua unit populasi adalah sama (Aswar, 2010). Pengukuran awal tidak dilakukan karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi, sehingga dapat dikembangkan rancangan eksperimental tanpa ada pengukuran awal (*pretest*), tetapi hanya pengukuran akhir (*post test*) (Pratiknya, 2003).

Setelah kelompok eksperimen dan kelompok kontrol telah ditentukan maka perlakuan diberikan. 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 (*posttest*) pada semua kelompok untuk diperoleh kesimpulan mengenai perbedaan diantaranya melalui analisis data tertentu (Notoatmojo, 2002). Setiap perbedaan yang terjadi pada kedua kelompok akan dikembalikan penyebabnya pada perbedaan perlakuan yang diberikan (Aswar, 2010).

Secara sistematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po : Populasi 30 ekor 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 20 mg/hari per ekor

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

O<sub>K(+)</sub> : Data hasil pengamatan histopatologi hepar 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 hepar 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 hepar 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 hepar tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 20 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai

### 3.3 Besar Sampel

Populasi hewan yang akan digunakan dalam percobaan ini tikus putih betina strain Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kondisi sehat, umur 8-12 minggu dan rata-rata berat badannya yaitu 120 gram, dengan rentang berat badan antara 80-140 gram. Teknik pengambilan sampel adalah menggunakan *simple random sampling*, yaitu cara pengambilan sampel dimana setiap unsur yang membentuk populasi diberi kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel (Notoatmojo, 2002). Adapun *simple random* yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan undian. Cara ini diawali dengan membuat daftar nomor subjek yang memenuhi karakteristik sebagai populasi. Nomor tersebut kemudian diundi untuk mengambil sampel sebanyak yang diperlukan. Pengundian ini dilakukan dengan lebih dahulu menulis nomor subjek satu per satu pada kertas gulung yang ditempatkan dalam sebuah kotak dan gulungan nomor tadi diambil satu persatu tanpa memilih mewakili tikus yang terpilih (Azwar, 2010).

Jumlah minimal tikus yang akan digunakan oleh peneliti sebanyak 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Jumlah sampel yang digunakan menurut rumus Federer yaitu (Budiarto, 2001):

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$N \geq 4,75 (= 5)$$

Keterangan :

k = jumlah kelompok

n = jumlah sampel dalam tiap kelompok

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 5mg/hari, 10mg/hari, dan 20mg/hari, namun ketiganya mendapat perlakuan yang sama yaitu

diberi DMBA setiap hari dengan dosis tunggal 4,2 mg/hari 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 hepar hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan untuk penghitungan proliferasi sel dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Waktu pelaksanaan perlakuan dan pemeriksaan histopatologi hepar pada bulan Februari-Juni 2011.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

- a. DMBA dengan dosis tunggal yaitu 4,2 mg (Markindan P *et al*, 2007)
- b. Sari kedelai dengan dosis masing-masing 5mg/hari, 10mg/hari, dan 20mg/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 (Stubert *et al*, 2009).

#### **3.5.2 Variabel Tergantung**

Variabel terikat adalah gambaran proliferasi sel hepar tikus.

#### **3.5.3 Variabel Terkendali**

- a. Umur hewan coba
- b. Berat badan hewan coba
- c. Waktu dan lama perlakuan
- d. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba
- e. 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-efek karsinogenik. Pemberian DMBA dilakukan bersamaan dengan sari kedelai.

2. Sari kedelai dengan dosis bertingkat masing-masing 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 hepar. Sari kedelai diberikan melalui sonde setiap hari selama 30 hari.
3. Jumlah proliferasi sel pada kanker hepar tikus wistar adalah jumlah total inti sel hepar yang berwarna coklat dengan pewarnaan imunohistokimia metode *Proliferating Cell Nuclear Antigen* (PCNA). Sel dihitung melalui mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali pada 10 lapang pandang yang dilakukan oleh 3 pemeriksa dan dinyatakan dalam satuan N sel per 10 lapang pandang.

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

#### **3.7.1 Alat Penelitian**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pemeliharaan hewan coba dan alat yang digunakan untuk pengambilan spesimen hepar hewan coba serta alat untuk mengamati sediaan histopatologi hepar hewan coba. Yang pertama adalah alat untuk pemeliharaan hewan coba, alat – alat yang dibutuhkan meliputi kandang hewan dari kotak plastik yang berjumlah 6 kandang, botol minuman hewan coba, kawat penutup kandang, dan sekam untuk alas kandang yang diganti setiap satu minggu sekali. Selanjutnya adalah peralatan untuk pengambilan spesimen dan alat untuk pengamatan sediaan histopatologi hepar. Peralatan tersebut terdiri dari papan fiksasi, jarum pentul, pinset, scapel, gunting, mikrotom, objek glass, kaca penutup, dan mikroskop Olympus CX31.

#### **3.7.2 Bahan Penelitian**

Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain adalah serbuk DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen), sari kedelai, minyak wijen, larutan eter, formalin 10%, dan LSAB (Labelled Streptavidin Biotin) kit.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Perlakuan Hewan Coba

Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) strain Wistar sebanyak 25 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  $P_1$ ,  $P_2$  dan  $P_3$  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 dan Penyimpanan Jaringan Hepar

Tikus dianestesi menggunakan larutan eter. Kemudian hewan coba difiksasi menggunakan jarum pentul yang ditusukkan pada ujung keempat ekstremitasnya. Setelah itu abdomen hewan coba dieksisi dan organ hepar diambil. Organ hepar ditempatkan di dalam wadah yang berisi formalin 10%.

Wadah yang berisi organ hepar hewan coba dibawa ke Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dijadikan sediaan Histopatologi.

### 3.8.3 Pembuatan Sediaan Histopatologi Organ Hepar

Spesimen organ hepar diambil secukupnya dan ditempatkan di atas *object glass*, pastikan tidak ada sisa air bekas penyimpanan. teteskan 3% hidrogen peroksida sesampai menutupi spesimen dan inkubasi selama 5 menit lalu bilas dengan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Fungsi dari hidrogen peroksidase ini adalah untuk memblokir peroksidase endogen pada jaringan sehingga pengecatan dengan LSAB bisa dilakukan. Setelah itu, teteskan reagen antibodi primer sampai menutupi spesimen dan inkubasi selama 30 menit kemudian bilas kembali dengan larutan PBS. Setelah 30 menit, teteskan antibodi sekunder sampai menutupi spesimen dan diinkubasi 15-30 menit lalu bilas dengan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Apabila inkubasi telah selesai, dilanjutkan dengan meneteskan streptavidin peroksidase dengan proses dan lama inkubasi yang sama dengan penetesan antibodi sekunder. Setelah itu dilakukan pengecatan dengan *substrate-chromogen solution* selama 1 jam sampai spesimen berwarna coklat, kemudian dilakukan counterstain dengan menggunakan hematoxylin dan diinkubasi kembali selama 5 menit. Apabila inkubasi telah selesai, spesimen dibilas dengan 10-15 tetes *ammonia water* dan dilakukan *mounting* dengan DAB chromogen, kemudian *object glass* dapat ditutup dengan *cover glass* memakai entelan dan sediaan histopatologi sudah dapat diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran objektif 100 kali. Seluruh proses pembuatan sediaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

