



**PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT
PROLIFERASI SEL PADA KANKER PARU TIKUS
WISTAR YANG DIINDUKSI 7,12-
Dimethylbenz(a)anthracene
(DMBA)**

SKRIPSI

Oleh

**MH Yuda Alhabsy
NIM 082010101036**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT
PROLIFERASI SEL PADA KANKER PARU TIKUS
WISTAR YANG DIINDUKSI 7,12–
Dimethylbenz(a)anthracene
(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

**MH Yuda Alhabsy
NIM 082010101036**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

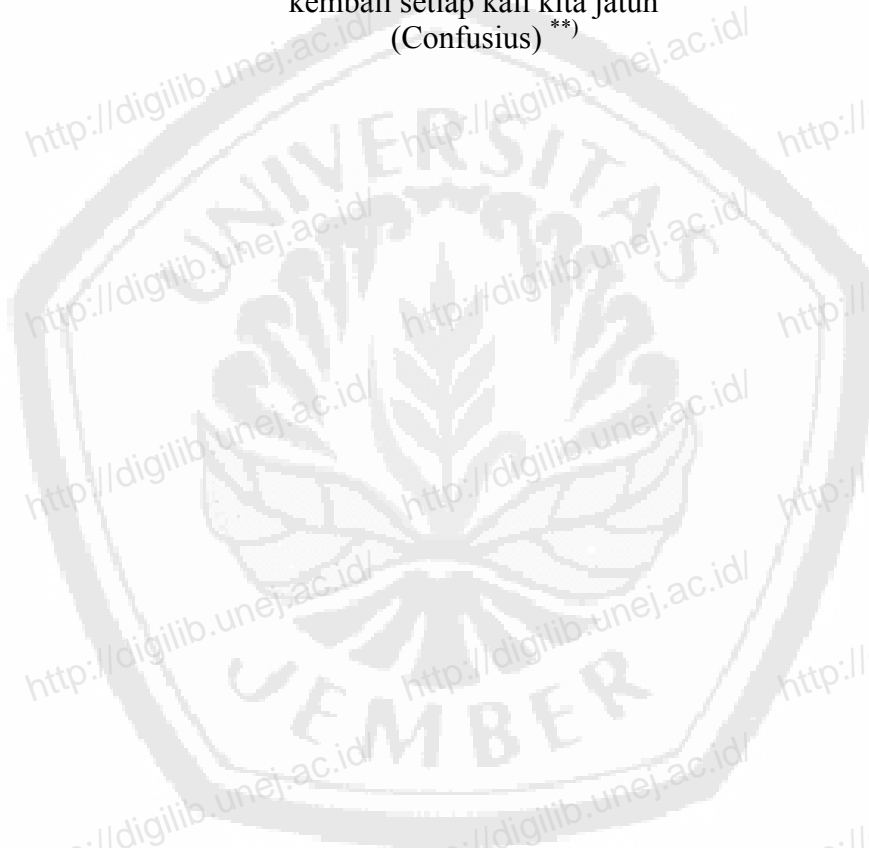
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas ridho dan amanah-Nya sehingga saya bisa mendapatkan kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini. Semoga barokah atas semua yang saya kerjakan selama ini;
2. Rasulullah Muhammad SAW, yang telah membawa pencerahan sehingga dapat sampai pada saya saat ini;
3. Ibunda Sri Wibowoningsih dan Ayahanda Hadi Kusairi tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan dan kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang telah dilakukan untuk setiap waktu. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesar saya;
4. Kakak tersayang, Kiki Prysta Arysandy dan Iwan Hadi Mulyono yang selalu memberi motivasi untuk tetap berjuang;
5. Yang tersayang, Anindya Ayu P. yang telah menemani, memberikan doa, dukungan dan motivasi terbaik untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
6. Keluarga besar Imam Tauhid dan keluarga besar Pringgokusumo yang selalu mendoakan, mendukung, dan mendorong keinginan saya untuk menjadi dokter;
7. Guru-guru terhormat, yang telah memberikan ilmu dan mendidik dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya orang yang berilmu dan bertaqwa;
8. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas seluruh kesempatan menimba ilmu yang berharga ini.

MOTTO

“Hasbunallah wa ni'mal wakil”
(QS. Ali Imron 3:173) *)

“Kebanggaan kita yang terbesar adalah bukan tidak pernah gagal, tetapi bangkit kembali setiap kali kita jatuh”
(Confusius) **)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

***) Suryanto, Wahyu. 2012. *Kata Mutiara Motivasi Hidup*. Student and Staff Bogor Agricultural University: Universitas Bogor

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : MH Yuda Alhabsy

NIM : 082010101036

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Paru Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (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, 22 mei 2012

Yang menyatakan,

MH Yuda Alhabsy

NIM 082010101036

SKRIPSI

PENGARUH SARI KEDELAI SEBAGAI PENGHAMBAT PROLIFERASI SEL
PADA KANKER PARU TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI
7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)



Oleh

MH Yuda Alhabsy
NIM 082010101036

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 Paru Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 22 Mei 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Penguji I

dr.Dina Helianti, M.Kes

NIP 197411042000122001

Penguji II

dr.M Ihwan Narwanto, M.Sc

NIP 198002182005011001

Penguji III

dr.Heni Fatmawati, M.Kes

NIP 197602122005012001

Penguji IV

dr.Nindya Shinta R., M.Ked

NIP 197808312005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr.Enny Suswanti, M.Kes

NIP 19700214199903200

RINGKASAN

Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Paru Tikus Wistar Yang Diinduksi 7,12-Dimethylebenz(a)anthracene (DMBA); MH Yuda Alhabsy, 082010101036; 2012: halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Saat ini sedang gencar dilakukan pengembangan penelitian untuk mengobati dan mencegah perjalanan dari kanker. Beberapa pengobatan yang dapat dilakukan adalah dengan pembedahan, radioterapi dan kemoterapi. Modalitas terapi tersebut bukanlah tidak ada efek samping.

Saat ini mulai dikembangkan pengobatan dan pencegahan untuk kanker yang berasal dari alam dapat dikonsumsi dan aman bagi tubuh. Salah satu tanaman yang dipercaya dapat mencegah sekaligus menghambat proliferasi dari sel kanker adalah kedelai. Kedelai merupakan tanaman yang termasuk suku polong-polongan (*Leguminoceace*). Tanaman ini cukup banyak mengandung isoflavon yang diyakini sebagai anti kanker dan sebagai antiinflamasi (Simoda dan Hamada, 2010). Isoflavon termasuk dalam senyawa fitoestrogen yang memiliki fungsi sebagai enzim penghambat kanker, antioksidan, dan anti estrogen (Kim *et al.*, 2006). Mekanisme kerja dari kedelai yang dapat menginduksi apoptosis sel dan menghambat proliferasi sel dapat mengindikasikan bahwa kedelai dapat sebagai agen kemopreventif (Darma *et al.*, 2008).

Tingginya kandungan isoflavon dalam kedelai dapat menjadi dasar pemanfaatan sari kedelai sebagai pencegah kanker paru. 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 kemopreventif baru termasuk untuk kanker paru, maka dilakukan penelitian ilmiah lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap gambaran proliferasi sel pada kanker paru tikus wistar yang diinduksi 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (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 P₁ (pemberian DMBA dan sari kedelai dosis 5mg/hari), P₂ (Pemberian DMBA dan sari kedelai dosis 10 mg/hari), dan P₃ (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 jumlah gambaran proliferasi sel paru tikus masing-masing kelompok adalah K₍₋₎ = 25,8, K₍₊₎ = 51, P₁ = 41,8, P₂ = 35,2, P₃ = 25,2.

Berdasarkan penelitian, sari kedelai terbukti mempunyai pengaruh terhadap proliferasi sel paru, yaitu dapat mengurangi proliferasi sel dengan mendetoksifikasi karsinogen reaktif menjadi non reaktif melalui peningkatan ekspresi *glutathion S-transferase* (GST), penundaan siklus sel, dan meningkatkan ekspresi gen-gen antiproliferasi seperti TGF β dan TP53. Dari hasil penelitian juga didapatkan dosis optimal sari kedelai dalam menghambat proliferasi sel yang berlebihan adalah sebesar 20 mg/hari.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Sari Kedelai Sebagai Penghambat Proliferasi Sel Pada Kanker Paru Tikus Wistar Yang Diinduksi *Dimethylebenz(a)anthracene* (DMBA)” Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Heni Fatmawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Nindya Shinta Rumastika, M.Ked selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir saya ini;
3. dr. Dina Helianti, M.Kes dan dr. Muhammad Ihwan Narwanto, M.Sc sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Muhammad Ihwan Narwanto, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ibunda Sri Wibowoningsih dan ayahanda Hadi Kusairi tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus;
6. Kakak tercinta, Kiki Prysta Arysandy dan Iwan Hadi Mulyono yang selalu memberikan motivasi dan dukungannya;
7. Yang tersayang, Anindya Ayu P. yang telah menemani, memberikan doa, dukungan dan motivasi terbaik untuk menyelesaikan tugas akhir ini;

8. Rekan penelitian serta teman-teman terbaik saya, Delina, Marsel, Dhea, Ellen, Raras, Yonata, Alfa, Faliq, Taufiq, Amin, Rahde, Putri, Dyna, Freycy, Rizal, Afif yang telah membantu, bekerjasama dan selalu memberikan dorongan serta semangat;
9. Teman-teman The Doctor's 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi gelar dokter;
10. Guru-guru di TK Kadijah 31, SDN Jambewangi 5, SMPN 2 Genteng, SMAN 2 Genteng, serta 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 Murdock, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
12. Keluarga besar, Wisma Wijaya Mastrip 2 No. 73 yang telah menjadi teman terbaik dan mendukung terselesainya tugas akhir ini;
13. 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, 22 Mei 2012

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN BIMBINGAN | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan Penulisan | 2 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Paru | 4 |
| 2.1.1 Anatomi dan Fisiologi paru | 4 |
| 2.1.2 Vaskularisasi, Inervasi dan Aliran Limfatik Paru | 7 |
| 2.1.3 Histologi Paru | 8 |
| 2.1.4 Pengendalian Proliferasi Sel Paru Normal Pada Siklus Sel | 10 |
| 2.2 Kanker Paru | 12 |
| 2.2.1 Epidemiologi | 12 |

| | | |
|-------------------------------------|---|----|
| 2.2.2 | Faktor Resiko..... | 12 |
| 2.2.3 | Etiologi dan Patogenesis..... | 13 |
| 2.2.4 | Morfologi dan Manifestasi Klinis..... | 14 |
| 2.2.5 | Stadium Kanker Paru..... | 16 |
| 2.2.6 | Prinsip Terapi..... | 17 |
| 2.2.7 | Prognosis Kanker Paru..... | 18 |
| 2.3 | DMBA (712-Dimethylebenz(a)anthracene) | 19 |
| 2.4 | Kedelai | 21 |
| 2.4.1 | Taksonomi Kedelai..... | 21 |
| 2.4.2 | Morfologi Kedelai..... | 21 |
| 2.5 | Kandungan dan Manfaat Kedelai pada Kanker Paru | 24 |
| 2.6 | Kerangka Konseptual | 26 |
| 2.7 | Hipotesis Penelitian | 27 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | | 28 |
| 3.1 | Jenis Penelitian | 28 |
| 3.2 | Rancangan Penelitian | 28 |
| 3.3 | Besar Sampel | 29 |
| 3.4 | Tempat dan Waktu Penelitian | 30 |
| 3.4.1 | Tempat Penelitian..... | 30 |
| 3.4.2 | Waktu Penelitian..... | 30 |
| 3.5 | Variabel Penelitian | 31 |
| 3.5.1 | Variabel Bebas..... | 31 |
| 3.5.2 | Variabel Terikat..... | 31 |
| 3.5.3 | Variabel Terkendali..... | 31 |
| 3.6 | Definisi Operasional Variabel | 31 |
| 3.7 | Alat dan Bahan Penelitian | 32 |
| 3.7.1 | Alat Penelitian..... | 32 |
| 3.7.2 | Bahan Perlakuan..... | 32 |
| 3.8 | Prosedur Penelitian | 32 |
| 3.8.1 | Perlakuan Hewan Coba..... | 32 |
| 3.8.2 | Pengambilan dan Penyimpanan Jaringan Paru..... | 33 |

| | | |
|-----------------------|--|-----------|
| 3.8.3 | Pembuatan Sediaan Histopatologi Jaringan Paru | 33 |
| 3.8.4 | Pengamatan Sediaan Histopatologi Jaringan Paru | 34 |
| 3.9 | Analisis Data Penelitian | 34 |
| 3.10 | Alur Penelitian | 36 |
| BAB 4. | HASIL DAN PEMBAHASAN | 37 |
| 4.1 | Hasil Penelitian | 37 |
| 4.1.1 | Data Hasil Penelitian | 37 |
| 4.1.2 | Hasil Uji Analisis | 41 |
| 4.2 | Pembahasan | 46 |
| BAB 5. | KESIMPULAN DAN SARAN | 52 |
| 5.1 | Kesimpulan | 52 |
| 5.2 | Saran | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 53 |
| LAMPIRAN | | 57 |

DAFTAR TABEL

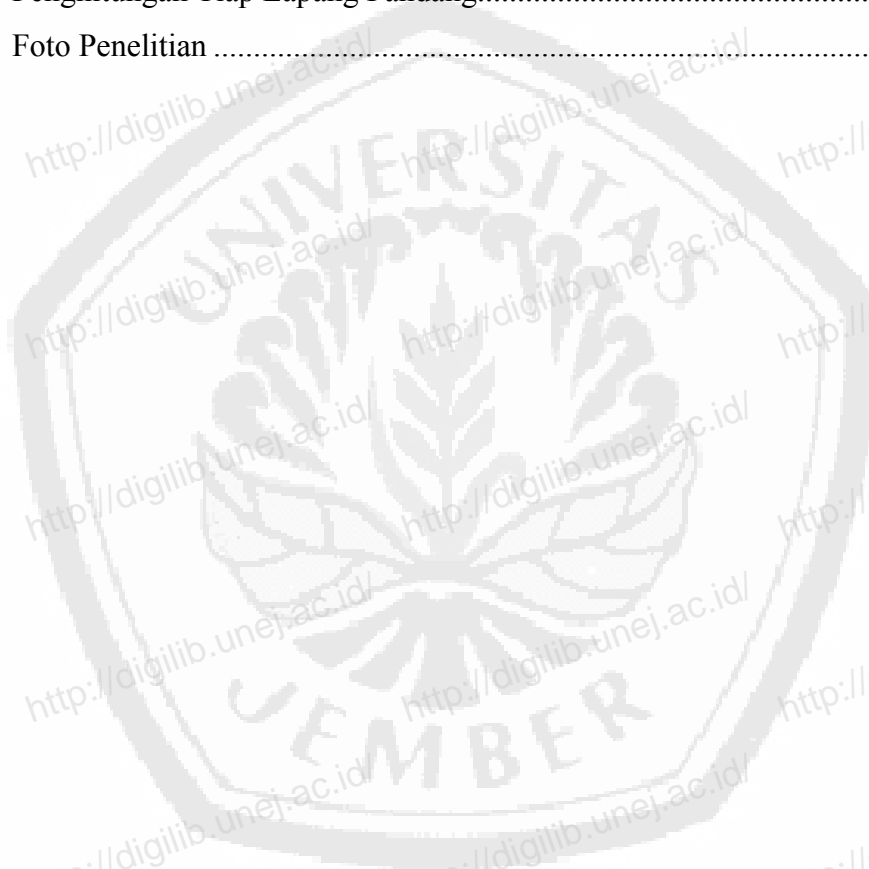
| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Pembagian Lobus dan Segmen Paru | 4 |
| 2.2 Stadium Kanker Paru Klasifikasi TNM | 16 |
| 2.3 Pengelompokan Stadium Kanker Paru | 17 |
| 2.4 Angka Harapan Hidup Penderita Kanker Paru | 19 |
| 2.5 Komposisi Kedelai | 24 |
| 2.6 Perbandingan Protein Kedelai dengan Bahan Makanan Lain | 25 |
| 3.1 Kelompok Perlakuan | 33 |
| 4.1 Rerata Proliferasi Sel | 37 |
| 4.2 Hasil Uji Normalitas | 41 |
| 4.3 Hasil Uji Homogenitas | 41 |
| 4.4 Hasil Analisis Data Regresi Linier | 42 |
| 4.5 Besar Pengaruh Variabel Bebas Terhadap Variabel Terikat | 42 |
| 4.6 Hasil Data <i>One Way</i> ANOVA | 43 |
| 4.7 Hasil Uji Lanjutan | 44 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Anatomi saluran pernapasan manusia | 5 |
| 2.2 Histologi bronkus | 9 |
| 2.3 Ilustrasi skematik peran siklin, CDK, dan CDKI | 11 |
| 2.4 Alur potensial metabolik pada DMBA | 20 |
| 2.5 Kerangka Konseptual | 26 |
| 3.1 Skema rancangan penelitian | 29 |
| 3.2 Skema alur penelitian | 36 |
| 4.1 Diagram rerata proliferasi sel paru | 38 |
| 4.2 Gambaran histopatologi kanker paru | 39 |
| 4.3 Gambaran proliferasi sel paru | 40 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| A. Skema pengecatan spesimen..... | 57 |
| B. Tampilan hasil analisis..... | 59 |
| C. Penghitungan Tiap Lapang Pandang..... | 62 |
| D. Foto Penelitian..... | 63 |



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah suatu kondisi dimana sel dibagian tubuh telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normal, sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak normal yang dapat merusak jaringan dan organ lain (Fauci, 2008). Kanker memiliki banyak jenis, salah satunya yang berbahaya dan banyak menimbulkan kematian adalah kanker paru. Kanker paru adalah penyakit keganasan yang menjadi penyebab kematian kedua pada kelompok kematian akibat keganasan setelah kanker prostat pada laki-laki dan kanker payudara pada wanita (Ancuceanu dan Istudor, 2004).