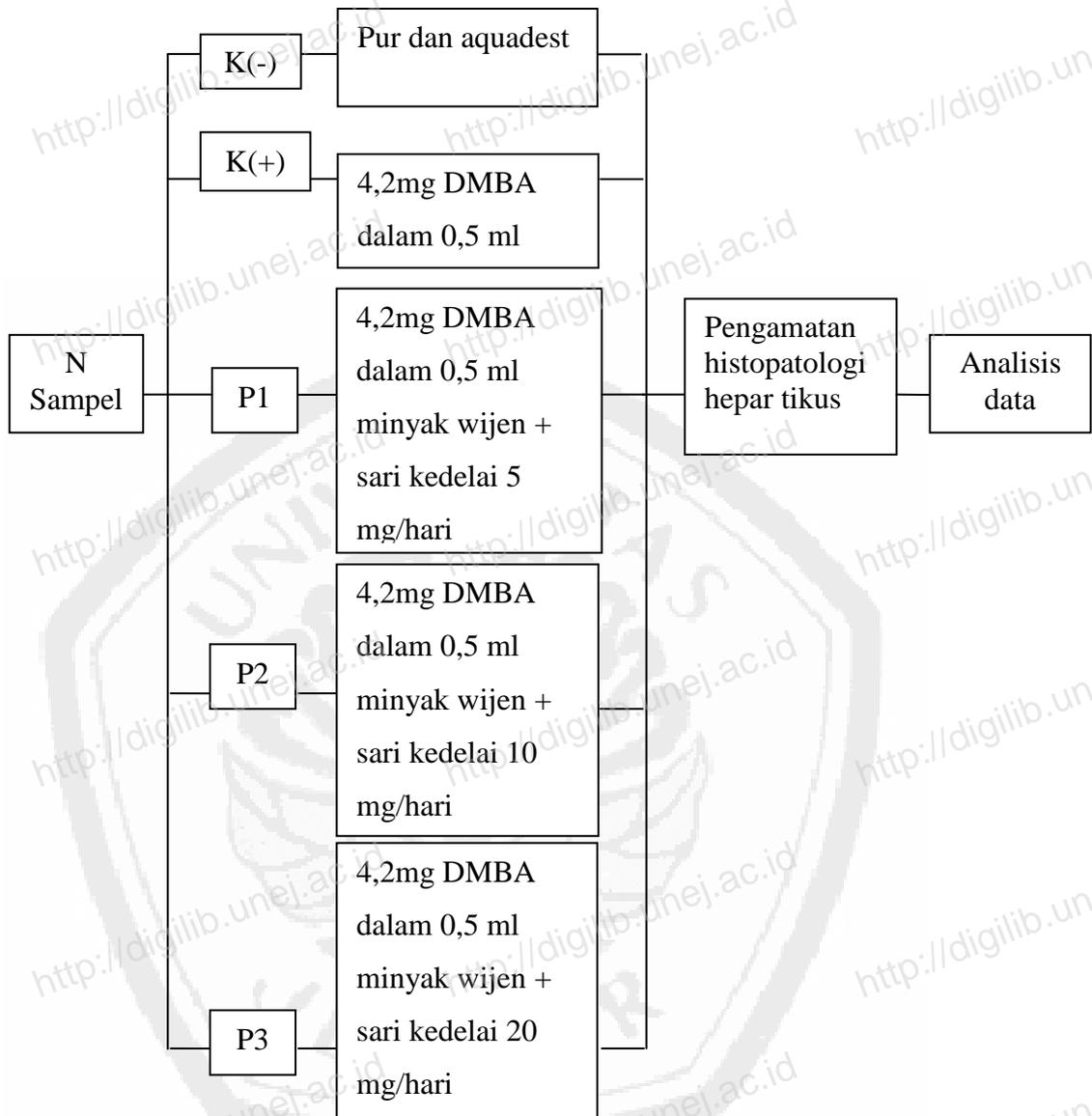
#### 3.8.4 Pengamatan Sediaan Histopatologi organ hepar

Preparat yang dihasilkan dibawa kembali ke Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan dilakukan penghitungan akumulasi proliferasi jumlah sel hepatoma dan sel hepar normal dari setiap kelompok sampel memakai mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali yang dilakukan 3 peneliti per 10 lapang pandang. Pengamatan yang dilakukan oleh peneliti untuk mengamati aktivitas proliferasi hepar adalah jumlah total inti sel hepar yang berwarna coklat dengan pewarnaan imunohistokimia metode *Proliferating Cell Nuclear Antigen* (PCNA).

#### 3.9 Analisis Data Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh sari kedelai dan pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap gambaran proliferasi sel hepar pada kelima kelompok digunakan uji *one way ANOVA*. Analisis data yang dilakukan menggunakan program SPSS *statistic 18*.

### 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

Pengamatan hasil penelitian ini dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah lima kelompok sampel (K<sub>-</sub>, K<sub>+</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>) setelah 30 hari post induksi DMBA. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada setiap kelompok perlakuan menggunakan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan imunohistokimia metode PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dapat dikemukakan hasil penelitian sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rerata jumlah gambaran proliferasi sel pada tiap kelompok

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation
K <sub>(-)</sub>	5	23,00	5,10
K <sub>(+)</sub>	5	49,00	4,74
P <sub>1</sub>	5	39,20	5,31
P <sub>2</sub>	5	32,40	5,60
P <sub>3</sub>	5	26,20	4,87
Total	25	33,96	10,62

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)

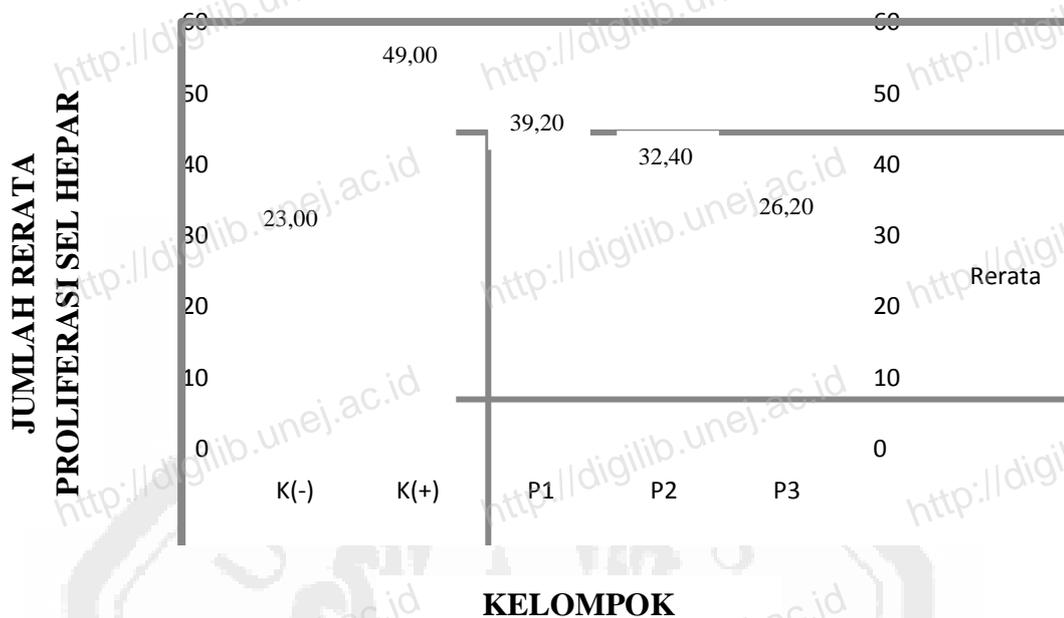
P<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