Prevalensi kanker paru masih sangat tinggi, di Amerika tahun 2002 di laporkan terdapat 169.400 kasus baru dengan 154.900 kematian. Angka kematian kanker paru diseluruh dunia mencapai lebih dari satu juta penduduk tiap tahunnya. Di Indonesia belum ada pencatatan prevalensi yang pasti dan akurat, tetapi klinik tumor dan rumah sakit paru merasakan benar peningkatan penderita setiap tahunnya (Amin, 2006).

Paru merupakan organ penting yang berfungsi sebagai alat pernapasan. Kelainan pada organ ini dapat berakibat fatal bagi kelangsungan hidup seseorang. Salah satu faktor resiko tertinggi dari kanker paru adalah merokok (Fauci, 2008). Bekerja dibidang industri, terkena polusi udara, terkena radiasi, dan faktor genetik merupakan etiologi lain yang juga dapat menjadi faktor resiko dari kanker paru. Bahan mutagen dan karsinogen tersebut dapat menyebabkan kerusakan DNA yang akan berlanjut pada mutagenesis dan karsinogenesis (Amin, 2006). Kerusakan DNA tersebut menyebabkan aktivasi dari pertumbuhan sel kanker dan hilangnya kemampuan gen 3p yang merupakan gen penekan tumor. Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkontrol adalah akibat langsung yang disebabkan oleh hilangnya regulasi sinyal penekan tumor tersebut. Proliferasi sel kanker yang tidak terkontrol akan menginvasi dan mengganggu fungsi sel lain disekitarnya

sehingga akan menyebabkan gangguan yang semakin memburuk secara menyeluruh pada paru apabila tidak segera dihentikan (Price dan Wilson, 2006)

Saat ini sedang gencar dilakukan pengembangan penelitian untuk mengobati dan mencegah perjalanan dari kanker. Beberapa pengobatan terhadap kanker adalah pembedahan, radioterapi dan kemoterapi. Modalitas terapi tersebut bukanlah tidak ada efek samping. Saat ini mulai dikembangkan pengobatan dan pencegahan untuk kanker yang berasal dari alam sehingga dapat dikonsumsi dan aman bagi tubuh. Salah satu tanaman yang diketahui dapat mencegah sekaligus menghambat proliferasi dari sel kanker adalah kedelai (Darma *et al.*, 2008).

Kedelai merupakan tanaman yang termasuk suku polong-polongan (*Leguminoceae*). Tanaman ini cukup banyak mengandung isoflavon yang diyakini sebagai anti kanker dan sebagai antiinflamasi (Simoda dan Hamada, 2010). Isoflavon termasuk dalam senyawa fitoestrogen yang memiliki fungsi sebagai enzim penghambat kanker, antioksidan, dan anti estrogen (Kim *et al.*, 2006). Mekanisme kerja dari kedelai yang dapat menginduksi apoptosis sel dan menghambat proliferasi sel, mengindikasikan bahwa kedelai dapat sebagai agen kemopreventif (Darma *et al.*, 2008). Penulis meneliti lebih lanjut tentang pengaruh sari kedelai sebagai penghambat proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi 7,12-*dimethylbenz(a)anthracene* (DMBA).

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah sari kedelai (*Glycyne max L*) dapat menghambat proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA?
- b. Apakah penggunaan berbagai dosis sari kedelai berpengaruh dalam menghambat proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA?

1.3 Tujuan Penulisan

- a. Untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA .

- b. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA.

1.4 Manfaat Penulisan

- a. Menambah pengetahuan mengenai pengaruh sari kedelai terhadap proliferasi sel pada kanker paru.
- b. Sebagai wacana penggunaan bahan alami untuk menghambat proliferasi sel pada kanker paru.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Paru

Paru adalah organ pernapasan yang berada di rongga toraks dan berfungsi sebagai tempat pertukaran udara yaitu pengambilan oksigen (O_2) dari udara bebas saat menarik nafas, kemudian ditransfer ke pembuluh darah dan akan dibawa oleh sel darah merah ke berbagai organ tubuh lain sebagai energi dalam proses metabolisme. Hasil akhir dari metabolisme adalah karbondioksida (CO_2). Karbondioksida kemudian dibawa oleh darah kembali ke paru untuk dibuang pada saat menghembuskan nafas (Nukleus Precise News Letter, 2011).

2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Paru

Paru berbentuk piramid dengan konsistensi seperti spons. Paru terdiri dari paru kanan dan paru kiri. Paru kanan memiliki 3 lobus, sedangkan paru kiri memiliki 2 lobus. Setiap lobus paru dipisahkan oleh fisura. Lobus paru dibagi menjadi beberapa segmen, segmen paru tersebut antara lain (Putz dan Pabst, 2000) :

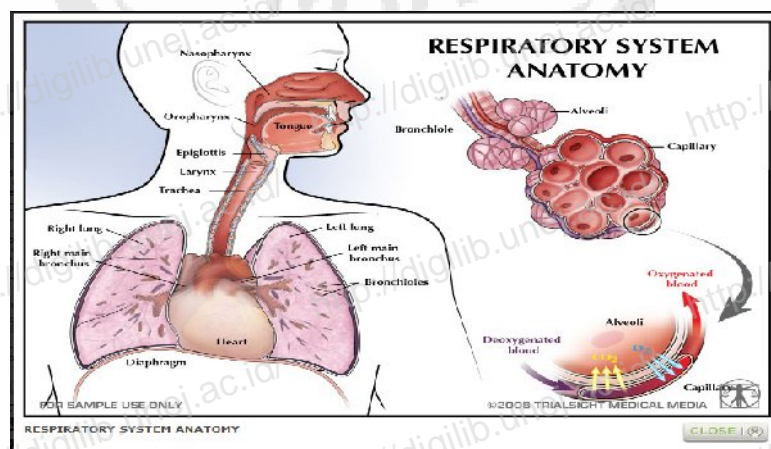
Tabel 2.1 Pembagian lobus dan segmen paru

| Lobus | Paru kanan | Paru kiri |
|----------|---|--|
| Superior | Segmentum apikales Segmentum posterius Segmentum anterius | Segmentum apicoposterius Segmentum anterius Segmentum lingulares superius Segmentum lingulares inferius |
| Medius | Segmentum laterales Segmentum mediales | - |
| Inferior | Segmentum superius Segmentum basale mediales Segmentum anterius Segmentum basale laterales Segmentum basale posterius | Segmentum superius Segmentum basales mediales Segmentum basales laterales Segmentum basales posterius |

Sumber : Putz dan Pabst, 2000

Topografi paru dipandang dari depan, tampak puncak paru kanan maupun kiri berada pada kira-kira 2,5 cm di atas sepertiga klavikula bagian medial. Puncak paru diproyeksikan jatuh pada dasar dari leher. Topografi paru dipandang dari belakang, tampak puncak paru mencapai posterior iga pertama sehingga sama tinggi dengan vertebra torasika pertama. Kubah diafragma mencapai ketinggian vertebra torasika kedelapan atau kesembilan (Djojodibroto, 2009).

Paru memiliki beberapa batas dengan organ lain. Batas paru kanan sebelah anterior ke bawah dimulai di belakang sendi sternoklavikular dan mencapai linea mediana pada ketinggian angulus sterni. Batas paru ini terus ke bawah melalui belakang sternum pada ketinggian sendi sternokondralis keenam, pada bagian ini batas bawah melengkung ke arah lateral dan sedikit ke arah inferior, memotong iga keenam di linea medioklavikular dan memotong iga kedelapan pada linea medioaksilaris. Batas ini kemudian menuju posterior dan medial pada ketinggian prosesus spinosus vertebra torakal kesepuluh. Bagian inferior fisura oblikus paru kanan berakhir dibatas bawah paru pada linea medioklavikular. Fisura horisontal pada ketinggian kartilago iga keempat. Paru bagian kiri, batas anterior hampir sama dengan paru kanan, tetapi pada ketinggian kartilago iga keempat paru kiri berdeviasi ke lateral karena terdapat jantung. Batas bawah paru kiri lebih inferior dibandingkan dengan paru kanan karena paru kanan terbatas oleh hepar. Fisura obliqua paru kiri sama letaknya dengan fisura obliqua paru kanan (Djojodibroto, 2009).



Gambar 2.1 Anatomi saluran pernapasan manusia (Sumber : Trialsight Medical Media, 2008)

Paru dihubungkan dengan saluran pernapasan atas oleh trakea. Trakea pada bifurkasio bercabang dua menjadi bronkus utama kanan dan bronkus utama kiri. Diantara bronkus utama ini terdapat sudut lancip yang membentuk tonjolan yang dinamakan karina. Bronkus utama kanan dan kiri tidak simetris, bronkus utama kanan lebih pendek dan lebih lebar jika dibandingkan dengan bronkus utama kiri, selain itu bentuk bronkus utama kanan lebih vertikal daripada bronkus utama kiri yang membentuk sudut lebih tajam. Bronkus utama kanan dan kiri bercabang lagi menjadi bronkus lobaris. Terdapat tiga bronkus lobaris pada paru kanan, dan dua bronkus lobaris pada paru kiri. Bronkus lobaris ini secara berturut-turut bercabang lagi menjadi bronkus segmentalis, bronkus subsegmentalis lebih lanjut bercabang menjadi bronkiolus, hingga bronkiolus terminalis (Desen, 2008).

Setelah bronkiolus terminalis terdapat asinus yang merupakan unit fungsional paru, yaitu tempat pertukaran gas. Asinus terdiri dari : 1) Bronkiolus respiratorius, yang terkadang memiliki kantong udara kecil atau alveoli pada dindingnya, 2) Duktus alveolaris, seluruhnya dibatasi oleh alveolus, dan 3) Sakus alveolaris terminalis, yaitu struktur akhir paru. Asinus atau biasanya disebut lobulus primer memiliki garis tengah kira-kira 0,5 cm sampai 1,0 cm (Price dan Wilson, 2006).

Setiap paru dibungkus oleh selaput membran yang disebut pleura. Pleura dibagi menjadi beberapa bagian menurut anatomi yaitu pleura parietal dan pleura viseral. Pleura parietal adalah lapisan pleura yang paling luar yang melapisi rongga toraks, seperti kerangka iga, diafragma, mediastinum. Pleura viseralis adalah pleura yang melapisi paru dan bersambungan dengan pleura parietal pada bagian bawah paru. Bagian lain dari pleura adalah rongga pleura. Rongga pleura adalah ruang potensial antara pleura parietal dan pleura viseral yang mengandung lapisan tipis yang berfungsi sebagai pelumas sehingga paru dapat mengembang tanpa melakukan friksi. Tekanan cairan di dalam rongga pleura lebih negatif dibandingkan dengan tekanan atmosfer (Sloane, 2004).

2.1.2 Vaskularisasi, Inervasi dan Aliran Limfatik Paru

Paru mendapat aliran darah dari trunkus pulmonalis yang keluar dari ventrikel kanan jantung. Bifurkasio dari trunkus pulmonalis berada pada paru lobus kiri inferior setinggi vertebra IV/V dan di sebelah kiri anteroinferior bifurkasio trakea (Drake *et al.*, 2007).

Paru kanan paru mendapat suplai darah dari arteri pulmonalis dextra. Arteri ini lebih panjang apabila dibandingkan dengan arteri pulmonalis sinistra. Arteri ini melewati mediastinum secara horisontal, berada di sebelah anteroinferior dari bifurkasio trakea, dan di sebelah anterior dari bronkus utama. Arteri pulmonalis dextra juga terletak di sebelah posterior dari aorta asenden, vena kava superior, dan vena paru kanan bagian atas. Arteri paru kanan memasuki paru melalui hilus paru yang merupakan tempat untuk masuk arteri, vena, bronkus dan saluran limfe ke dalam paru. Arteri pulmonalis dextra bercabang menjadi dua, cabang yang pertama mengalirkan darah menuju lobus superior dan cabang yang kedua mengalirkan darah menuju lobus medial dan lobus inferior (Drake *et al.*, 2007).

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

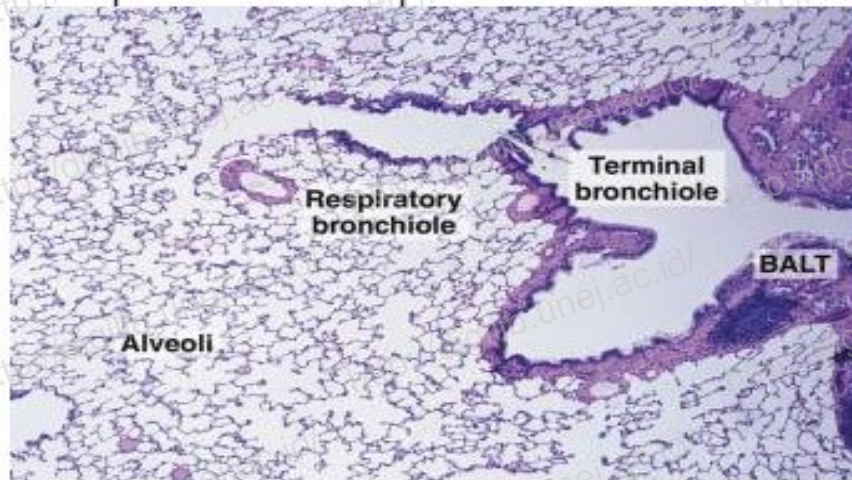
Paru diinervasi oleh saraf parasimpatis nervus vagus dan saraf simpatis. Bagian otot polos saluran nafas diinervasi oleh nervus vagus aferen dan eferen. Nervus vagus aferen dan eferen ini kemudian membentuk pleksus, yaitu pleksus pulmonalis kanan dan pleksus pulmonalis kiri yang keduanya saling berhubungan di anteroposterior bifurkasio trakea dan bronkus utama. Pleksus anterior lebih kecil daripada pleksus posterior (Standring, 2008). Pleura parietalis diinervasi oleh nervus interkostalis dan nervus frenikus (Djojodibroto, 2009).