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)

Hasil analisa berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi DMBA 4,2 mg/hari tanpa diberi sari kedelai mempunyai rerata proliferasi sel terbesar dibandingkan semua kelompok, yaitu 49,00 sel/10 lapang pandang. Pada kelompok perlakuan rerata terbesar terdapat pada kelompok P<sub>1</sub> sebesar 39,20 sel/10 lapang pandang dan rerata terkecil terdapat pada kelompok perlakuan P<sub>3</sub> yaitu sebesar 26,20 sel/10 lapang pandang. Terdapat penurunan proliferasi sel pada kelompok perlakuan seiring dengan dosis

pemberian sari kedelai yang tertinggi. Diagram batang rerata proliferasi sel pada tikus wistar dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram gambar rerata gambaran proliferasi sel hepar pada tiap kelompok

Keterangan:

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

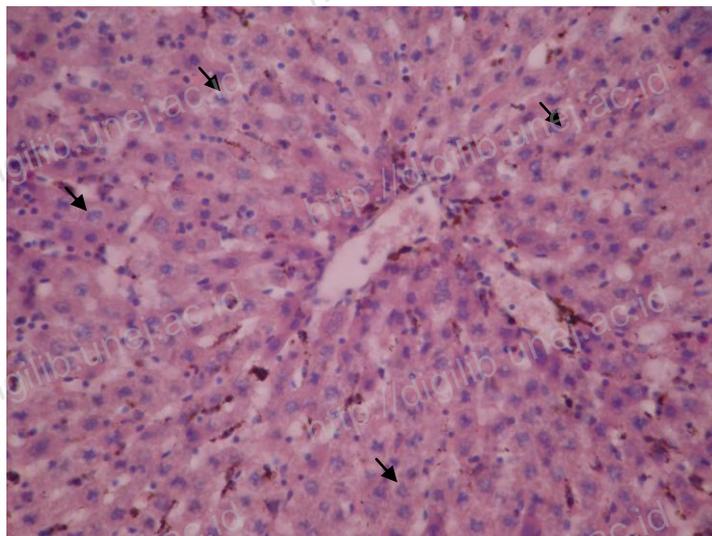
K<sub>(+)</sub> = Kelompok kontrol positif (DMBA 4,2 mg/hari)

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)

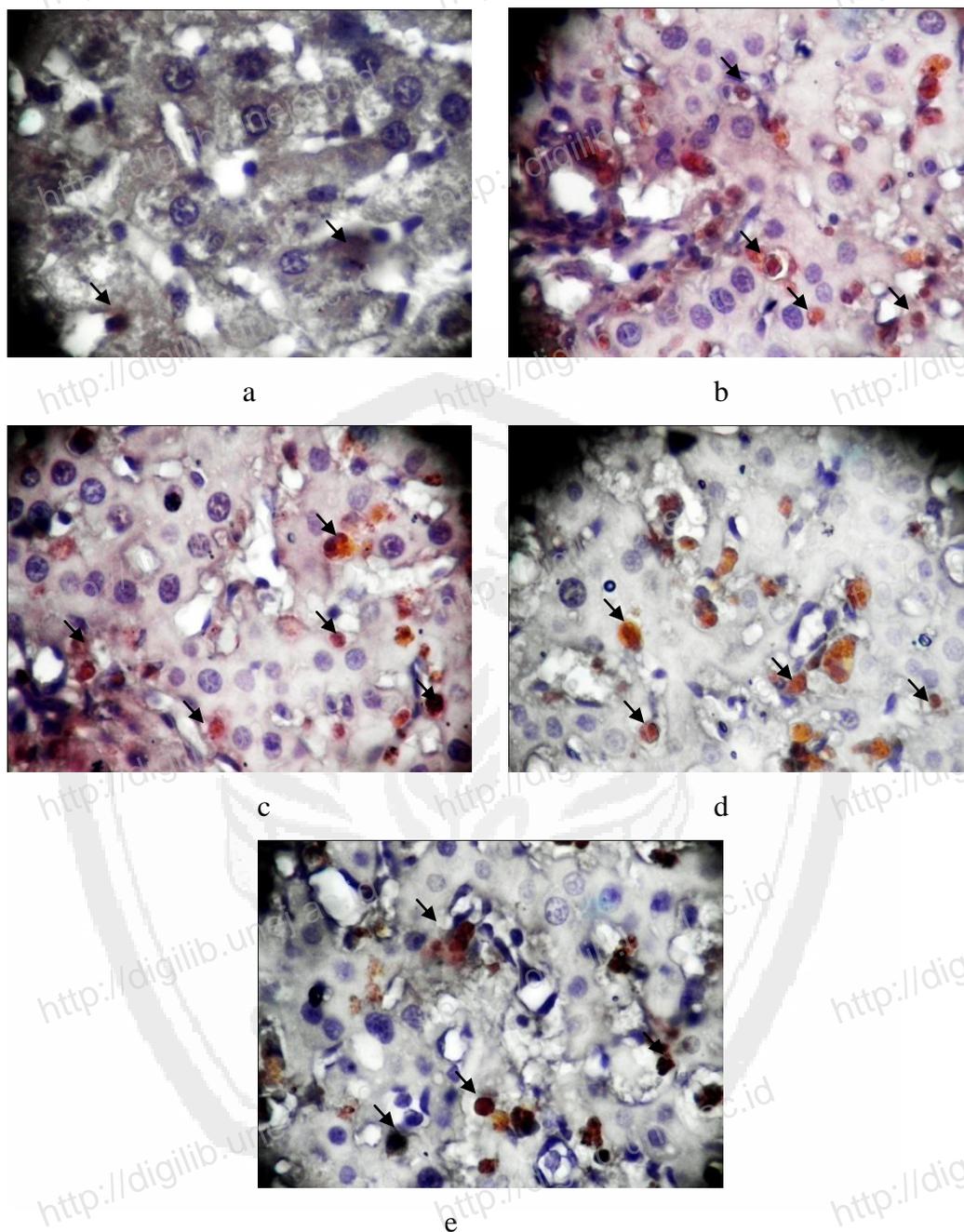
P<sub>3</sub> = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

Gambar 4.2 menunjukkan gambaran histopatologi kanker hepar dengan menggunakan metode pewarnaan HE. Pewarnaan *Hematoxyllin Eosin* untuk membuktikan bahwa pada penelitian ini DMBA mampu menginduksi kanker hepar. Pada gambar tersebut terdapat gambaran sel ganas yang sangat bervariasi, mulai yang berukuran kecil sampai besar dan didapatkan inti hiperkromatik. Sel ganas dapat tersusun dalam deretan atau gerombolan kecil (sarang) (Sander, 2004).