Jaringan limfatik paru sangat rapat apabila dibandingkan dengan organ lain. Lokasi jaringan limfe berada pada jaringan ikat seperti pleura, septa interlobular, serta pembungkus peribronkovaskular. Terdapat 6 nodus limfa yang berperan dalam drainase cairan limfa paru, yaitu nodus limfa intrapulmonalis, nodus limfa trakeobronkialis, nodus limfa bronkopulmonalis, nodus limfa paratrakealis, nodus limfa skalenii, dan nodus limfa di arkus aorta. Pembuluh limfe besar di sebelah kanan adalah trunkus limfatikus bronkomediastinalis, trunkus limfatikus jugularis, serta trunkus limfatikus subklavius. Pembuluh limfe di sebelah kiri terdapat duktus torasikus (Djojodibroto, 2009).

2.1.3 Histologi Paru

Sistem pernapasan dibagi menjadi 2 daerah, yaitu bagian konduksi yang berfungsi untuk menyalurkan bagian luar tubuh dengan paru yang meliputi hidung, nasofaring, laring, trakea, bronkus, bronkiolus, dan bronkiolus terminalis. Bagian lain sistem respirasi adalah bagian respirasi yaitu tempat berlangsungnya pertukaran gas yang meliputi bronkiolus respiratorius, duktus alveolaris dan alveoli (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Bronkus yang belum memasuki paru disebut bronkus ekstra pulmonalis sedangkan bronkus yang sudah memasuki paru di sebut bronkus intrapulmonalis. Secara umum struktur bronkus hampir sama dengan struktur trakea yaitu dilapisi oleh mukosa respiratoris dengan sel goblet dan sel silindris bersilia. Terdapat cincin tulang rawan hialin berbentuk C pada lamina propria. Dengan semakin mengecilnya garis tengah dari bronkus, cincin tulang rawan hialin digantikan oleh lempeng atau pulau tulang rawan hialin. Pada lamina propria tepatnya di bawah epitel, terdapat adanya lapisan otot polos yang terdiri dari anyaman berkas otot polos yang tersusun menyilang. Lamina propria bronkus banyak mengandung serat elastin dan memiliki banyak kelenjar serosa dan mukosa (Junqueira dan Carneiro, 2007).



Gambar 2.2 Sediaan bronkus terminalis dengan sebagian bronkiolus respiratorius yang berlanjut sebagai duktus alveolaris dan banyak alveolus (Sumber : Junqueira dan Carneiro, 2007)

Bronkus bercabang lebih ke dalam masuk ke paru menjadi bronkiolus. Berbeda dengan bronkus, pada bronkiolus tidak terdapat tulang rawan maupun kelenjar dalam mukosa, hanya terdapat sel goblet pada segmen awal. Dinding bronkiolus dilapisi oleh epitel selapis silindris bersilia, sedangkan untuk bronkiolus terminalis, dinding dilapisi oleh epitel selapis kuboid. Bronkiolus terminalis mengandung sel clara. Setiap bronkiolus terminalis bercabang menjadi dua atau lebih, menjadi bronkiolus respiratorius yang berfungsi sebagai daerah peralihan antara bagian konduksi dan bagian respirasi dari sistem pernapasan. Dinding dari bronkiolus respiratorius mengandung banyak alveolus sebagai tempat pertukaran gas. Semakin ke arah distal alveolus dan duktus alveolus semakin banyak, saluran tersebut dinamakan duktus alveolaris. Duktus alveolaris bermuara pada atrium, yang berhubungan dengan saku alveolaris (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Alveolus berbentuk seperti kantong yang berada pada bronkiolus respiratorius, duktus alveolaris, dan saku alveolaris. Di dalam kantong itulah berlangsung pertukaran O_2 dan CO_2 antara udara dan darah. Di dalam alveolus terdapat sel tipe I yang berfungsi untuk pergantian surfaktan, sel tipe II yang berfungsi menghasilkan surfaktan untuk mengurangi tegangan permukaan alveolus dan makrofag paru yang berfungsi untuk memfagositosis debris yang

berasal dari lumen alveolus yang masuk ke dalam interstisium melalui aktivitas pinositosis pada sel tipe I (Junqueira dan Carneiro, 2007).

2.1.4 Pengendalian Proliferasi Sel Paru Normal Pada Siklus Sel

Secara umum jumlah sel yang ada 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 sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel ataupun karena berdiferensiasi menjadi sel lain (Kumar *et al.*, 2007).

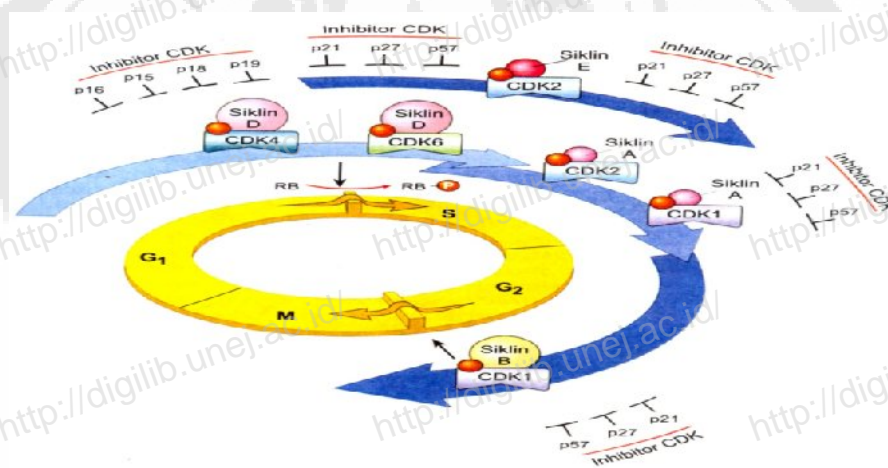
Proliferasi sel dapat dirangsang oleh faktor pertumbuhan intrinsik, jejas, kematian sel, atau bahkan oleh deformasi mekanis jaringan. Mediator biokimiawi atau tekanan mekanis yang terdapat dalam lingkungan mikro setempat secara khusus dapat merangsang atau menghambat pertumbuhan sel (Kumar *et al.*, 2007).

Sel yang sedang berproliferasi berkembang melalui serangkaian tempat dan fase yang sudah ditentukan yang disebut siklus sel (Gambar 2.3). Siklus sel tersebut terdiri atas (secara berurutan) fase pertumbuhan prasintesis 1 (G_1); fase sintesis DNA (S); fase pertumbuhan pramitosis 2 (G_2); dan fase mitosis (M). Sel istirahat berada dalam keadaan fisiologis yang disebut G_0 (Kumar *et al.*, 2007).

Masuk dan berkembangnya sel melalui siklus sel dikendalikan melalui perubahan pada kadar dan aktifitas suatu kelompok protein yang disebut siklin. Kadar berbagai siklin meningkat setelah didegradasi dengan cepat saat sel bergerak melalui siklus tersebut. Siklin menjalankan fungsi regulasinya melalui pembentukan kompleks dengan protein yang disintesis secara konstitutif yang disebut *cyclin-dependent kinase* (CDK). Kombinasi yang berbeda dari siklin dan CDK berkaitan dengan setiap transisi penting dalam siklus sel. Kombinasi tersebut menggunakan efeknya dengan memfosforilasi sekelompok substrat protein terpilih (protein fosforilat kinase protein kontraregulasi disebut protein defosforilat kinase). Fosforilasi dapat menimbulkan perubahan konformasi bergantung pada proteinnya yang secara potensial dapat: 1) Mengaktivasi atau menginaktivasi suatu aktivitas enzimatik, 2) Menginduksi atau mengganggu

interaksi protein, 3) Menginduksi atau menghambat pengikatan protein pada DNA, dan 4) Menginduksi atau mencegah katabolisme protein (Kumar *et al.*, 2007).

Contoh spesifik adalah CDK 1, yang mengendalikan transisi penting dari G₂ menjadi M (Gambar 2.3). Pada saat sel masuk ke dalam G₂, siklin B disintesis dan berikatan pada CDK 1. Kompleks siklin B-CDK1 ini diaktifasi melalui fosforilasi, kemudian kinase aktif memfosforilasi berbagai protein yang terlibat dalam mitosis, meliputi protein yang terlibat dalam replikasi DNA (deoksiribonukleat), depolimerisasi lapisan inti sel, dan pembentukan spindle mitosis. Setelah pembelahan sel siklin B dipecah melalui jalur proteasom yang tersebar luas. Sel tidak akan mengalami mitosis lebih lanjut sampai terdapat rangsang pertumbuhan dan sintesis siklin yang baru (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.3 Ilustrasi skematik peran siklin, *cyclin-dependent kinase* (CDK), dan *cyclin-dependent kinaseinhibitor* (CDKI) dalam mengendalikan siklus sel (Sumber: Kumar *et al.*, 2007:205)

Selain sintesis dan pemecahan siklin, kompleks siklin-CDK juga diatur melalui ikatan *cyclin-dependent kinase inhibitor* (CDKI). Kompleks ini sangat penting dalam mengatur tahapan siklus sel (G₁-S dan G₂-M) yaitu tahapan saat sel memeriksa bahwa DNA nya telah direplikasi dengan cukup atau semua kesalahan telah dipulihkan sebelum bergerak lebih lanjut. 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 supresor tumor TP53 (protein fosforilasi dengan berat molekul 53 kD) akan distabilkan dan menginduksi transkripsi CDKI P21. Inhibitor ini akan menahan sel dalam fase G₁ atau G₂ 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).

2.2 Kanker Paru

Kanker paru adalah penyakit keganasan yang menjadi penyebab kematian kedua pada kelompok kematian akibat keganasan setelah kanker prostat pada laki-laki dan kanker payudara pada wanita. Menurut WHO tahun 2000, setiap tahun diseluruh dunia terdapat 1,2 juta penderita kanker paru, atau 12,3% dari seluruh tumor ganas, meninggal dunia 1,2 juta atau 17,8% dari mortalitas total tumor (Desen, 2008).

2.2.1 Epidemiologi

Kanker paru adalah penyebab nomor satu kematian akibat kanker di negara industri (Desen, 2008). Penelitian yang dilakukan di Amerika Serikat pada tahun 2007 menyebutkan bahwa kanker paru menyerang 114.760 laki-laki dan 98.620 wanita. Angka mortalitas mencapai 86% dalam kurun waktu 5 tahun. Insiden puncak kanker paru yaitu pada umur 55 sampai 65 tahun (Fauci, 2008). Data statistik kanker paru di Indonesia masih belum ada perhitungan yang akurat, tetapi di Rumah Sakit Persahabatan didapatkan pada tahun 2003 sekitar 213 kasus, tahun 2004 220 kasus, tahun 2005 140 kasus, tahun 2006 218 kasus, dan terakhir tahun 2007 282 kasus (Wahyuni *et al.*, 2011).

2.2.2 Faktor Resiko

Meskipun faktor resiko kanker paru belum diketahui secara pasti, tetapi ada 3 faktor yang bertanggung jawab terhadap peningkatan insiden penyakit ini, yaitu merokok, bahaya industri dan polusi udara (Desen, 2008). Rokok adalah yang

paling berpengaruh penting terhadap peningkatan insiden, yaitu 85% dari seluruh kasus. Semakin tinggi intensitas orang berhubungan dengan rokok atau menghisap asap rokok yang dihembuskan oleh orang lain di dalam ruangan tertutup, maka resiko terjadinya kanker paru semakin meningkat. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pada orang yang tidak merokok, tetapi menghisap asap dari orang lain, resiko mendapat kanker paru meningkat dua kali (Price dan Wilson, 2006).

Pada keadaan tertentu, kanker paru merupakan penyakit akibat dari kerja. Dari berbagai bahaya industri, yang paling penting adalah asbes, yang sering digunakan untuk bahan bangunan. Resiko kanker paru diantara para pekerja yang menangani asbes kira-kira sepuluh kali lebih besar dari pada masyarakat umum (Price dan Wilson, 2006).

Dua faktor lain yang berperan dalam peningkatan resiko terjadinya kanker paru adalah makanan dan kecenderungan familial. Penelitian menunjukkan, bahwa pada perokok yang kurang mengkonsumsi vitamin A memiliki resiko yang lebih besar untuk terjadinya kanker paru. Terdapat juga bukti bahwa anggota keluarga pasien kanker paru beresiko lebih besar terkena penyakit ini. Penelitian sitogenik dan genetik molekular menunjukkan bahwa mutasi pada protoonkogen dan gen penekan tumor memiliki arti penting dalam timbul dan berkembangnya kanker paru. Tujuan khususnya adalah pengaktifan onkogen (termasuk juga gen K-RAS dan myc) dan menonaktifkan gen penekan tumor antara lain gen rb, p53, dan CDKN2 (Price dan Wilson, 2006).

Dari fakta ini menunjukkan bahwa meskipun rokok berperan utama dalam peningkatan insidensi paru, tetapi rokok bukan satu-satunya faktor. Infeksi kronis, polusi udara, pekerjaan yang menyebabkan kontak dengan zat karsinogen, faktor keluarga dan faktor makanan dapat menjadi faktor predisposisi timbulnya kanker paru (Price dan Wilson, 2006).

2.2.3 Etiologi dan Patogenesis

Kanker paru muncul melalui akumulasi bertahap kelainan genetik yang menyebabkan transformasi epitel bronkus jinak menjadi jaringan neoplastik.

Salah satu faktor penting yang berpengaruh menimbulkan kelainan genetik adalah rokok. Rangkaian perubahan molekular yang terjadi tidak bersifat acak, tetapi mengikuti sekuensi yang sejajar dengan perkembangan histologi menjadi kanker. Perubahan tersebut dimulai dari mutasi gen 3p yang merupakan gen penekan tumor, kemudian diikuti mutasi dari P53 dan pengaktifan onkogen K-RAS (Kumar *et al.*, 2007).

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

2.2.4 Morfologi dan Manifestasi Klinis

Kanker paru berawal sebagai lesi mukosa kecil yang biasanya padat dan berwarna abu-abu putih. Lesi dapat membentuk massa intralumen, menginvasi mukosa bronkus atau membentuk massa besar yang mendorong parenkim paru didekatnya. Beberapa tumor besar mengalami kavitas akibat nekrosis sentral atau terbentuknya fokus perdarahan. Akhirnya sel kanker ini dapat meluas ke pleura, menginvasi rongga pleura dan dinding dada, dan menyebar ke struktur intratoraks di dekatnya. Penyebaran yang lebih jauh dapat terjadi melalui limfatik atau darah (Kumar *et al.*, 2007).

Menurut histologinya, kanker paru diklasifikasikan menjadi beberapa tipe, yaitu sebagai berikut (Kumar *et al.*, 2007) :

a. Kanker paru non sel kecil (NSCLC)

1. Karsinoma sel skuamosa

Tumor ini cenderung timbul pada bagian tengah bronkus utama dan akhirnya menyebar ke kelenjar hilus lokal, tetapi tumor ini lebih lambat menyebar keluar toraks dibandingkan dengan tipe histologik yang lainnya (Kumar *et al.*, 2007).

2. Adenokarsinoma

Tumor ini dapat bermanifestasi sebagai suatu sel sentral seperti sel skuamosa, tetapi biasanya terletak lebih perifer dan banyak diantaranya timbul pada jaringan paru paru perifer. Adenokarsinoma adalah memiliki keterkaitan paling lemah dengan riwayat merokok dibandingkan dengan subtype kanker paru yang lainnya (Kumar *et al.*, 2007).

3. Karsinoma sel besar

Merupakan satu kelompok neoplasma yang tidak memperlihatkan diferensiasi sitologi dan mungkin mencerminkan neoplasma sel skuamosa atau glandular yang sangat tidak berdiferensiasi sehingga sulit digolongkan. Karsinoma sel besar biasanya anaplastik, dan memiliki nukleus vaskular dengan nukleus mencolok. Subtipe dari kanker paru ini memiliki prognosis buruk karena kecenderungannya menyebar ke tempat jauh pada awal perjalanan penyakit (Kumar *et al.*, 2007).

b. Kanker paru sel kecil (SCLC)

Subtipe kanker paru ini terdiri atas sel tumor dengan bentuk bulat hingga lonjong, sedikit sitoplasma, dan kromatin granular. Sel neoplastik umumnya berukuran dua kali lipat jika dibandingkan dengan limfosit biasa. Tumor ini berasal dari sel neuroendokrin paru sehingga memperlihatkan berbagai macam tanda neuroendokrin selain sejumlah hormon polipeptida yang mungkin menyebabkan sindrom paraneoplastik (Kumar *et al.*, 2007).

c. Pola kombinasi

Subtipe kanker paru ini merupakan campuran dari beberapa subtype kanker paru non sel kecil dan paru sel kecil. Subtipe ini merupakan yang paling sering terjadi pada kanker paru (Kumar *et al.*, 2007).