Gambar 4.2 Gambaran histopatologi kanker hepar dengan pewarnaan HE  
Keterangan : inti sel hiperkromatik ditunjuk dengan tanda panah (  $\blacktriangledown$  )

Pada gambar 4.3 menunjukkan gambaran histopatologi dari setiap kelompok dengan metode PCNA. Metode PCNA dengan pewarnaan LSAB (*labelled streptavidin biotin*) akan menunjukkan hasil positif yaitu terdapat proliferasi sel dengan adanya warna coklat muda (positif lemah) dan coklat tua (positif kuat) pada nukleus dan sekitar membran sel yang mengalami proliferasi. Dari seluruh kelompok, gambaran proliferasi sel yang paling tinggi adalah pada kelompok  $K_{(+)}$  diikuti dengan  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$ , dan kelompok  $K_{(-)}$



Gambar 4.3 Gambaran proliferasi sel hepar dengan metode PCNA

Keterangan:

(a) kontrol negatif; (b) kontrol positif; (c) perlakuan I; (d) perlakuan II; (e) perlakuan III; proliferasi sel hepar di tunjuk dengan tanda panah (↘)

#### 4.1.2 Hasil Uji Analisis

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *one way* ANOVA. Syarat yang harus dimiliki data penelitian agar dapat melakukan uji *one way* ANOVA adalah 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  $H_0$  diterima (data normal atau tidak terdapat perbedaan) jika  $sig. > 0,05$  dan  $H_0$  ditolak (terdapat perbedaan) jika  $sig. < 0,05$ .

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
	Statistic	Df	Sig.
K <sub>(-)</sub>	,178	5	,200*
K <sub>(+)</sub>	,300	5	,161
P <sub>1</sub>	,217	5	,200*
P <sub>2</sub>	,134	5	,200*
P <sub>3</sub>	,203	5	,200*

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 data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* pada tabel 4.2, diperoleh nilai *significancy* untuk semua kelompok lebih besar dari 0,05 ( $sig. > 0,05$ ) yang menunjukkan data tersebut terdistribusi normal ( $H_0$  diterima).

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,123	4	20	,973

Dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*. Dari hasil perhitungan uji *Levene* didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,973 (*sig.* > 0,05) yang menunjukkan varians data seragam ( $H_0$  diterima).

Berdasarkan hasil interpretasi uji normalitas dan uji homogenitas yang menunjukkan *sig.* > 0,05 ( $H_0$  diterima), maka uji *one way ANOVA* dapat dilakukan karena distribusi data normal dan varians data seragam/homogen. Uji *one way ANOVA* merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil yang bermakna dari masing-masing kelompok..

Tabel 4.4 Hasil data *one way ANOVA*

	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>etween Groups</i>	2182,160	4	545,540	20,711	,000
<i>Within Groups</i>	526,800	20	26,340		
Total	2708,960	24			

Hasil uji *one way ANOVA* diperoleh nilai *significancy* 0,000 (*Sig.* < 0,05) yang berarti terdapat perbedaan rerata proliferasi sel pada kanker hepar pada 5 kelompok ( $H_0$  ditolak). Untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan proliferasi sel yang bermakna, maka dilakukan uji lanjutan dengan analisis *Post Hoc*. Uji lanjutan yang dipakai pada data penelitian ini ialah tes Tukey HSD (*Honestly Significantly Different*). Pada hasil analisa *Post Hoc*, cara interpretasinya yaitu  $H_0$  diterima (tidak terdapat perbedaan) jika *sig.* > 0,05 dan  $H_0$  ditolak (terdapat perbedaan) jika *sig.* < 0,05. Pada uji ini dibandingkan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif, dan antar kelompok perlakuan.

Tabel 4.5 Hasil uji lanjutan *Post Hoc* dengan tes Tukey HSD

(I) Nomer	(J) Nomer	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K <sub>(-)</sub>	K <sub>(+)</sub>	-26,000*	3,246	,000	-35,713	-16,287
	P <sub>1</sub>	-16,200*	3,246	,001	-25,913	-6,487
	P <sub>2</sub>	-9,400	3,246	,061	-19,113	,313
	P <sub>3</sub>	-3,200	3,246	,859	-12,913	6,513
K <sub>(+)</sub>	K <sub>(-)</sub>	26,000*	3,246	,000	16,287	35,713
	P <sub>1</sub>	9,800*	3,246	,047	,087	19,513
	P <sub>2</sub>	16,600*	3,246	,000	6,887	26,313
	P <sub>3</sub>	22,800*	3,246	,000	13,087	32,513
P <sub>1</sub>	K <sub>(-)</sub>	16,200*	3,246	,001	6,487	25,913
	K <sub>(+)</sub>	-9,800*	3,246	,047	-19,513	-,087
	P <sub>2</sub>	6,800	3,246	,261	-2,913	16,513
	P <sub>3</sub>	13,000*	3,246	,006	3,287	22,713
P <sub>2</sub>	K <sub>(-)</sub>	9,400	3,246	,061	-,313	19,113
	K <sub>(+)</sub>	-16,600*	3,246	,000	-26,313	-6,887
	P <sub>1</sub>	-6,800	3,246	,261	-16,513	2,913
	P <sub>3</sub>	6,200	3,246	,344	-3,513	15,913
P <sub>3</sub>	K <sub>(-)</sub>	3,200	3,246	,859	-6,513	12,913
	K <sub>(+)</sub>	-22,800*	3,246	,000	-32,513	-13,087
	P <sub>1</sub>	-13,000*	3,246	,006	-22,713	-3,287
	P <sub>2</sub>	-6,200	3,246	,344	-15,913	3,513

Hasil analisis *Post hoc* antara kelompok kontrol positif dan kontrol negatif didapatkan nilai *Sig.* 0,00 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna. Hasil analisis *Post hoc* antara kelompok P1 terhadap kontrol negatif didapatkan nilai *Sig.* 0,001 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara kelompok P1 dan kontrol negatif terdapat perbedaan proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok kontrol negatif dan kelompok P2 didapatkan hasil *Sig.* 0,061 (*Sig.* > 0,05) yang artinya signifikansi tidak bermakna, sehingga antara

kontrol negatif dan kelompok P2 tidak terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok kontrol negatif dan kelompok P3 didapatkan nilai *sig.* 0,859 (*Sig.* > 0,05) yang artinya signifikansi tidak bermakna, sehingga antara kelompok kontrol negatif dan kelompok P3 tidak terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok kontrol positif dan kelompok P1 nilai *sig.* 0,047 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara kontrol positif dan P1 terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok kontrol positif dan kelompok P2 didapatkan nilai *sig.* 0,00 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara kontrol positif dan P1 terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok kontrol positif dan kelompok P3 didapatkan nilai *sig.* 0,00 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara kontrol positif dan P3 terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok P1 dan kelompok P2 didapatkan nilai *sig.* 0,261 (*Sig.* > 0,05) yang artinya signifikansi tidak bermakna, sehingga antara kelompok P1 dan kelompok P2 tidak terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok P1 dan kelompok P3 didapatkan nilai *sig.* 0,006 (*Sig.* < 0,05) yang artinya signifikansi bermakna, sehingga antara P1 dan kelompok P3 terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna; antara kelompok P2 dan kelompok P3 didapatkan nilai *sig.* 0,344 (*Sig.* > 0,05) yang artinya signifikansi tidak bermakna, sehingga antara kelompok P2 dan kelompok P3 tidak terdapat perbedaan gambaran proliferasi sel pada kanker hepar yang bermakna.

## 4.2 Pembahasan

Keseimbangan sel pada jaringan (*tissue homeostasis*) dipengaruhi keseimbangan proliferasi sel dan apoptosis, tiap sel mempunyai kemampuan untuk mempertahankan jumlah sel dalam keadaan normal (berintegitas dengan *genome*). Bila terjadi ketidakseimbangan proliferasi dan apoptosis maka akan terjadi perkembangan tumor (Hartono, 2009). Kanker hepar merupakan salah satu tumor ganas yang menduduki posisi insiden tersering ke lima di seluruh dunia dan posisi ketiga yang paling sering menyebabkan kematian. Tingkat kematian yang tinggi ini berkaitan dengan pengobatan kanker hepar yang masih mahal, selain itu pengobatan untuk kanker hepar yang aman dan efektif masih belum ditemukan. Salah satu usaha untuk menurunkan prevalensi kanker hepar adalah dengan menggali sumber alam nabati yang secara empiris telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai pencegahan kanker. Salah satu sumber alam nabati tersebut adalah kedelai, yang merupakan bahan pangan sumber protein nabati utama bagi masyarakat (Muchtadi, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari peran sari kedelai sebagai agen kemopreventif kanker, melalui penghambatan proliferasi sel hepar. Penelitian ini menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina sebagai hewan uji dengan tujuan untuk meminimalkan variasi biologis antar hewan coba yang digunakan sehingga dapat memberikan respon relatif seragam (Syukri, 2008). Umur hewan coba pada penelitian adalah 8-12 minggu dengan alasan karena pada usia tersebut organ tikus sudah matang dan usia tersebut merupakan usia optimal seekor tikus, pada usia tersebut daya tahan tikus masih baik. Sebagai penginduksi kanker pada tikus digunakan 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) yang telah dibuktikan sebagai metode karsinogenesitas yang terbaik dan paling sensitif. Dosis yang digunakan adalah 4,2 mg/hari (Syukri, 2008). Pelarut DMBA yang digunakan adalah minyak wijen karena merupakan salah satu pelarut untuk bahan-bahan yang tidak larut dalam aquadest. Minyak wijen merupakan pelarut yang efektif dan tidak memberikan efek toksik sehingga tidak memberikan hasil positif palsu dalam proses menginduksi kanker dengan DMBA (Syukri, 2008). DMBA (7,12-Dimetilbenz(a)antrasen) merupakan senyawa kimia golongan hidrokarbon

aromatik polisiklik (PAHs) dimana di dalam hepar golongan ini dimetabolisme secara stereoselektif sehingga menghasilkan senyawa perantara yang bersifat optik aktif berupa epoksida, dihidrodiol dan dihidrodiol-epoksida yang memiliki sifat karsinogenik. Karena hepar memegang peranan penting dalam metabolisme senyawa tersebut, maka hepar sangat rawan terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh senyawa-senyawa tersebut (Wahyuni, 2011). Metabolit aktif dari DMBA berikatan dengan enzim p450 yang diekspresikan oleh hati dan payudara yang kemudian terbentuk DNA *adduct* yang mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong terjadinya pembelahan sel kanker. Pemberian DMBA dilakukan secara peroral sehingga memungkinkan dapat menyerang beberapa jaringan pada hewan uji (Mun'im, 2006).

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratoris. Prosedur eksperimental bermaksud untuk membandingkan efek variasi variabel bebas terhadap variabel tergantung melalui manipulasi atau pengendalian variabel bebas tersebut (Azwar, 2010). Rancangan penelitian menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Dalam rancangan penelitian ini kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dibentuk dengan prosedur random sehingga keduanya dianggap setara, yaitu karakteristik antar semua unit populasi adalah sama (Aswar, 2010). Pengukuran awal tidak dilakukan karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi, sehingga dapat dikembangkan rancangan eksperimental tanpa ada pengukuran awal (*pretest*), tetapi hanya pengukuran akhir (*post test*) (Pratiknya, 2003).

Teknik pengambilan sampel adalah menggunakan *simple random sampling*, yaitu cara pengambilan sampel dimana setiap unsur yang membentuk populasi diberi kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel (Notoatmojo, 2002). Adapun *simple random* yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan undian (Azwar, 2010). Pengambilan sampel dengan cara ini hanya dapat dilakukan pada populasi yang homogen. Apabila populasinya tidak homogen maka tidak akan diperoleh sampel yang representatif. Selain menghendaki homogenitas, cara ini juga hanya praktis jika digunakan pada populasi yang tidak terlalu besar (Azwar, 2010).

Hewan uji dibagi dalam lima kelompok;  $K_{(+)}$  (kontrol positif);  $K_{(-)}$  (kontrol negatif),  $P_1$  (perlakuan 1),  $P_2$  (perlakuan 2),  $P_3$  (perlakuan 3). Kelompok kontrol positif diberi 4,2 mg DMBA per hari, kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun hanya pemberian pur tiap harinya, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 diberikan DMBA 4,2 mg/hari dan sari kedelai dengan dosis bertingkat (5 mg/hari, 10 mg/hari dan 20 mg/hari. Setelah 30 hari waktu perlakuan, tikus dikorbankan kemudian diambil organ hepar untuk dijadikan sediaan histopatologi. Sediaan histopatologi diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dan dilakukan per 10 lapang pandang.

#### 4.2.1 Pengaruh Sari Kedelai Terhadap Proliferasi Sel pada Kanker Hepar

Sari kedelai yang digunakan dalam penelitian ini berfungsi sebagai antioksidan sekaligus sebagai antikanker. Sari kedelai bekerja sebagai antioksidan melalui inhibisi aktivitas isoenzim sitokrom P450, induksi enzim *glutathione S-transferase* (GST), dan inhibisi oksidatif. Inhibisi aktivitas isoenzim sitokrom P450 yaitu *Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1* (CYP1A1) dan *Cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1* (CYP1B1) menyebabkan karsinogen menjadi tidak reaktif. CYP1A1 merupakan pemetabolisme senyawa-senyawa PAH (*polycyclic aromatic hydrocarbon*) yang salah satunya adalah DMBA (Susilowati, 2010).

Kelebihan stimulus atau kekurangan inhibitor akan menyebabkan pertumbuhan sel yang tak terkontrol atau terjadinya kanker. Faktor yang mendasari mekanisme dan pengaturan proliferasi sel adalah siklus sel. Isoflavon sari kedelai dalam mempengaruhi proliferasi sel hepar adalah melalui penghambatan siklus sel. Siklus sel akan dimulai apabila *cyclin dependent kinase* (CDK) teraktivasi oleh perubahan kadar dan aktivitas dari *cyclin*. Pada sel kanker, pertumbuhan sel melalui siklus selnya tidak sesuai dengan regulasi siklus sel normal (Hartono, 2009).