Keluhan dari kanker paru bervariasi menurut lokasi, ukuran, tipe, menginfiltrasi atau mendesak organ sekitar serta metastasis. Gejala yang paling sering pada kanker paru adalah batuk kering iritatif, tanpa sputum atau sedikit sputum mukoid putih. Batuk seringkali dikarenakan tumor mengenai percabangan bronkus. Gejala khas lainnya adalah hemoptisis. Hemoptisis disebabkan oleh

karena kanker menginvasi kapiler mukosa bronkial dengan sel ganas yang kemudian terlepas dan terbawa oleh sekret. Keluhan lain yang juga sering muncul adalah dispnea, hal ini disebabkan karena tumor menyumbat bronkus menimbulkan pneumonia obstruktif atau atelektesis dan menyebabkan penderita bernafas pendek. Selain menyebabkan dispnea, pneumonia obstruktif akibat tumor yang menyumbat paru juga dapat menyebabkan demam yang diikuti gejala sistemik nonspesifik seperti anoreksia, penurunan berat badan, dan kakesia pada stadium lanjut (Desen, 2008).

2.2.5 Stadium Kanker paru

Penentuan stadium kanker paru sangat penting, hal ini bertujuan untuk menentukan terapi dan juga prognosis dari penyakit yang sebagian besar berlandaskan klasifikasi TNM internasional kanker paru menurut American Joint Comitte on Cancer adalah sebagai berikut :

Tabel 2.2 Stadium kanker paru menurut klasifikasi TNM (Fauci, 2008)

| Status Tumor Primer (T) | |
|-------------------------|--|
| T0 | Tidak terbukti adanya tumor |
| Tx | Tumor primer tidak ditemukan atau terlihat pada pemeriksaan sitologi sputum atau bilasan bronkus tetapi tidak terlihat pada radiogram atau bronkoskopi |
| Tis | Karsinoma in situ |
| T1 | Tumor berdiameter < 3 cm dikelilingi paru atau pleura viseralis tanpa ditemukan invasi pada bronkus utama |
| T2 | Tumor berdiameter > 3 cm atau ukuran berapapun yang sudah menyerang bronkus utama, 2 cm di sebelah distal karina dan menyerang pleura viseralis dengan atelektasis atau pneumonitis obstruksi yang meluas ke hilus, tetapi tidak menyerang paru seluruhnya |
| T3 | Tumor berukuran berapapun dengan perluasan langsung pada dinding dada, diafragma, pleura, mediastinalis, atau parietal perikardium, atau tumor pada bronkus utama < 2cm distal karina tetapi tidak sampai menyerang karina, atau atelektasis atau pneumonitis obstruksi seluruh paru |
| T4 | Tumor ukuran berapapun yang sudah menyerang mediastinum, jantung, pembuluh darah besar, trakea, esophagus, korpus vertebra, karina atau tumor dengan keganasan pada pleura atau efusi perikardium, atau tumor dengan satelit nodul pada bagian ipsilateral tumor utama |

| Keterlibatan kelenjar getah bening (N) | |
|---|--|
| NX | Nodus limfe regional tidak dapat ditentukan |
| N0 | Tidak ada metastase nodus limfe regional |
| N1 | Metastasis pada peribronkial dan atau kelenjar-kelenjar hilus ipsilateral dan nodus intrapulmonal yang merupakan perluasan langsung dari tumor utama |
| N2 | Metastasis pada mediastinal ipsilateral dan atau kelenjar getah bening subkarina |
| N3 | Metastasis pada mediastinal kontralateral, hilus kontralateral, ipsilateral atau kontralateral kelenjar getah bening supraklavikular |
| Metastasis (M) | |
| MX | Metastasis tidak dapat ditentukan |
| M0 | Tidak di ketahui adanya metastasis jauh |
| M1 | Metastasis jauh terdapat pada tempat tertentu |

Sumber : (Fauci, 2008)

Pada pemeriksaan foto toraks PA/lateral akan dapat dilihat bila masa tumor dengan ukuran tumor lebih dari 1 cm. Selain itu pada foto tumor juga dapat dilihat adanya invasi ke dinding dada, efusi pleura, efusi perikardial dan metastasis intrapulmonal. Sedangkan untuk keterlibatan kelenjar getah bening sulit ditentukan dengan menggunakan foto toraks saja (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2003).

Tabel 2.3 Pengelompokan stadium kanker paru (Fauci, 2008)

| Stadium | Klasifikasi TNM | | |
|----------------|------------------------|-------------|----|
| IA | T1 | N1 | M0 |
| IB | T2 | N0 | M0 |
| IIA | T1 | N1 | M0 |
| IIB | T2 | N1 | M0 |
| IIIB | T3 | N0 | M0 |
| IIIA | T3 | N1 | M0 |
| | T1, T2, T3 | N2 | M0 |
| IIIB | T4 | N0, N1, N2 | M0 |
| | T1, T2, T3, T4 | N3 | M0 |
| IV | T berapapun | N berapapun | M1 |

Sumber : (Fauci, 2008)

2.2.6 Prinsip Terapi

Setelah melakukan diagnosis histologik dan prosedur penentuan stadium anatomis dan fisiologis, dibuat rencana untuk pengobatan secara keseluruhan.

Pengobatan yang sering digunakan adalah kombinasi dari pembedahan, radiasi, dan kemoterapi (Price dan Wilson, 2006).

Pada pasien kanker paru non sel kecil (NSCLC) stadium I, II, dan beberapa kasus stadium IIIA pengobatan yang dipilih adalah pembedahan, kecuali jika tumor tidak dapat direseksi atau terdapat keadaan yang tidak memungkinkan pembedahan, misalnya penyakit jantung. Pembedahan dapat berupa pengangkatan paru parsial atau total. Terapi radiasi umumnya dilakukan pada pasien dengan lesi stadium I dan stadium II jika terdapat kontraindikasi pembedahan, dan untuk lesi stadium III jika penyakit terbatas pada hemitoraks dan kelenjar getah bening supraklavikular ipsilateral. Jika kanker paru non sel kecil tersebar, terapi radiasi dapat diberikan pada daerah-daerah lokal untuk tujuan paliatif. Kombinasi kemoterapi juga dapat diberikan pada pasien kanker paru non sel kecil (NSCLC) (Price dan Wilson, 2006).

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

2.2.7 Prognosis Kanker Paru

Secara keseluruhan kanker paru non sel kecil memiliki prognosis yang lebih baik daripada kanker paru sel kecil. Jika kanker paru non sel kecil terdeteksi sebelum mengalami metastasis atau penyebaran lokal, dapat dicapai kesembuhan dengan lobektomi atau penumonektomi (Kumar *et al.*, 2007). Angka harapan hidup 5 tahun dari 5319 penderita kanker paru non sel kecil (NSCLC):

Tabel 2.4 Angka harapan hidup penderita kanker paru

| Stadium | TNM | Angka harapan hidup (%) |
|---------|---------------------------|-------------------------|
| IA | T1, N0, M0 (511 kasus) | 67 |
| IB | T2, N0, M0 (549 kasus) | 57 |
| IIA | T1, N1, M0 | 55 |
| IIB | T2, N1, M0 (288 kasus) | 39 |
| | T3, N0, M0 (87 kasus) | 38 |
| | Semua IIB (75 kasus) | 39 |
| IIIA | T3, N1, M0 (55 kasus) | 25 |
| | N2 (344 kasus) | 23 |
| | Semua IIIA (399 kasus) | 23 |
| IIIB | cT4N0, 1, 2M0 (458 kasus) | 7 |
| | cN3 (572 kasus) | 3 |
| IV | cM1 (1472 kasus) | 1 |

Sumber : Desen, 2008

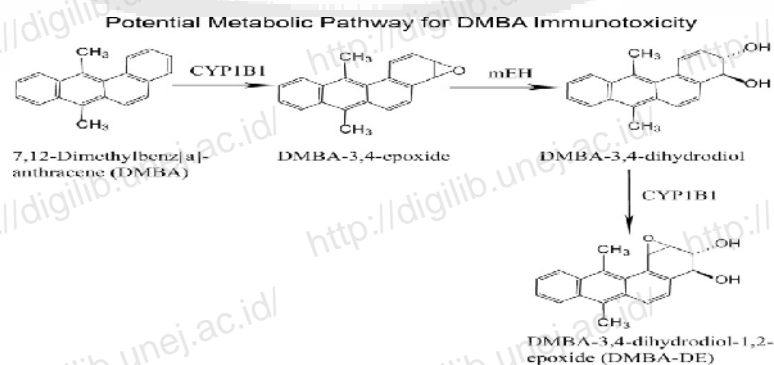
2.3 DMBA (7,12–dimethylbenz(a)anthracene)

Senyawa 7,12–dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) berbentuk padat, berwarna kuning kehijauan dan bersifat pengoksidasi. DMBA merupakan salah satu dari *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) karsinogenik yang paling poten. Struktur kimia pada Gambar 2.4 menunjukkan senyawa tersebut memiliki 4 macam cincin aromatik yang berikatan khas struktur PAH dengan tiga atau lebih cincin aromatik dan dua substituen metil (Susilowati, 2010).

DMBA merupakan senyawa karsinogen spesifik untuk eksperimental kanker pada hewan percobaan, tetapi bukan merupakan karsinogen *direct*. Aktivitas karsinogenik dari DMBA terjadi melalui aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 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 (Susilowati, 2010).

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 *Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1* (CYP1A1) atau *Cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1* (CYP1B1) menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* (DMBA-3,4-diol-1,2 *epoxide*) (Susilowati, 2010).

Seperti yang terlihat pada Gambar 2.4, 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 penting sehingga menyebabkan iniasi kanker. Sel yang mengalami mutasi akan menyebar melalui pembuluh darah menuju organ lain salah satunya yaitu paru, yang mengakibatkan sel mengalami mutasi dan menyebabkan transformasi dari sel jinak menjadi sel anaplastik sehingga terjadi kanker paru (Susilowati, 2010).



Gambar 2.4 Alur potensial metabolik pada DMBA dari senyawa prokarsinogen menjadi *ultimate carcinogen* (Susilowati, 2010)

2.4 Kedelai

2.4.1 Taksonomi Kedelai

Pada awalnya, kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *soja max*. Namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max(L)Merill*. Klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut (Suprpto,2011) :

Divisio : *Spermatophyta*
Classis : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Rosales*
Familia : *Papilionaceae*
Genus : *Glycine*
Species : *Glycine max (L) Merill*

2.4.2 Morfologi Kedelai

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

a. Akar

Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Selain itu kedelai juga seringkali membentuk akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Pada umumnya, akar adventif terjadi karena cekaman tertentu, misalnya kadar air tanah yang terlalu tinggi. Perkembangan akar kedelai sangat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah, jenis tanah, cara pengolahan lahan, kecukupan unsur hara, serta ketersediaan air di dalam tanah. Pertumbuhan akar tunggang dapat mencapai panjang sekitar 2 meter atau lebih pada kondisi yang optimal, namun demikian, umumnya akar tunggang hanya tumbuh pada kedalaman lapisan tanah olahan yang tidak terlalu dalam, sekitar 30-50 cm. Akar serabut mula-mula tumbuh di dekat ujung akar tunggang, sekitar 3-4 hari setelah berkecambah dan

akan semakin bertambah banyak dengan pembentukan akar-akar muda yang lain (Irwan, 2006).

b. Batang dan Cabang

Pertumbuhan batang kedelai dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu tipe *determinate* dan *indeterminate*. Perbedaan sistem pertumbuhan batang ini didasarkan atas keberadaan bunga pada pucuk batang. Pertumbuhan batang tipe *determinate* ditunjukkan dengan batang yang tidak tumbuh lagi pada saat tanaman mulai berbunga. Sementara pertumbuhan batang tipe *indeterminate* dicirikan bila pucuk batang tanaman masih bisa tumbuh daun, walaupun tanaman sudah mulai berbunga. Disamping itu, ada varietas hasil persilangan yang mempunyai tipe batang mirip keduanya sehingga dikategorikan sebagai *semi-determinate* atau *semi-indeterminate* (Irwan, 2006).

Jumlah buku pada batang tanaman dipengaruhi oleh tipe tumbuh batang dan periode panjang penyinaran pada siang hari. Pada kondisi normal, jumlah buku berkisar 15-30 buah. Jumlah buku batang *indeterminate* umumnya lebih banyak dibandingkan batang *determinate* (Irwan, 2006).

Cabang akan muncul di batang tanaman. Jumlah cabang tergantung dari varietas dan kondisi tanah, tetapi ada juga varietas kedelai yang tidak bercabang. Jumlah batang bisa menjadi sedikit bila penanaman dirapatkan dari 250.000 tanaman/hektar menjadi 500.000. Jumlah batang tidak mempunyai hubungan yang signifikan dengan jumlah biji yang diproduksi. Artinya, walaupun jumlah cabang banyak, belum tentu produksi kedelai juga banyak (Irwan, 2006).

c. Daun

Umumnya, bentuk daun kedelai ada dua, yaitu bulat (oval) dan lancip (*loncealote*). Kedua bentuk daun tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik. Bentuk daun diperkirakan mempunyai korelasi yang sangat erat dengan potensi produksi biji. Umumnya, daerah yang mempunyai tingkat kesuburan tanah tinggi sangat cocok untuk varietas kedelai yang mempunyai bentuk daun lebar (Irwan, 2006).

Lebar tipisnya bulu pada daun kedelai berkait dengan tingkat toleransi varietas kedelai terhadap serangan jenis hama tertentu. Hama penggerek polong ternyata sangat jarang menyerang varietas kedelai yang berbulu lebat. Oleh karena

itu, para peneliti tanaman kedelai cenderung menekankan pada pembentukan varietas yang tahan hama harus mempunyai bulu di daun, polong, maupun batang tanaman kedelai (Irwan, 2006).

d. Bunga

Tanaman kacang-kacangan, termasuk kedelai, mempunyai dua stadium tumbuh, yaitu stadium vegetatif dan stadium reproduktif. Stadium vegetatif mulai dari tanaman berkecambah sampai saat berbunga, sedangkan stadium reproduktif mulai dari pembentukan bunga sampai pemasakan biji. Tanaman kedelai di Indonesia yang mempunyai panjang hari rata-rata sekitar 12 jam dan suhu udara yang tinggi ($>30^{\circ}$ C), Sebagian besar mulai berbunga pada umur antara 5-7 minggu. Tanaman kedelai termasuk peka terhadap perbedaan panjang hari, khususnya saat pembentukan bunga. Bunga kedelai menyerupai kupu-kupu (Irwan, 2006).

Pembentukan bunga dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban. Pada suhu tinggi dan kelembaban rendah, jumlah sinar matahari yang jatuh pada ketiak tangkai daun lebih banyak. Hal ini akan merangsang pembentukan bunga. Periode berbunga pada tanaman kedelai cukup lama yaitu 3-5 minggu untuk daerah subtropis dan 2-3 minggu di daerah tropis, seperti di Indonesia. Jumlah bunga pada tipe batang *determinate* umumnya lebih sedikit bila dibandingkan pada batang tipe *indeterminate*. Warna bunga yang umum pada berbagai varietas kedelai hanya dua, yaitu putih dan ungu (Irwan, 2006).

e. Polong dan Biji

Polong kedelai pertama kali terbentuk sekitar 7-10 hari setelah munculnya bunga pertama. Panjang polong muda sekitar 1 cm. Jumlah polong yang terbentuk pada setiap ketiak tangkai daun sangat beragam antara 1-10 buah dalam setiap kelompok. Pada setiap tanaman, jumlah polong dapat mencapai lebih dari 50, bahkan ratusan. Kecepatan pembentukan polong dan pembesaran biji akan semakin cepat setelah proses pembentukan bunga berhenti. Ukuran dan bentuk polong menjadi maksimal pada saat awal periode pemasakan biji. Hal ini kemudian diikuti oleh perubahan warna polong, dari hijau menjadi kuning kecoklatan pada saat masak (Irwan, 2006).

Didalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi, mulai dari kecil (sekitar 7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100), dan besar (> 13 g/100 biji). Bentuk biji bervariasi, tergantung pada varietas tanaman, yaitu bulat, gepeng, dan bulat telur. Namun demikian, sebagian besar biji terbentuk bulat telur (Irwan, 2006).

2.5 Kandungan dan Manfaat Kedelai pada Kanker Paru

Kacang kedelai merupakan bahan pangan sumber protein dan lemak nabati yang sangat penting peranannya dalam kehidupan. Walaupun asam amino yang terkandung dalam proteinnya tidak selengkap protein hewani, namun penambahan bahan lain seperti wijen, jagung atau menir sangat baik untuk menjaga keseimbangan asam amino tersebut (Esti dan Sediadi, 2000).

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

Tabel 2.5 Komposisi kedelai per 100 gram bahan

| Komponen | Kadar (%) |
|-------------|-----------|
| Protein | 34-45 |
| Lemak | 18-32 |
| Karbohidrat | 12-30 |
| Air | 7 |

Sumber : Esti dan Sediadi, 2000

Tabel 2.6 Perbandingan antara protein kedelai dengan beberapa bahan makanan lain

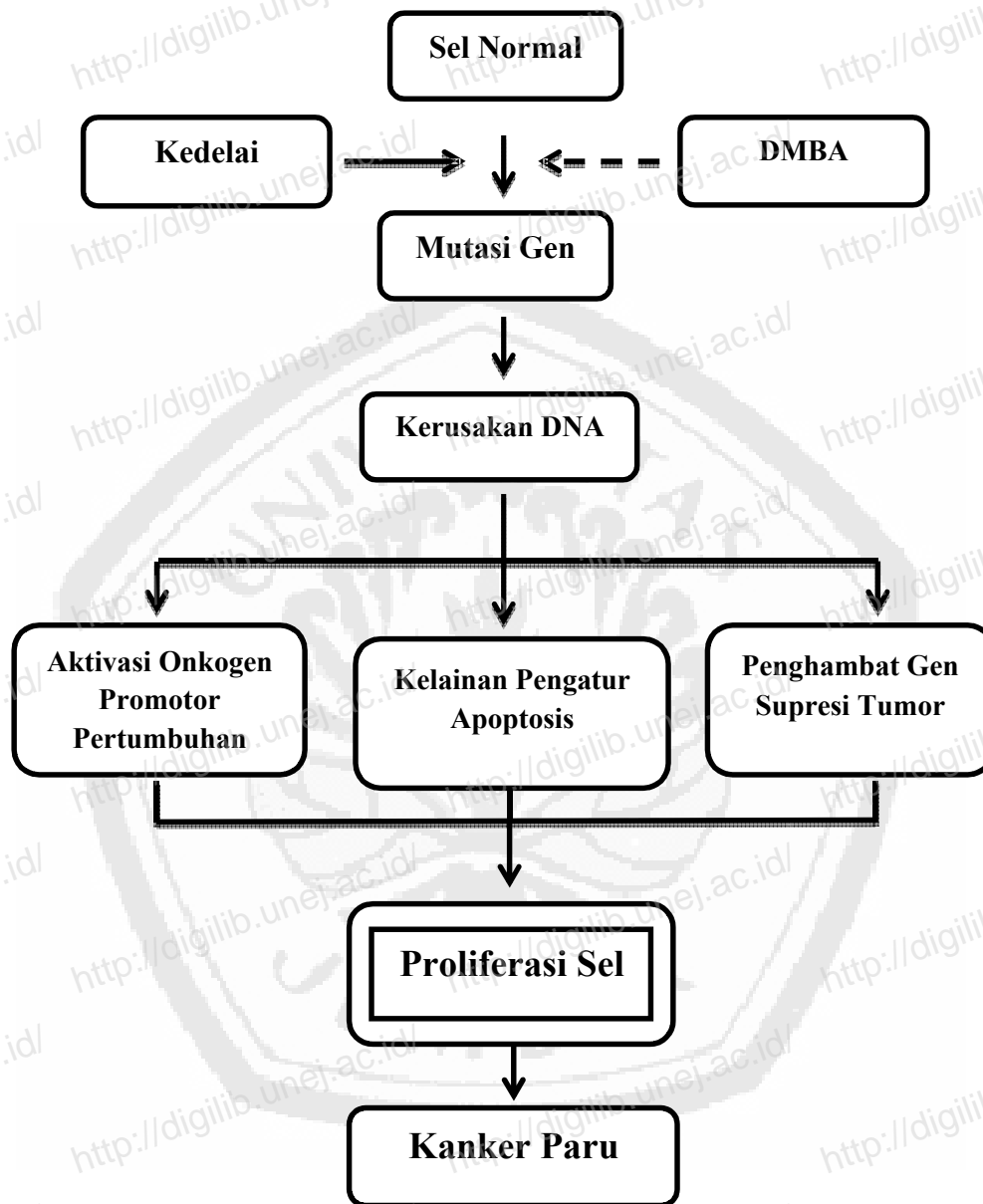
| Bahan Makanan | Protein (%) |
|------------------|-------------|
| Susu skim kering | 36,00 |
| Kedelai | 35,00 |
| Kacang hijau | 22,00 |
| Daging | 19,00 |
| Ikan segar | 17,00 |
| Telur ayam | 13,00 |
| Jagung | 9,20 |
| Beras | 6,80 |
| Tepung singkong | 1,10 |

Sumber : Esti dan Sediadi, 2000

Senyawa flavanoida dan isoflavan adalah kandungan dari kedelai yang diketahui sebagai bahan anti kanker. Senyawa isoflavan memiliki 3 turunan, yaitu daidzein, *glycitein*, dan genistein. Diantara 3 turunan senyawa ini, genistein adalah senyawa yang memiliki kandungan antioksidan paling tinggi (Asih, 2009).

Kandungan antioksidan yang terdapat dalam isoflavan berfungsi melakukan regulasi untuk menghambat pertumbuhan kanker (Asih, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Sonee *et al* pada tahun 2004 menunjukkan bahwa isoflavan berperan sebagai antioksidan sekaligus anti kanker dengan mengikat radikal bebas, menghambat peroksidase lemak dan menghambat sel prekursor kanker untuk berkembang menjadi sel kanker. Antioksidan dalam isoflavan tersebut juga dapat menghambat produksi oksigen reaktif, sehingga menurunkan radikal bebas. Pada sel kanker, isoflavan dapat memutuskan untaian DNA pada apoptosis dan membantu mengendalikan pertumbuhan sel yang tidak diinginkan yang disebabkan hilangnya regulasi sinyal pertumbuhan dan penekan pertumbuhan karena rusaknya DNA (Asih, 2009).

2.6 Kerangka Konseptual



Gambar 2.5 Kerangka konseptual

Keterangan :

- > = Penyebab kanker
- = Penghambat proliferasi sel kanker
- = Variabel yang tidak diteliti
- ▭ = Variabel yang diteliti

Induksi DMBA pada hewan coba mampu menyebabkan mutasi gen, sehingga terjadi kerusakan DNA sel. Mutasi gen tersebut menyebabkan aktivasi onkogen promotor pertumbuhan, kelainan gen pengatur apoptosis dan penghambatan gen supresor tumor, sehingga menimbulkan disregulasi pertumbuhan sel normal. Mutasi terkait kanker tersebut nantinya akan menyebabkan enam perubahan mendasar dalam fisiologi sel yang bersama-sama menentukan fenotipe ganas, yaitu membuat hormon pertumbuhan sendiri, tidak peka terhadap gen supresor tumor, menghindari apoptosis, sel bereplikasi tidak terkontrol, dan terjadi angiogenesis. Gen yang telah mengalami mutasi tersebut nantinya akan memasuki siklus sel dan berproliferasi sehingga menggantikan fisiologi sel normal. Mutasi gen, kerusakan DNA, proliferasi sel yang tidak terkendali akan menyebabkan kanker, dimana dalam penelitian ini dikhususkan pada kanker paru. Sari kedelai diharapkan mampu menghambat gen yang mengalami mutasi tersebut sehingga pembentukan kanker paru dapat dihambat (Hanahan dan Weinberg, 2000).

2.7 Hipotesis Penelitian

- a. Sari kedelai berpengaruh dapat menghambat proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA
- b. Terdapat perbedaan hasil yang signifikan dalam penghambatan proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA dengan pemberian dosis sari kedelai yang berbeda

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

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

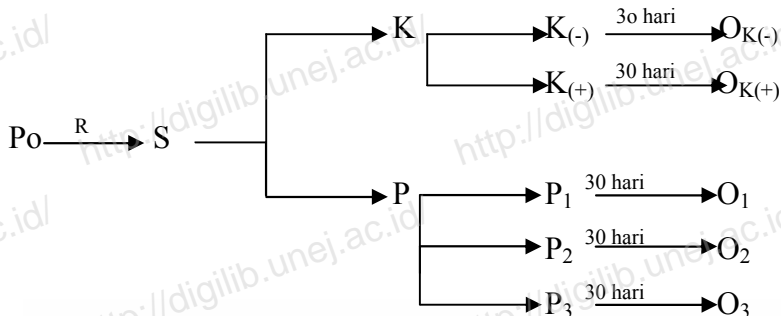
3.2 Rancangan Penelitian

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

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

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *simple random sampling*, yaitu cara pengambilan sampel dimana setiap unsur yang membentuk populasi diberi kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel.

Secara sistematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po : Populasi tikus

R : *Simple random sampling*

S : Sampel

K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian pur dan aquadest biasa

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

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

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

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

O_{K(-)} : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pur dan aquadest biasa setelah masa penelitian selesai

O_{K(+)} : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen per ekor setelah masa penelitian selesai

O₁ : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 5 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai

O₂ : Data hasil pengamatan histopatologi paru tikus dengan pemberian 4,2 mg DMBA dalam 0,5 ml minyak wijen dan sari kedelai 10 mg/hari per ekor setelah masa penelitian selesai

O₃ : Data hasil pengamatan histopatologi paru 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.

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

Jadi peneliti menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dan 3 kelompok perlakuan. Perbedaan 3 kelompok perlakuan ini adalah dosis sari kedelai sebesar 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 paru hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan untuk penghitungan proliferasi sel pada kanker paru tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan perlakuan dan pemeriksaan histopatologi paru pada bulan Februari-Juni 2011.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

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

3.5.2 Variabel Terikat

Gambaran proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar.

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

- a. DMBA (7,12–*dimethylbenz(a)anthracene*) dengan dosis tunggal sebesar 4,2 mg/hari yang merupakan dosis yang efektif untuk menimbulkan efek karsinogenik. DMBA diberikan melalui sonde setiap hari selama 30 hari (Manikandan *et al*, 2007)
- b. 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 paru. Sari kedelai diberikan melalui sonde setiap hari selama 30 hari (Stubert dan Gerber, 2009).
- c. Jumlah proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar adalah jumlah total inti sel paru 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 yang digunakan meliputi alat untuk pemeliharaan hewan coba dan alat untuk pengambilan spesimen organ hewan coba. Alat untuk pemeliharaan hewan coba meliputi kandang hewan dari kotak plastik berjumlah 5, botol minuman untuk hewan coba, kawat penutup kandang, dan sekam untuk alas kandang.

Alat untuk pengambilan serta mengamati sediaan histopatologi paru hewan coba menggunakan mikrotom mesin untuk memotong spesimen menjadi bagian yang sangat tipis, papan fiksasi digunakan saat melakukan dekaputasi hewan coba, jarum pentul untuk memfiksasi hewan coba pada papan, pinset, *scalpel*, *object glass* untuk meletakkan spesimen, kaca penutup untuk pemeriksaan pada mikroskop, dan Mikroskop Olympus CX31 untuk pengamatan.

3.7.2 Bahan Perlakuan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain DMBA sebagai bahan prokarsinogen kanker, sari kedelai, minyak wijen sebagai pelarut dari DMBA, larutan eter digunakan untuk pembiusan hewan coba sebelum didekaputasi, formalin 10%, dan *labelled streptavidin biotin* (LSAB) 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 untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi selama perlakuan.

3.8.2 Pengambilan dan Penyimpanan Jaringan Paru

Tikus dianastesi dengan menggunakan larutan eter agar saat dikorbankan tikus dalam keadaan tenang. Tikus diletakkan pada papan dengan keempat ekstremitas difiksasi menggunakan jarum pentul. Kulit di daerah abdomen sampai daerah toraks tikus diinsisi kemudian organ paru diambil. Organ paru diletakkan pada wadah yang berisi formalin 10%.

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

3.8.3 Pembuatan Sediaan Histopatologi organ paru

Spesimen organ paru diambil secukupnya dan ditempatkan di atas *object glass*, dipastikan tidak ada sisa air bekas penyimpanan. Hidrogen peroksidase 3% ditetaskan sampai menutupi spesimen dan diinkubasi selama 5 menit lalu dibilas dengan larutan *phospate buffer saline* (PBS). Fungsi dari hidrogen peroksidase ini adalah untuk memblok peroksidase endogen pada jaringan sehingga pengecatan dengan *labelled streptavidin biotin* (LSAB) dapat dilakukan.

Reagen antibodi primer ditetaskan sampai menutupi spesimen dan diinkubasi selama 30 menit kemudian bilas kembali dengan larutan *phospate buffer saline* (PBS). Setelah 30 menit, antibodi sekunder ditetaskan sampai menutupi spesimen dan diinkubasi 15-30 menit lalu bilas dengan larutan PBS. Apabila inkubasi telah selesai, dilanjutkan dengan meneteskan streptavidin peroksidase dengan proses dan lama inkubasi yang sama dengan penetasan antibodi sekunder.

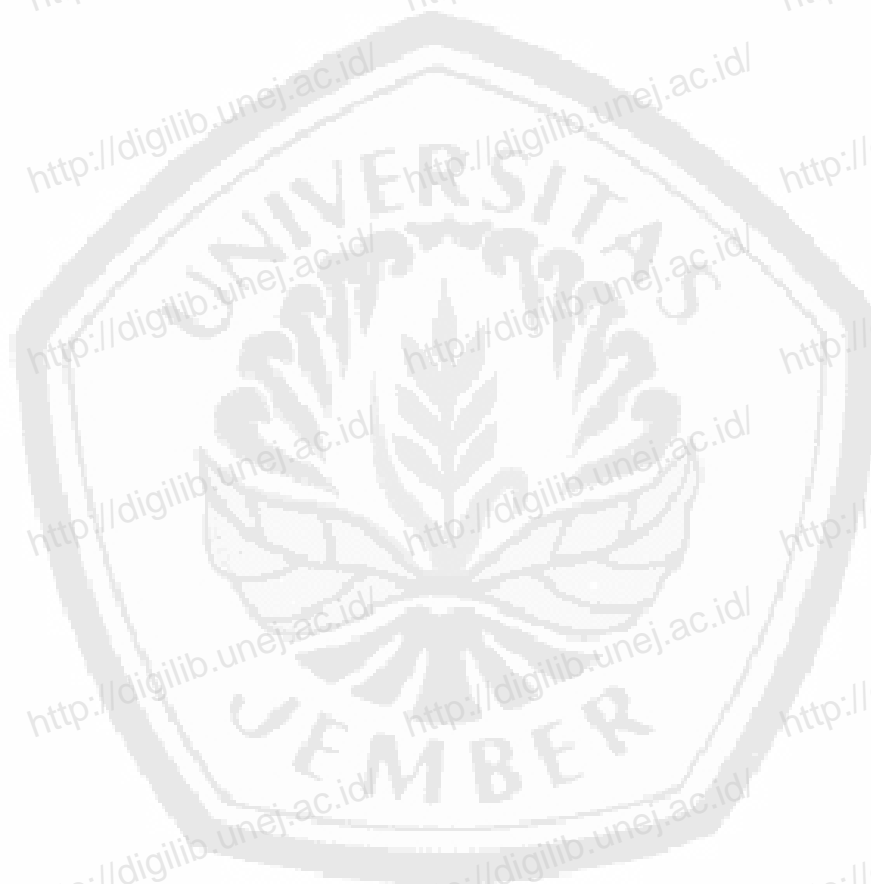
Dilakukan pengecatan dengan *substrate-chromogen solution* selama 1 jam sampai spesimen berwarna coklat, kemudian dilakukan *counterstain* dengan menggunakan *hematoxylin* dan diinkubasi kembali selama 5 menit. Apabila inkubasi telah selesai, spesimen dibilas dengan 10-15 tetes *ammonia water* dan dilakukan *mounting* dengan *diaminobenzidine* (DAB) *chromogen*, kemudian *object glass* dapat ditutup dengan *cover glass* memakai entelan. Seluruh proses pembuatan sediaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan langkah kerja secara skematik dapat dilihat pada lampiran A.