Pada kanker hepar, regulasi siklus sel yang tidak normal tersebut disebabkan antara lain oleh karena ekspresi berlebihan dari reseptor faktor pertumbuhan

HER2, mutasi di jalur penghantar sinyal supresor gen TGF- $\beta$ , mutasi gen TP53 (Hartono, 2009; Kumar *et al.*, 2007). TGF- $\beta$  merupakan gen supresor proliferasi sel. Pada kanker hepar terjadi mutasi di jalur penghantar sinyal TGF- $\beta$  sehingga sinyal antiproliferasi dari reseptor ke inti sel terhambat (Kumar *et al.*, 2007). Sari kedelai bekerja meningkatkan sintesis atau mengurangi degradasi dari TGF- $\beta$  (Darma *et al.*, 2008).

Gen TP 53 adalah salah satu gen lain selain TGF- $\beta$  yang dapat memberikan sinyal antiproliferasi, namun gen ini mempunyai efek khusus lainnya yakni mengendalikan apoptosis. TP53 mendeteksi kerusakan DNA melalui mekanisme yang tidak diketahui dan membantu perbaikan DNA dengan menyebabkan penghentian siklus sel di fase G<sub>1</sub> melalui CDKI p21 dan memicu gen yang memperbaiki DNA. Genistein pada kedelai dapat meningkatkan ekspresi gen TP53 (Darma, 2008), sehingga memberikan waktu bernafas bagi suatu sel untuk memperbaiki DNA nya dengan penghentian pada fase G<sub>1</sub> dan menginduksi protein tertentu seperti GADD45 yang membantu perbaikan DNA melalui penghentian pertumbuhan dan kerusakan DNA (Kumar *et al.*, 2007).

Beberapa penelitian terdahulu tentang sari kedelai dan pengaruhnya terhadap kanker telah banyak diteliti. *Genistein* pada kedelai merupakan analog alami dari obat *tamoxifen*, yang merupakan *anti-estrogenik* yang digunakan sebagai terapi kanker mamae. *Tamoxifen* bekerja memblok kemampuan *estrogen* untuk menstimulasi adanya perubahan pada sel payudara yang hasilnya terlihat pada formasi tumor, *genistein* memperlihatkan kemampuan untuk menghancurkan enzim kanker tertentu yang merubah sel normal menjadi sel kanker. *Genistein* pada kedelai secara langsung menghentikan formasi dan pertumbuhan kanker. *Genistein* pada kedelai juga menghambat aktivitas enzim yang lain yang mengontrol replikasi selular. Salah satunya adalah DNA topoisomerase, yang dihasilkan sebagai enzim spesifik setelah diberi paparan obat kemoterapeutik untuk melawan kanker (Elkins, 2000).

Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan proliferasi sel yang bermakna. Rerata proliferasi sel pada kanker hepar, pada kontrol negatif memiliki rerata paling rendah, sedangkan

kontrol positif memiliki rerata proliferasi sel pada kanker paling tinggi. Ini dikarenakan kontrol positif hanya diberikan DMBA sebagai penginduksi kanker, sehingga jumlah proliferasi sel terbesar. Sedangkan kontrol negatif tidak diberi DMBA ataupun sari kedelai.

Pada uji *Post Hoc* antara kontrol negatif dan kontrol positif didapatkan perbedaan hasil bermakna. Kontrol positif yang memiliki rerata tertinggi menunjukkan aktivitas proliferasi yang paling tinggi, berkenaan dengan pemberian DMBA. Aktivitas metabolit DMBA yang membentuk DNA adduct tidak dihambat karena pada kelompok kontrol ini sari kedelai sebagai zat yang dapat meningkatkan detoksifikasi tidak diberikan sehingga sel terus aktif berproliferasi tanpa adanya zat inhibitor dari aktivitas proliferasi sel ini.

Selanjutnya antara kelompok kontrol negatif dan P1 didapatkan pula perbedaan hasil bermakna antara kontrol negatif dan P1. Kelompok P1 merupakan kelompok pemberian dosis sari kedelai minimal, hasilnya tidak mendekati gambaran kontrol negatif. Aktivitas penurunan proliferasi sudah dapat terlihat namun dosis 5 mg/hari belum dapat digunakan sebagai dosis yang dapat menurunkan angka proliferasi secara optimal. Signifikansi antara kelompok kontrol negatif, P2 dan P3 didapatkan perbedaan gambaran proliferasi yang tidak bermakna, yang diartikan bahwa sari kedelai berpengaruh terhadap aktivitas proliferasi sel hepar, meskipun secara statistik tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Pada dosis 10 mg/hari dan 20 mg/hari gambaran aktivitas proliferasi sel hepar yang terjadi pada P2 dan P3 mampu mencapai gambaran kelompok kontrol negatif (perawatan tanpa induksi DMBA dan sari kedelai). Pada dosis ini mampu meningkatkan gen supresor proliferasi, sehingga penurunan aktivitas proliferasi sel pada kanker hepar dapat terjadi secara signifikan.

Kelompok kontrol positif terhadap P1, P2, P3 menunjukkan perbedaan gambaran proliferasi sel yang bermakna. Hal ini terjadi karena kontrol positif merupakan kelompok yang hanya diinduksi DMBA tanpa pemberian sari kedelai. Sehingga gambaran semua kelompok tidak ada yang mendekati kontrol positif seiring pemberian sari kedelai pada kelompok perlakuan disamping induksi DMBA.

Antara kelompok P1 dan kelompok P2 didapatkan hasil gambaran proliferasi sel hepar yang tidak bermakna. Hal ini menunjukkan gambaran proliferasi pada P1 sama dengan kelompok P2. Yang artinya pada dosis 5 mg/hari tersebut yang tidak lain merupakan dosis minimal belum dapat mencapai gambaran proliferasi normal seperti kontrol negatif. Sehingga dosis ini bukan merupakan dosis yang optimal, seperti yang dijelaskan pada pembahasan sebelumnya. Kemudian antara P1 dan P3 perbedaan gambaran proliferasi yang didapatkan bermakna, di mana dosis P1 belum bisa menyamai keefektifitasan dosis P3 yang merupakan dosis optimal.

Kelompok P2 dan kelompok P3 didapatkan perbedaan hasil gambaran proliferasi sel hepar yang tidak bermakna. Disimpulkan gambaran proliferasi sel pada P2 mendekati gambaran P3. Kedua dosis ini pada juga menunjukkan gambaran yang dapat mendekati aktivitas proliferasi sel pada kontrol negatif. Dalam rerata jumlah proliferasi sel ditunjukkan bahwa nilai terendah didapatkan pada P3 yang merupakan dosis terbesar pada penelitian ini. Sehingga disimpulkan bahwa 20 mg/hari merupakan dosis optimal yang dapat menurunkan aktivitas proliferasi sel pada kanker hepar.