3.8.4 Pengamatan Sediaan Histopatologi organ paru

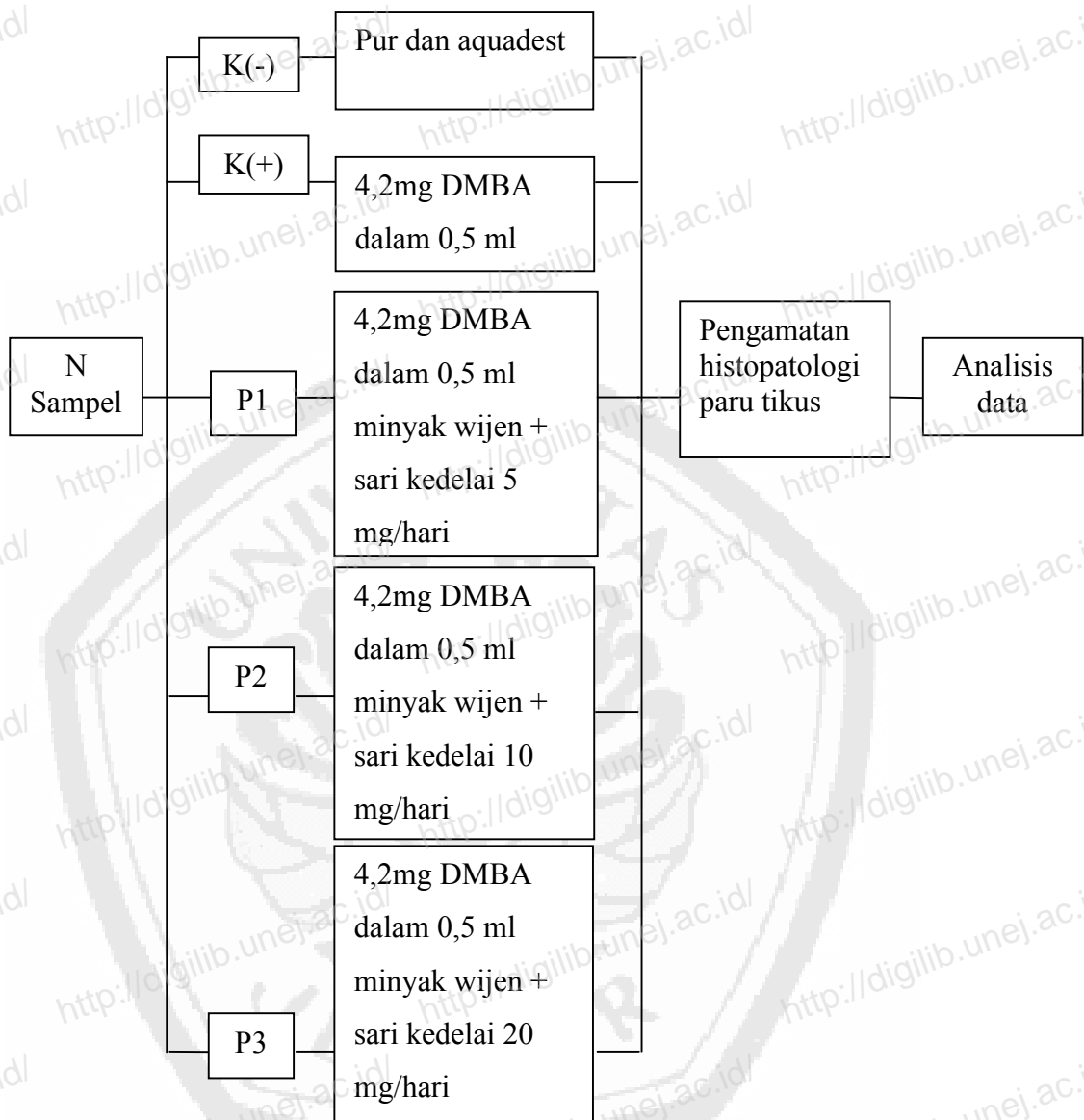
Preparat histopatologi diamati di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pengamatan histopatologi dilakukan dengan cara menghitung jumlah proliferasi sel pada kanker paru pada 10 lapang pandang dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Inti sel paru yang berwarna coklat dinyatakan sebagai sel yang positif terhadap pewarnaan imunohistokimia dengan metode PCNA.

3.9 Analisis Data Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap Gambaran proliferasi sel pada kanker paru, peneliti menggunakan analisis data regresi linier. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis sari kedelai terhadap gambaran proliferasi sel paru 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

Setiap kelompok perlakuan dilakukan pemeriksaan histopatologi menggunakan pewarnaan imunohistokimia dengan metode *Proliferating Cell Nuclear Antigen* (PCNA) pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rerata proliferasi sel pada tiap kelompok

| Kelompok | N | Rerata | Std. Deviasi |
|------------------|----|---------|--------------|
| K ₍₋₎ | 5 | 25,8000 | 6,05805 |
| K ₍₊₎ | 5 | 51,0000 | 3,80789 |
| P ₁ | 5 | 41,8000 | 3,70135 |
| P ₂ | 5 | 35,2000 | 4,38178 |
| P ₃ | 5 | 25,2000 | 3,70135 |
| Total | 25 | 35,8000 | 10,78193 |

Keterangan:

K₍₋₎ = Kelompok kontrol negatif (tanpa induksi DMBA dan pemberian sari kedelai)

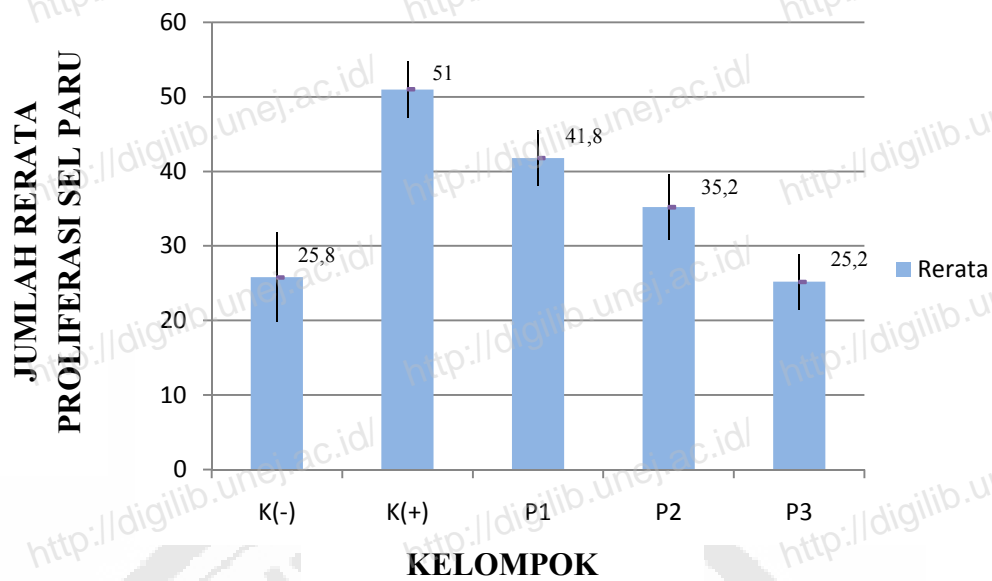
K₍₊₎ = Kelompok kontrol positif (DMBA 4,2 mg/hari)

P₁ = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

P₂ = Kelompok perlakuan II (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 10 mg/hari)

P₃ = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui bahwa rerata proliferasi sel terbesar terdapat pada kelompok K₍₊₎ yaitu 51,0000 sel/10 lapang pandang dengan pemberian DMBA 4,2 mg/hari tanpa diberi sari kedelai. Rerata terkecil terdapat pada kelompok P₃ yaitu 25,2000 sel/10 lapang pandang. Terdapat penurunan rerata proliferasi sel pada kelompok perlakuan seiring dengan meningkatnya dosis pemberian sari kedelai. Diagram batang rerata proliferasi sel pada tikus wistar dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram rerata gambaran proliferasi sel paru pada tiap kelompok

Keterangan:

$K_{(-)}$ = Kelompok kontrol negatif (tanpa induksi DMBA dan pemberian sari kedelai)

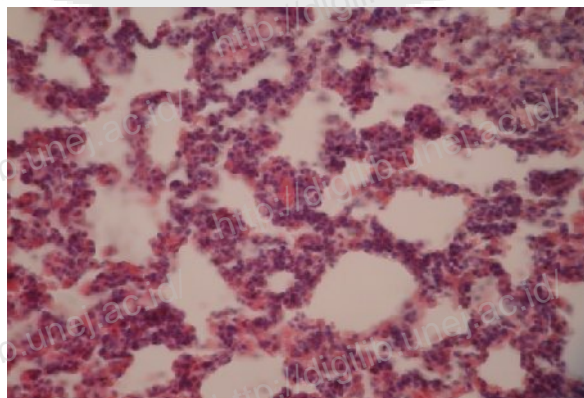
$K_{(+)}$ = Kelompok kontrol positif (DMBA 4,2 mg/hari)

P_1 = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

P_2 = Kelompok perlakuan II (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 10 mg/hari)

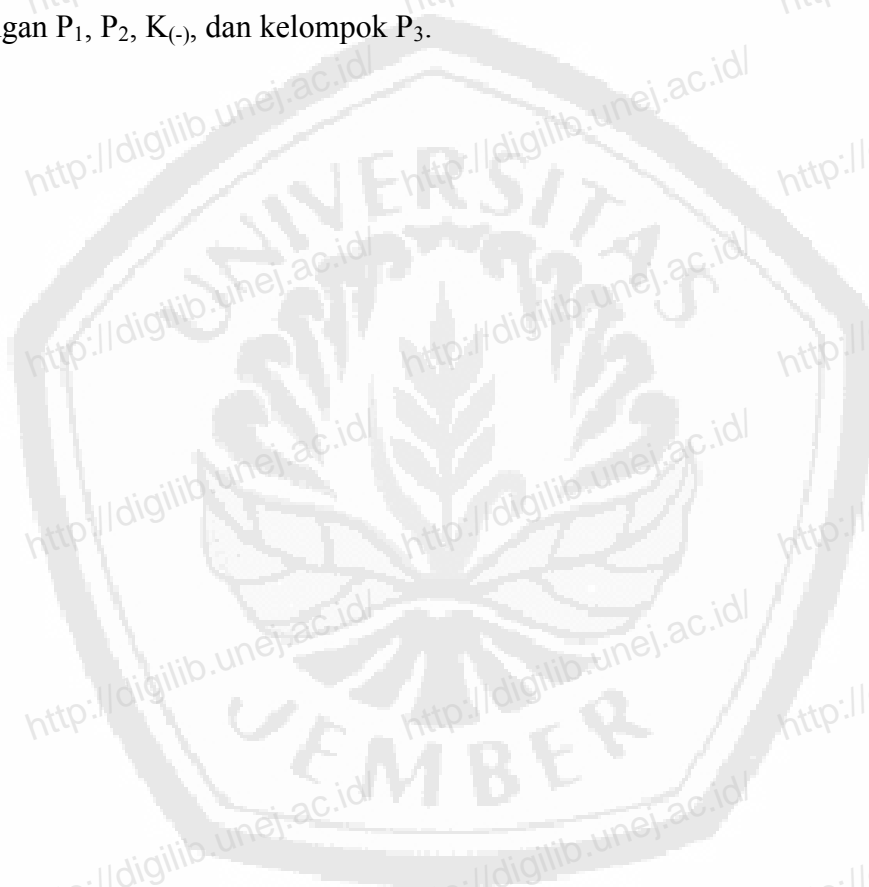
P_3 = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

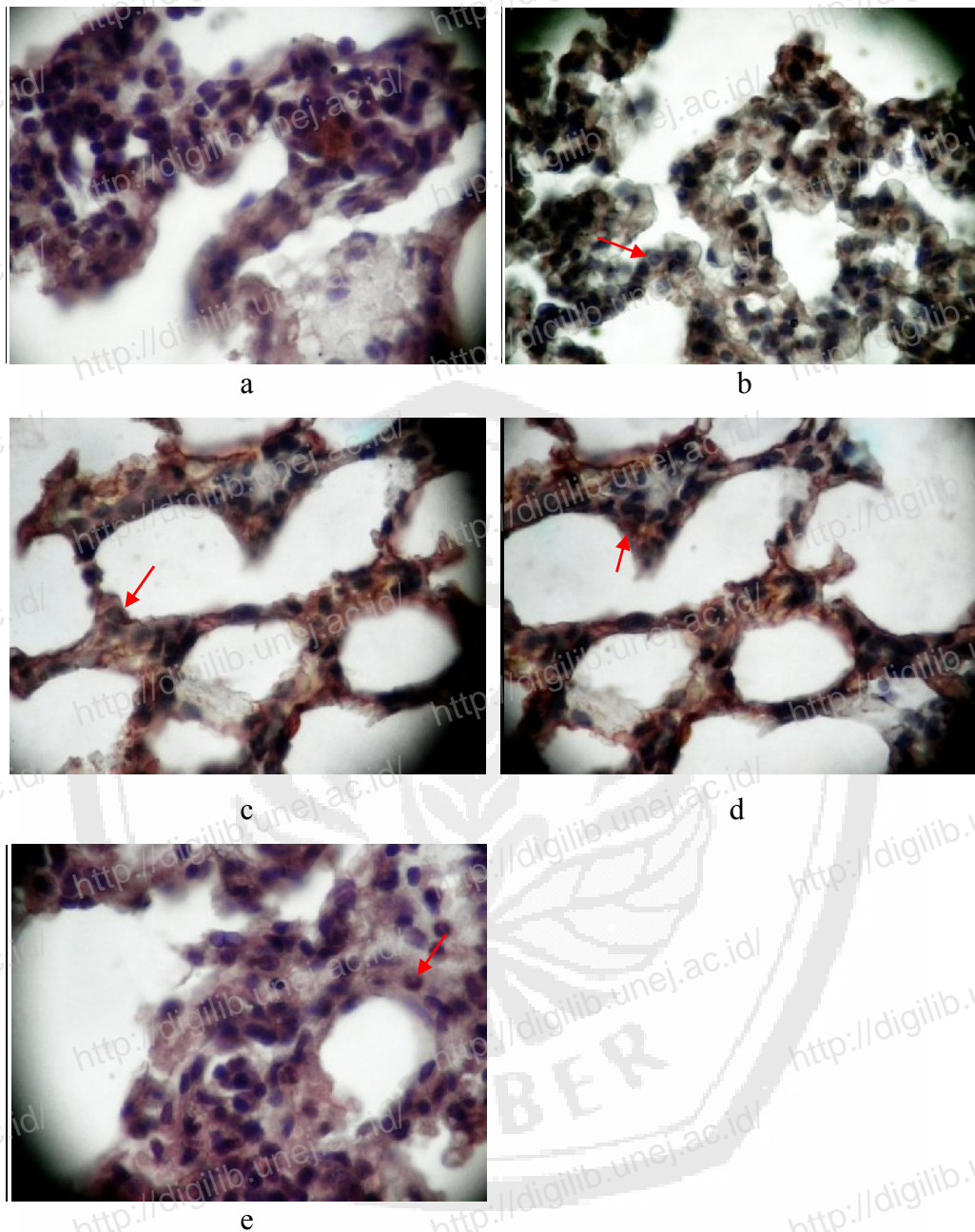
Pada Gambar 4.2 menunjukkan gambar histopatologi dari paru hewan coba dengan pewarnaan *haematoxylin-eosin* (HE). Pewarnaan HE bertujuan untuk memastikan terdapat sel anaplasia pada paru hewan coba yang menandakan terjadi kanker paru. Sel anaplasia dengan ciri-ciri nukleus hiperkromatik, ukuran selnya lebih besar dari pada sel normal, perbandingan nukleus dengan sitoplasma lebih dari 1:1, dan aktifitas mitosis meningkat menunjukkan bahwa terjadi kanker pada paru hewan coba.