Beberapa kelompok menghasilkan hasil yang tidak signifikan dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti stress yang dialami oleh tikus wistar dalam pemberian DMBA ataupun sari kedelai melalui sonde secara paksa. Kandang yang tidak luas sehingga ruang gerak tikus terbatas. Sehingga dua hal ini dapat memicu ketidaknyamanan tikus dan membuat tikus stres dan menyebabkan kekebalan tubuh tikus menurun. Sistem imun yang turun menyebabkan produksi antioksidan turun, sehingga kemampuan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dapat berkurang seiring penurunan jumlah antioksidan. Pada kondisi tubuh yang seperti ini, sel tubuh rentan untuk mengalami kerusakan akibat serangan dari benda asing maupun dari radikal bebas itu sendiri. Rancangan penelitian *post test only group design*, sehingga peneliti tidak bisa mengetahui keadaan hepar tikus sebelum perlakuan apakah normal atau sudah mengalami kerusakan, karena tidak memungkinkannya dilakukan pemeriksaan histopatologi sebelum perlakuan.

## **BAB 5. PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan pembahasan, kesimpulan yang dapat disimpulkan bahwa:

- a. Sari kedelai dapat menghambat proliferasi sel pada kanker hepar.
- b. Pemberian sari kedelai dengan dosis bertingkat (5mg/hari, 10mg/hari, dan 20mg/hari) berpengaruh terhadap hambatan proliferasi sel pada kanker hepar dengan hasil yang berbeda secara signifikan dimana proliferasi sel pada kanker hepar semakin berkurang pada pemberian dosis sari kedelai yang lebih besar.

### **5.2 Saran**

- a. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai sari kedelai terhadap hambatan proliferasi sel pada kanker hepar.
- b. Diperlukan eksplorasi lebih lanjut tentang profil senyawa aktif yang terkandung dalam sari kedelai terkait dengan hambatan proliferasi sel.
- c. Diperlukan penelitian lebih lanjut (uji klinis, uji toksisitas, dll.) agar sari kedelai dapat digunakan sebagai alternatif penatalaksanaan kanker hepar secara luas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson R. L., dan Wolf W. J. 1995. *Compositional Changes In Trypsin Inhibitors, Phytic Acid, Saponins And Isoflavones Related To Soybean Processing*. <http://ddr.nal.usda.gov/1/IND20580245>
- Azwar, S. 2010. *Metode Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Badan POM RI. 2007. *Food Watch Sistem Keamanan Pangan Terpadu Aflatoksin*. <http://www.pom.go.id/surveventsafila2007Vol2>
- Breast Cancer & The Environment Research Centers. 2007. *Early Life Exposure To The Phytoestrogen And Breast Cancer Risk In Later Years Fact Sheet on The Phytoestrogen Genistein*. [http://www.zerobreastcancer.org/research/bcerc\\_factsheets\\_phytoestrogen\\_genistein](http://www.zerobreastcancer.org/research/bcerc_factsheets_phytoestrogen_genistein)
- Budiarto, E. 2001. *Biostatistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat*. Edisi 2. Jakarta: EGC.
- Darma, Pratama, dan Sukamdi. 2008. *Mengungkap Potensi Tersembunyi Kedelai (Glycine Max) Sebagai Agen Kemopreventif Yang Potensial*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hlm 16-20.
- Desen, W. 2008. *Buku Ajar Onkologi Klinis*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Elkins, R. 2000. Genistein Potent Soy Isoflavone. <http://www.rosecamp.co.nz/media/GenisteinEBookRElkins>
- Hartono, N. W. B. 2009. *Pengaruh Alpina galanga (Lengkuas) Terhadap Aktivitas Proliferasi Sel Pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H*. Universitas Diponegoro. [http://eprints.undip.ac.id/24719/1/Nani\\_Widjaja\\_Budi\\_Hartono](http://eprints.undip.ac.id/24719/1/Nani_Widjaja_Budi_Hartono)
- Hidayat, H. 2007. *Perbedaan Profil Klinik Karsinoma Hepatoseluler Yang Terinfeksi Kronik Virus Hepatitis B Dengan Virus Hepatitis C*. [http://eprints.undip.ac.id/226801/Hendri\\_Hidayat](http://eprints.undip.ac.id/226801/Hendri_Hidayat)
- Kumar, V., Cotran, R. S., dan Robbins, S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC. Hlm 559-565.

Lamerz, Hayes, Hoffman, Lohe, Shiraton, dan Taketa. 2007. *Natinal Academy Of Clinical Biochemistry Guidelines For The Use Of Tumor Maker In Primary Liver Cancer*.

[http://www.aacc.orgSiteCollectionDocumentsNACBLMPG...chp3d\\_liver](http://www.aacc.orgSiteCollectionDocumentsNACBLMPG...chp3d_liver)

Manikandan, Murugan, Abbas, Abraham, dan Nagini. 2007. *Ocimum sanctum Linn. (Holy Basil) ethanolic leaf extract protects against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced genotoxicity, oxidative stress, and imbalance in xenobiotic – metabolizing enzymes*.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17887944>. 2012.

Muchtadi, D. 2010. *Kedelai Komponen Untuk Kesehatan*. Bandung: Alfabeta

Mun'im, A., Andrajati, R., dan Susiowati, H. 2006. *Uji Hambatan Tumorigenesis Sari Buah Merah (Pandanus Conoideuslam) Terhadap Tikus Putih Betina Yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)*. *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. III, No. 3*. ISSN: 1693-9883.

Notoadmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

Pratiknya, A.W. 2003. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

Putz, R., dan Pabst, R. 2006. *Atlas Anatomi Manusia Sobotta edisi 22 jilid 2*. Jakarta: EGC.

Rasyid, A. 2006. *Pentingnya Peranan Radiologi Dalam Deteksi Dini Dan Pengobatan Kanker Hati Primer*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.

Ryder, S., D. 2003. *Guidelines For The Diagnosis And Treatment Of Hepatocellular Carcinoma In Adults*.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1867754/pdf/v052p0iii1>

Sander, M. A., *Atlas Berwarna Patologi Anatomi jilid 2*. Jakarta: PT Grafindo Persada.

Snell, R. S. 2006 *Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran Edisi 6*. Jakarta: EGC. Hlm 240-244.

Stubert, J. & Gerber, B. 2009. *Isoflavone - Mechanism of Action and Impact on Breast Cancer Risk*. Germany: Department of Obstetrics and Gynecology, University of Rostock.