Gambar 4.2 gambaran histopatologi kanker paru

Pada Gambar 4.3 menunjukkan gambaran histopatologi dari setiap kelompok dengan metode PCNA. Metode PCNA dengan pewarnaan *labelled streptavidin biotin* (LSAB) 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. Terlihat pada Gambar 4.3a di nukleus dan membran sel nya tidak terdapat warna coklat yang menandakan tidak ada proliferasi sel. Proliferasi sel yang paling tinggi adalah pada kelompok $K_{(+)}$ diikuti dengan P_1 , P_2 , $K_{(-)}$, dan kelompok P_3 .





Gambar 4.3 Gambaran histopatologi proliferasi sel paru pada tiap kelompok dengan pewarnaan imunohistokimia metode PCNA pada mikroskop pembesaran 400 kali

Keterangan:

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

4.1.2 Hasil Uji Analisis

Syarat yang harus dimiliki oleh data penelitian agar dapat melakukan analisis data dengan uji parametrik *one way* ANOVA adalah harus memiliki data yang terdistribusi normal dan varians datanya seragam. 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 'H₀ diterima' (data normal atau tidak terdapat perbedaan) jika *sig.* > 0,05 dan begitu sebaliknya.

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | |
|------------------|---------------------------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. |
| K ₍₋₎ | ,242 | 5 | ,200 |
| K ₍₊₎ | ,204 | 5 | ,200 |
| P ₁ | ,186 | 5 | ,200 |
| P ₂ | ,192 | 5 | ,200 |
| P ₃ | ,227 | 5 | ,200 |

Keterangan:

K₍₋₎ = Kelompok kontrol negatif (tanpa induksi DMBA dan pemberian sari kedelai)

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

P₁ = Kelompok perlakuan I (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 5 mg/hari)

P₂ = Kelompok perlakuan II (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 10 mg/hari)

P₃ = Kelompok perlakuan III (DMBA 4,2 mg/hari + sari kedelai 20 mg/hari)

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* pada Tabel 4.2, diperoleh nilai *significancy* untuk semua kelompok lebih besar dari 0,05 (*sig.* > 0,05) yang menandakan data tersebut terdistribusi normal (H₀ diterima).

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,986 | 4 | 20 | ,438 |

Dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji *levene*. Dari hasil perhitungan uji *levene* pun didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,438 (*sig.* > 0,05) yang menandakan varians data seragam (H_0 diterima).

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

Tabel 4.4 Hasil analisis data regresi linier

| Model | | Unstandardized | | Standardized | | |
|-------|--------------|----------------|------------|--------------|---------|------|
| | | Coefficients | | Coefficients | | |
| | | B | Std. Error | Beta | t | Sig. |
| 1 | (Constant) | 46,800 | 1,047 | | 44,680 | ,014 |
| | Sari.Kedelai | -1,091 | ,079 | -,997 | -13,784 | ,046 |

Keterangan : variabel terikat = jumlah proliferasi sel paru tikus

Berdasarkan uji regresi linier didapatkan nilai *sig.* = 0,046 (*sig.* < 0,05), maka dapat dikatakan nilai tersebut signifikan. Signifikan berarti ada pengaruh antara variabel bebas (sari kedelai) terhadap variabel terikat (gambaran proliferasi sel). Seberapa besar pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat ditunjukkan dengan nilai *R square* = 0,995 (Tabel 4.5). Hal tersebut berarti sari kedelai memberikan pengaruh sebesar 99% terhadap gambaran proliferasi sel paru.

Tabel 4.5 Besar pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat pada uji regresi linier

| Model | R | R Square | Adjusted R Square | Std. Error of the Estimate |
|-------|-------------------|----------|-------------------|----------------------------|
| 1 | ,997 ^a | ,995 | ,990 | ,85524 |

Bentuk umum garis regresi (x terhadap y) yaitu $Y = a + bX$, dengan $a = 46,8$ dan $b = -1,091$ yang didapat dari hasil uji regresi linier dengan SPSS 18 (Tabel 4.4). Sehingga persamaannya menjadi $Y = 46,8 - 1,091 X$, dengan Y adalah variabel terikat dan X adalah variabel bebas.

Setelah mengetahui ada tidaknya pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat dengan uji regresi linier, dilanjutkan dengan melakukan uji *one way* ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil yang bermakna dari masing-masing kelompok. Interpretasi hasil analisis data *One way* ANOVA sama dengan uji normalitas dan homogenitas yaitu 'H₀ diterima' (data normal atau tidak terdapat perbedaan) jika *sig.* > 0,05 dan H₀ ditolak' (data terdapat perbedaan) jika *sig.* < 0,05.

Tabel 4.6 Hasil data *one way* ANOVA

| | <i>Sum of Squares</i> | <i>df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F</i> | <i>Sig.</i> |
|-----------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------|-------------|
| <i>Between Groups</i> | 2398,800 | 4 | 599,700 | 30,660 | ,000 |
| <i>Within Groups</i> | 391,200 | 20 | 19,560 | | |
| Total | 2790,000 | 24 | | | |

Sesuai hasil uji *one way* ANOVA, diperoleh nilai *significancy* 0,000 (*Sig.* < 0,05) yang berarti terdapat perbedaan Gambaran histopatologi gambaran proliferasi sel pada 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan (H₀ ditolak). Pada hasil yang terdapat pada Tabel 4.4, hanya menunjukkan bahwa antar kelompok memiliki perbedaan jumlah gambaran proliferasi sel. Oleh karena itu, untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan yang bermakna, maka dilakukan uji lanjutan dengan analisis *Post Hoc*. Uji lanjutan yang dipakai pada data penelitian ini ialah tes *tukey honestly significant difference* (HSD). Pada hasil analisa *Post Hoc*, cara interpretasinya yaitu 'H₀ diterima' (data normal atau tidak terdapat perbedaan) jika *sig.* > 0,05 dan 'H₀ ditolak' (data terdapat perbedaan) jika *sig.* < 0,05.

Tabel 4.7 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 ₍₋₎ | K ₍₊₎ | -25,200* | 2,797 | ,000 | -33,570 | -16,829 |
| | P ₁ | -16,000* | 2,797 | ,000 | -24,370 | -7,629 |
| | P ₂ | -9,400* | 2,797 | ,023 | -17,770 | -1,029 |
| | P ₃ | ,600 | 2,797 | ,999 | -7,770 | 8,970 |
| K ₍₊₎ | K ₍₋₎ | 25,200* | 2,797 | ,000 | 16,829 | 33,570 |
| | P ₁ | 9,200* | 2,797 | ,027 | ,829 | 17,570 |
| | P ₂ | 15,800* | 2,797 | ,000 | 7,429 | 24,170 |
| | P ₃ | 25,800* | 2,797 | ,000 | 17,429 | 34,170 |
| P ₁ | K ₍₋₎ | 16,000* | 2,797 | ,000 | 7,629 | 24,370 |
| | K ₍₊₎ | -9,200* | 2,797 | ,027 | -17,570 | -,829 |
| | P ₂ | 6,600 | 2,797 | ,168 | -1,770 | 14,970 |
| | P ₃ | 16,600* | 2,797 | ,000 | 8,229 | 24,970 |
| P ₂ | K ₍₋₎ | 9,400* | 2,797 | ,023 | 1,029 | 17,770 |
| | K ₍₊₎ | -15,80000* | 2,79714 | ,000 | -24,1701 | -7,4299 |
| | P ₁ | -6,60000 | 2,79714 | ,168 | -14,9701 | 1,7701 |
| | P ₃ | 10,00000* | 2,79714 | ,014 | 1,6299 | 18,3701 |
| P ₃ | K ₍₋₎ | -,600 | 2,797 | ,999 | -8,970 | 7,770 |
| | K ₍₊₎ | -25,800* | 2,797 | ,000 | -34,170 | -17,429 |
| | P ₁ | -16,600* | 2,797 | ,000 | -24,970 | -8,229 |
| | P ₂ | -10,000* | 2,797 | ,014 | -18,370 | -1,629 |

Pada pembacaan hasil tes *tukey HSD* di Tabel 4.5, diketahui bahwa hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok K₍₋₎ dengan kelompok K₍₊₎ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok K₍₋₎ dengan kelompok P₁ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok K₍₋₎ dengan kelompok P₂ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,023 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok

$K_{(-)}$ dengan kelompok P_3 tidak memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,999 (*sig.* > 0,05).

Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok $K_{(+)}$ dengan kelompok $K_{(-)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok $K_{(+)}$ dengan kelompok P_1 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,023 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok $K_{(+)}$ dengan kelompok P_2 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok $K_{(+)}$ dengan kelompok P_3 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05).

Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_1 dengan kelompok $K_{(-)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_1 dengan kelompok $K_{(+)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,027 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_1 dengan kelompok P_2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,168 (*sig.* > 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_1 dengan kelompok P_3 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05).

Hasil pengukuran proliferasi sel pada kelompok P_2 dengan kelompok $K_{(-)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,023 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_2 dengan kelompok $K_{(+)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_2 dengan kelompok P_1 tidak memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,168 (*sig.* > 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_2 dengan kelompok P_3 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,14 (*sig.* < 0,05).

Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_3 dengan kelompok $K_{(-)}$ tidak memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,999 (*sig.* > 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_3 dengan kelompok $K_{(+)}$ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel pada kelompok P_3 dengan kelompok P_1 memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,000 (*sig.* < 0,05). Hasil pengukuran rerata proliferasi sel

pada kelompok P₃ dengan kelompok P₂ memiliki perbedaan yang signifikan yaitu 0,14 (*sig.* < 0,05).

4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh sari kedelai terhadap proliferasi sel pada kanker paru tikus Wistar yang diinduksi DMBA. Sari kedelai diberikan dalam berbagai dosis dengan tujuan untuk mengetahui dosis optimal yang dapat berpengaruh maksimal terhadap proliferasi sel paru.

Pada penelitian ini digunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) betina sebagai hewan uji, karena penelitian yang dilakukan di Amerika, wanita memiliki resiko terkena kanker paru sama besarnya dengan laki-laki, terutama wanita yang memasuki masa menopause (Asali, 2012). Pemberian DMBA sebagai agen karsinogenik karena berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, DMBA merupakan karsinogen poten yang banyak digunakan pada hewan pengerat seperti tikus. Prokarsinogen DMBA utamanya menyerang organ kulit dan kelenjar mammae (Constantinou *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2003; Jae *et al.*, 2005). Sel kanker dapat bermetastasis dan menimbulkan kanker pada organ lain seperti paru, hati, jantung, kolon, lambung, ovarium, uterus, dan ginjal (Mun'im *et al.*, 2006). 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 per oral sehingga memungkinkan dapat menyerang beberapa jaringan pada hewan coba (Mun'im, 2006).

Pada penelitian digunakan larutan minyak wijen sebagai pembawa bahan penginduksi sel kanker DMBA. Minyak wijen merupakan pelarut yang efektif untuk DMBA (Syukri, 2008).

Sari kedelai yang digunakan dalam penelitian ini berfungsi sebagai antioksidan sekaligus sebagai anti kanker. 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 *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang salah satunya adalah DMBA (Susilowati, 2010)

Senyawa PAH (dalam penelitian ini memakai prokarsinogen DMBA) setelah mengalami transformasi kimiawi akan menghasilkan metabolit akhir yaitu *ultimate carcinogen* yang bersifat elektrofilik (memiliki atom yang kekurangan elektron) yang sangat reaktif dan bereaksi dengan atom kaya elektron di RNA, protein sel, dan terutama DNA. Interaksi antara senyawa karsinogen dengan DNA biasa disebut DNA *adduct* yang dapat menyebabkan kerusakan DNA sehingga terjadi proses karsinogenesis (Susilowati, 2010)

Interaksi ini dapat dihambat dengan adanya detoksifikasi senyawa karsinogen atau *ultimate carcinogen* oleh enzim-enzim pemetabolisme terutama pada fase II yaitu enzim *glutathione S-transferase* (GST). Kemampuan detoksifikasi akan meningkat apabila ada peningkatan aktivitas (induksi) enzim-enzim ini. Peningkatan detoksifikasi menyebabkan senyawa reaktif menjadi tidak aktif dan mudah diekskresikan keluar tubuh. Aktifitas selanjutnya terjadi penurunan DNA *adduct* (kerusakan DNA) dan proses inisiasi karsinogen dihambat. Kandungan isoflavon dalam flavonoid yang sangat tinggi pada sari kedelai mampu meningkatkan ekspresi enzim GST. Enzim ini merupakan enzim multifungsi yang berperan penting untuk perlindungan sel dari kerusakan oleh bahan kimia toksik (Burg *et al.*, 2006).

Mekanisme lain dari isoflavon sari kedelai dalam mempengaruhi proliferasi sel pada kanker paru adalah melalui penghambatan siklus sel (Darma *et al.*, 2008). 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, hal tersebut disebabkan antara lain oleh karena ekspresi berlebihan dari reseptor faktor pertumbuhan HER2, mutasi di jalur penghantar sinyal supresor gen TGF- β , mutasi gen TP53 (Kumar *et al.*, 2007).

Ekspresi berlebihan dari reseptor faktor pertumbuhan HER2 pada kanker paru akan menyebabkan amplifikasi sinyal yang diterima dari faktor pertumbuhan. Hal tersebut menyebabkan ikatan *Epidermal Growth Factor* (EGF) – HER2 dalam jumlah kecil saja akan menghasilkan sinyal mitogenik yang teramplifikasi, sehingga mengaktifasi transduksi sinyal pertumbuhan dengan cara autofosforilasi kemudian mengaktifkan jalur *mitogen activated protein* (MAP) kinase dan menghasilkan protein *myelocytomatosis oncogen* (MYC) dalam jumlah besar untuk memasuki siklus sel secara berkelanjutan. Kandungan genistein dalam isoflavon di sari kedelai mampu menurunkan ekspresi berlebihan dari HER2 tersebut dengan menginaktivasi protein transduksi sinyal dengan menghentikan autofosforilasi melalui hidrolisis GTP menjadi GDP (Darma *et al.*, 2008). Dengan keadaan protein transduksi sinyal yang inaktif ini kadar protein MYC akan menurun / tidak terbentuk sehingga proliferasi berlebihan dapat dihambat (Kumar *et al.*, 2007)

TGF- β adalah inhibitor kuat bagi proliferasi. Efek antiproliferasi TGF- β diperantarai terutama oleh pengendalian jalur (retino blastoma) RB. Pada kanker paru terjadi mutasi di jalur penghantar sinyal TGF- β sehingga sinyal antiproliferasi dari reseptor ke inti sel terhambat (Kumar *et al.*, 2007). Genistein dan daidzein dalam isoflavon di sari kedelai mampu meningkatkan sintesis atau mengurangi degradasi dari TGF- β (Darma *et al.*, 2008) sehingga berpengaruh terhadap penghambatan proliferasi sel paru dengan merangsang produksi CDKI p15 dan p27 serta menghambat transkripsi CDK2, CDK4 serta siklin A dan E yang menyebabkan penghentian siklus sel pada fase G₁ (Kumar *et al.*, 2007)

Gen TP 53 adalah salah satu gen lain selain TGF- β yang dapat memberikan sinyal antiproliferasi, namun gen ini mempunyai efek khusus lainnya yakni mengendalikan apoptosis. Secara singkat, TP53 mendeteksi kerusakan DNA melalui mekanisme yang tidak diketahui dan membantu perbaikan DNA dengan menyebabkan penghentian siklus sel di fase G₁ melalui CDKI p21 dan memicu gen yang memperbaiki DNA (Gambar 4.3). Sel yang mengalami kerusakan DNA dan tidak dapat diperbaiki diarahkan oleh TP53 untuk mengalami apoptosis. Pada kerusakan DNA, TP53 tidak diaktifkan sehingga penghentian siklus sel untuk

perbaikan DNA tidak terjadi, hal ini mengakibatkan sel-sel mutan terekspansi dan bermutasi secara berlebihan (Kumar *et al.*, 2007).