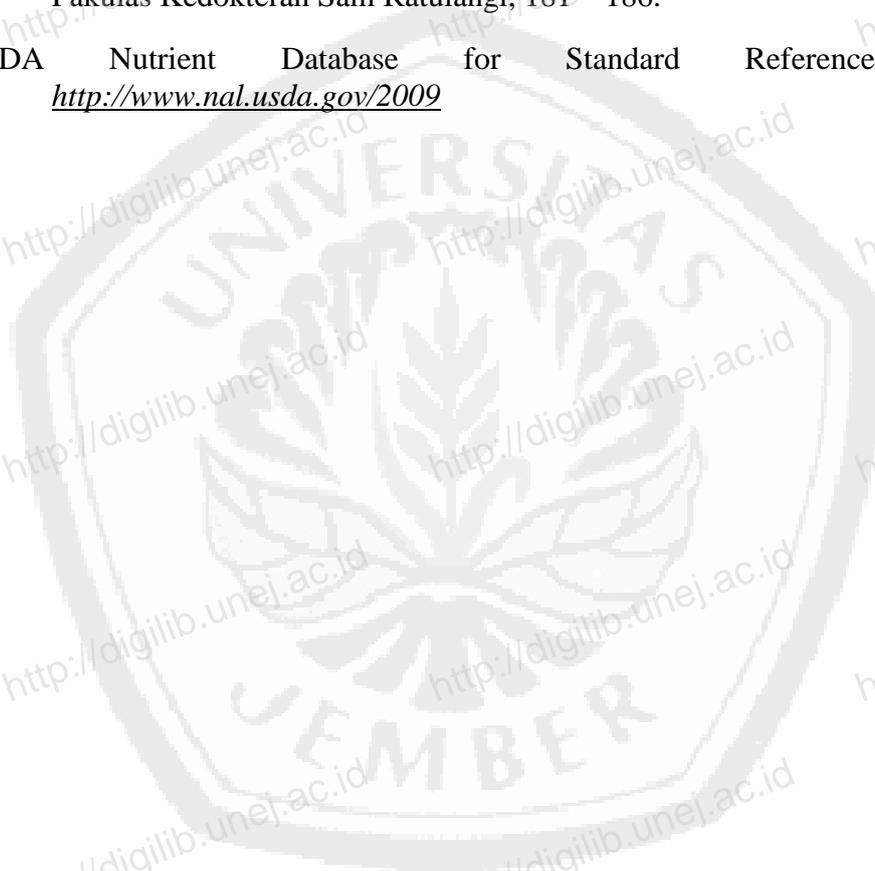
Sudoyo, Setiyohadi, Alwi, Simadibrata, dan Setiati. 2007. *Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III Edisi IV*. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.

Sukardja, I. D.G. 2000. *Onkologi Klinik Edisi II*. Surabaya. Airlangga University Press.

Susilowati, 2010. *Efek Kemopreventif Ekstrak Metanol Kulit Kayu Nangka (Artocarpus Heterophylla Lmk.) Pada Karsinogenesis Kanker Payudara Tikus Betina yang Diinduksi DMBA*.  
[etd.eprints.ums.ac.id](http://etd.eprints.ums.ac.id)

Tanudjaja N,George. 2008. *Anatomi Makroskopis Hepar*. Manado: BIK Biomed Fakultas Kedokteran Sam Ratulangi, 181 – 186.

USDA Nutrient Database for Standard Reference. 2009.  
<http://www.nal.usda.gov/2009>



**LAMPIRAN****A. Skema pengecatan spesimen jaringan paru dengan metode PCNA**

## B. Tampilan Hasil Analisis Menggunakan SPSS 18

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Nomer	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Proliferasi Sel	1	,178	5	,200*	,979	5	,927
kanker Hepar	2	,300	5	,161	,841	5	,168
	3	,217	5	,200*	,913	5	,485
	4	,134	5	,200*	,998	5	,998
	5	,203	5	,200*	,973	5	,896

a. Lilliefors Significance Correction

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

Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode *Kolmogorov-Smirnov* pada SPSS18

### Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Proliferasi Sel Kanker Hepar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,123	4	20	,973

Hasil Uji Homogenitas Menggunakan Metode *Levene-static* pada SPSS 18

### ANOVA

Jumlah Proliferasi Sel Kanker Hepar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2182,160	4	545,540	20,711	,000
Within Groups	526,800	20	26,340		
Total	2708,960	24			

Hasil Analisis *One Way* ANOVA pada SPSS 18

### Multiple Comparisons

Jumlah Proliferasi Sel Kanker Hepar

Tukey HSD

(I) Nomer	(J) Nomer	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-26,00000*	3,24592	,000	-35,7130	-16,2870
	3	-16,20000*	3,24592	,001	-25,9130	-6,4870
	4	-9,40000	3,24592	,061	-19,1130	,3130
	5	-3,20000	3,24592	,859	-12,9130	6,5130
2	1	26,00000*	3,24592	,000	16,2870	35,7130
	3	9,80000*	3,24592	,047	,0870	19,5130
	4	16,60000*	3,24592	,000	6,8870	26,3130
	5	22,80000*	3,24592	,000	13,0870	32,5130
3	1	16,20000*	3,24592	,001	6,4870	25,9130
	2	-9,80000*	3,24592	,047	-19,5130	-,0870
	4	6,80000	3,24592	,261	-2,9130	16,5130
	5	13,00000*	3,24592	,006	3,2870	22,7130
4	1	9,40000	3,24592	,061	-,3130	19,1130
	2	-16,60000*	3,24592	,000	-26,3130	-6,8870
	3	-6,80000	3,24592	,261	-16,5130	2,9130
	5	6,20000	3,24592	,344	-3,5130	15,9130
5	1	3,20000	3,24592	,859	-6,5130	12,9130
	2	-22,80000*	3,24592	,000	-32,5130	-13,0870
	3	-13,00000*	3,24592	,006	-22,7130	-3,2870
	4	-6,20000	3,24592	,344	-15,9130	3,5130

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

Hasil Uji Analisis lanjutan menggunakan *Tukey HSD* pada SPSS 18

## C. Data penghitungan tiap lapang pandang

Kelompok	Tikus	Lapang Pandang										Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
K <sub>(-)</sub>	1	3	3	2	4	3	3	4	2	3	3	30
	2	2	2	4	2	4	2	4	1	3	2	26
	3	0	3	4	1	3	5	2	2	1	1	22
	4	2	2	1	0	3	2	1	2	3	1	17
	5	2	0	0	4	2	4	2	2	2	2	20
K <sub>(+)</sub>	1	6	7	3	4	6	5	5	2	3	4	45
	2	5	7	5	9	3	6	4	3	5	2	49
	3	8	5	7	9	4	5	6	6	3	4	57
	4	3	5	7	5	8	2	6	5	5	2	48
	5	8	3	6	5	6	4	1	5	3	5	46
P <sub>1</sub>	1	5	4	3	5	2	6	7	3	2	2	39
	2	4	3	5	6	3	5	1	5	2	1	35
	3	2	4	4	6	7	6	5	5	2	4	45
	4	5	4	7	2	3	0	3	2	5	2	33
	5	4	6	3	2	6	4	7	6	4	2	44
P <sub>2</sub>	1	2	1	3	4	5	5	6	3	5	1	35
	2	2	6	4	6	3	4	5	3	4	3	40
	3	1	0	0	4	5	3	1	6	4	1	25
	4	4	2	3	2	5	2	2	5	1	4	30
	5	3	5	4	0	1	5	6	4	4	0	32
P <sub>3</sub>	1	1	2	3	4	6	5	1	4	3	3	32
	2	2	3	4	3	1	5	2	1	2	3	26
	3	1	0	3	4	2	3	2	0	3	1	19
	4	3	2	0	1	4	5	4	3	3	0	25
	5	6	4	0	4	1	3	2	3	2	4	29