Genistein dalam sari kedelai dapat meningkatkan ekspresi gen TP53 (Darma, 2008), sehingga memberikan waktu bernafas bagi suatu sel untuk memperbaiki DNA nya dengan penghentian pada fase G₁ dan menginduksi protein tertentu seperti GADD45 yang membantu perbaikan DNA melalui penghentian pertumbuhan dan kerusakan DNA. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, apabila penghentian siklus tersebut tidak mampu memberikan waktu untuk sel guna memperbaiki kerusakan DNA nya, maka gen TP53 akan merangsang gen pemicu apoptosis seperti gen BAX untuk mengapoptosis DNA yang rusak tersebut (Kumar *et al.*, 2007).

Pada hasil uji lanjutan dengan uji *tukey* HSD pada Tabel 4.7, dapat dilihat bahwa masing-masing kelompok dibandingkan rerata data hasil proliferasi sel satu sama lain. Pada perbandingan kelompok K₍₋₎ dengan 4 kelompok lainnya (K₍₊₎, P₁, P₂, P₃), hanya kelompok P₃ yang memiliki hasil yang tidak signifikan dengan kelompok K₍₋₎ (*sig.* > 0,05). Hal ini menunjukkan rerata proliferasi pada K₍₋₎ berbeda secara bermakna dengan semua kelompok kecuali kelompok P₃.

Perbandingan kelompok K₍₊₎ dengan 4 kelompok lainnya, semua memiliki hasil yang signifikan (*sig.* < 0,05). Hal ini menunjukkan rerata proliferasi sel pada K₍₊₎ berbeda secara bermakna dengan semua kelompok (K₍₋₎, P₁, P₂, P₃).

Perbandingan kelompok P₁ dengan kelompok K₍₋₎, K₍₊₎, P₃ memiliki hasil yang signifikan (*sig.* < 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan rerata proliferasi sel yang bermakna.

Perbandingan kelompok P₁ dengan P₂ didapatkan hasil yang tidak signifikan (*sig.* > 0,05). Hal ini menunjukkan pada kelompok P₁ dan P₂ rerata proliferasi sel yang mirip tetapi masih berbeda dengan gambaran proliferasi pada kelompok K₍₋₎. Data ini berarti dengan dosis sari kedelai pada P₁ 5mg/hari dan dosis sari kedelai pada P₂ 10mg/hari belum bisa dikatakan dapat menghambat proliferasi sel paru pada kanker paru secara maksimal.

Perbandingan kelompok P₂ dengan kelompok K₍₋₎, K₍₊₎, P₃ memiliki hasil yang signifikan (*sig.* < 0,05), Menunjukkan ada perbedaan rerata proliferasi sel

yang signifikan. Perbandingan kelompok P₂ dengan kelompok P₁ memiliki hasil yang tidak signifikan (sig. > 0,05), artinya hampir tidak ada perbedaan rerata proliferasi sel pada kelompok P₁ dan kelompok P₂

Perbandingan kelompok P₃ dengan kelompok K₍₊₎, P₁, P₂ memiliki hasil yang signifikan (sig. < 0,05). Ini menunjukkan ada perbedaan rerata proliferasi sel yang signifikan. Perbandingan kelompok P₃ dengan kelompok K₍₋₎ didapatkan hasil yang tidak signifikan (sig. > 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa rerata proliferasi sel pada kelompok P₃ tidak berbeda dengan rerata proliferasi sel pada kelompok K₍₋₎. Data tersebut menandakan bahwa pemberian sari kedelai dengan dosis 20 mg/hari dapat menghambat proliferasi sel paling maksimal.

Dari hasil uji lanjutan menggunakan *tukey* HSD tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa dosis optimum sari kedelai yang dapat menghambat proliferasi sel pada kanker paru adalah 20mg/hari.

Hasil yang tidak signifikan pada beberapa perbandingan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dari uji *tukey* HSD dapat disebabkan oleh beberapa sebab. Pertama, dapat disebabkan oleh dosis sari kedelai pada kelompok tersebut belum mampu menghasilkan pengaruh terhadap proliferasi sel pada kanker paru, sehingga mendapat perbedaan hasil yang tidak bermakna secara signifikan dengan kelompok kontrol positif. Kedua, dapat disebabkan karena rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only group design*, sehingga tidak dapat diketahui keadaan paru tikus sebelum perlakuan apakah normal atau sudah mengalami kerusakan, karena tidak memungkinkannya dilakukan pemeriksaan histopatologi sebelum perlakuan. Ketiga, akibat dari stress selama perlakuan. Stress yang terjadi dapat diakibatkan karena ketidaknyamanan akibat kondisi kandang yang tidak luas sehingga ruang gerak tikus terbatas. Pemicu stress yang lain dapat disebabkan oleh proses pemberian cairan melalui sonde. Proses penyondean dilakukan secara paksa, oleh karena itu hal ini dapat membuat tikus merasa tidak nyaman dan stress. Ada korelasi positif antara stress dengan penurunan sistem imun baik spesifik ataupun non spesifik. Penurunan sistem imun mengakibatkan penurunan produksi antioksidan seperti glutathion. Seperti yang telah diketahui bahwa tubuh menghasilkan radikal bebas secara alami dari proses metabolisme. Kurangnya

jumlah antioksidan tubuh untuk menetralkan radikal bebas yang ada dapat menyebabkan stress oksidatif. Pada kondisi tubuh yang seperti ini, sel tubuh rentan untuk mengalami kerusakan akibat serangan dari benda asing maupun dari radikal bebas itu sendiri (Gunawan *et al*, 2009).



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan, kesimpulan yang dapat ditarik adalah sebagai berikut:

- a. Sari kedelai dapat menghambat proliferasi sel pada kanker paru.
- b. Pemberian sari kedelai dengan dosis 5 mg, 10 mg, dan 20 mg berpengaruh dalam menghambat proliferasi sel pada kanker paru dengan hasil yang berbeda secara signifikan.

5.2 Saran

- a. Diperlukan penelitian yang sejenis dengan metode yang lebih tepat untuk mendapatkan hasil yang lebih signifikan
- b. Diperlukan waktu penelitian yang lebih lama untuk mendapatkan gambaran kanker secara mikros maupun makros pada hewan coba
- c. Diperlukan penelitian lebih lanjut (uji klinis, uji toksisitas, dll.) agar sari kedelai dapat digunakan sebagai pencegahan kanker paru secara luas
- d. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kedelai dengan olahan yang berbeda dan manfaat lain yang dimiliki

DAFTAR PUSTAKA

Amin, Z. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II Edisi IV. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hlm 1005.

Ancuceanu, R. & Istudor, V. 2004. *Pharmacologically Aktive Natural Compounds for Lung Cancer*. Volume 9 No. 4. Romanian: Thome Research, inc. Hlm 402.

Asali, A. R. 2012. *Deteksi Dini Kanker Paru Dengan Low Dose Helical CT Scan*. Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Atma Jaya. CDK-189/vol.1. Hlm 70.

Asih, Astiti. 2009. *Isolasi dan identifikasi senyawa isoflavon dari kacang kedelai (Glycine max)*. *Jurnal kimia* 3 (1). ISSN 1907-9850: 33-40.

Budiarto, E. 2001. *Biostatistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat*. Edisi 2. Jakarta: EGC.

Burg, Riepsaarne, Pont, Mulder, dan Van. 2006. *Peptide-Bond Modified Glutathione Conjugate Analogs Modulate GST function in GSH-Conjugation, Drug Sensitivity and JNK Signaling*, *Biochem, Pharmacol.* 71: 268-277.

Cheng, Futakuchi, Ogawa, Iwata, Kasai, Tokudome, Hirose, dan Shirai. 2003. *Dose response study of conjugated fatty acid derived from safflower oil on mammary and colon carcinogenesis pretreated with 7,12dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in female SpragueDawley rats*. *Cancer Letters* 196, 2003: 161-168.

Constantinou, A., Mehta, R., dan Husband, A. 2003. *Phenoxodiol, a novel isoflavone derivative, inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague Dawley rats*. *European Journal of Cancer* 39, 2003: 1012-1018 51.

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. *Onkologi Klinis*. Edisi 2. Jakarta: EGC. Hlm 337-351.

Djojodibroto, R. D. 2009. *Respirologi Medicine*. Jakarta : EGC. Hlm 17-21.

- Drake, R. L., Volg, W., dan Mitchell, A. 2007. *Grays Anatomy for Students*. Amerika: Elsevier. Inc.
- Esti & Sediadi, A. 2000. *Pembuatan Bubuk Kedelai Untuk Minuman*. Jakarta: Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Fauci & Longo. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi 17. New York: Mc-Graw Hill.
- Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, dan Elyabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 5*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik, FK UI.
- Hanahan, D. & Weinberg, R. A. 2000. *The Hallmarks of Cancer*. Cell 100:57.
- Irwan. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine Max (L) Merrill)*. Jatinangor: Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran.
- Jae, J. K., Wallig, M. A., dan Singletary, K. W. 2005. *Purple grape juice inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation*. *Cancer Letters* 20, 2005: 1-10.
- Junqueira, L. C. & Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Kim, Berhow, Chi, Lee, dan Chung. 2006. *Evaluation of Soyasaponin, Isoflavon, Portein, Lipid, and Free Sugar Accumulation in Developing Sobeian Seeds*. *Korea Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 54: 10003 – 10010.
- Kumar, V., Cotran, R. S., dan Robbins, S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC. Hlm 559-565.
- 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.
- 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.

- Nukleus Precise News Letter. 2011. *Kanker paru (Lung Cancer)*. Edisi 73. Jakarta: PT Nukleus Precise.
- Pawiroharsono, Suyanto. 2008. *Prospek dan Manfaat Isoflavon pada Kesehatan, Direktorat Teknologi Bioindustri*. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 2003. *Kanker Paru Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*.
- Pratiknya, A. W. 2003. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Price, S. A. & Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi Proses-Proses Penyakit*. Vol. 2 Edisi 6. Jakarta: EGC. Hlm 843-849.
- Putz, R. & Pabst, R. 2000. *Sobotta*. Jilid II Edisi 21. Jakarta: EGC.
- Simoda, Kei & Hamada, Hiroki. 2010. *Synthesis of β -Maltooligosaccharides of Glycitein and Daidzein and their Anti-Oxidant and Anti-Allergic Activities*. ISSN 1420-3049.
- Sloane, E. 2003. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*. Jakarta: EGC.
- Standring, Susan. 2008. *Gray's Anatomy The anatomical Basis of Clinical Practice*. Edisi 39. USA : Elsevier's Health Sciences Right Departement Philadelphia.
- Stubert, J. & Gerber, B. 2009. *Isoflavone - Mechanism of Action and Impact on Breast Cancer Risk*. Germany: Department of Obstetrics and Gynecology, University of Rostock.
- Suprpto. 2001. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Susilowati. 2010. *Efek Kemopreventif Ekstrak Metanol Kulit Kayu Nangka (Artocarpus Heterophylla Lmk.) Pada Karsinogenesis Kanker Payudara Tikus Betina yang Diinduksi DMBA*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Syukri, Y.S. 2008. *Aktivitas Antikarsinogenesis Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa pada Mencit yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasena*. *Jurnal Ilmu kefarmasian Indonesia*. ISSN 1693-1831.
- Trialsight. 2008. *Respiratory system anatomy*.
http://www.trialsightmedia.com/exhibit_store/index.php?main_page=product_info&cPath=9&products_id=15. 2012

Wahyuni, Swidarmoko, Rogayah dan Hidayat. 2011. *The Positive Result Of Cytology Brushing At Flexible Fiberoptic Bronchoscopy Compared With Transthoracic Needle Aspiration In Central Lung Tumor*. Vol. 31 No. 1. Jakarta : Depatemen Of Pulmonology An Respiratory Medicine Faculty Of Medicine University Of Indonesia.



LAMPIRAN

A. Skema pengecatan spesimen jaringan paru dengan metode PCNA



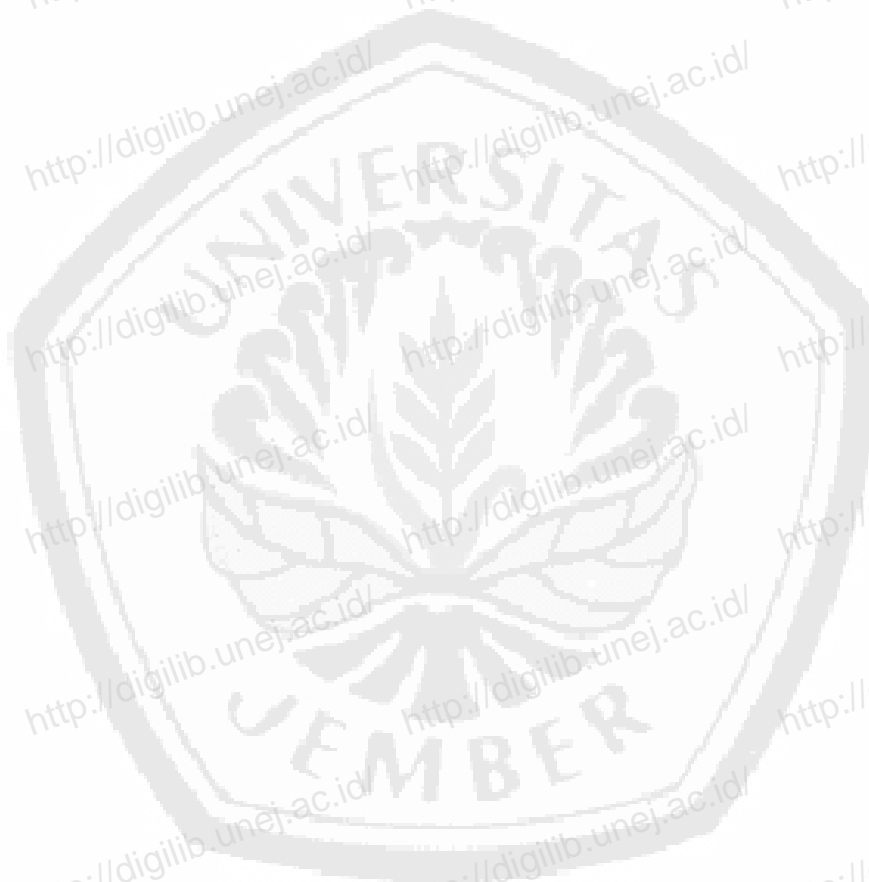
10 Tetes Amonia Water



Dab Chromogen



Tutup Object Glass Dengan Cover Glass Diberi Entelan



B. Tampilan Hasil Analisis Menggunakan SPSS 18

| | | Tests of Normality | | | | | |
|------------------------|-------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Nomer | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Jumlah Proliferasi Sel | 1 | ,242 | 5 | ,200 [*] | ,897 | 5 | ,395 |
| kanker Paru | 2 | ,204 | 5 | ,200 [*] | ,937 | 5 | ,642 |
| | 3 | ,186 | 5 | ,200 [*] | ,943 | 5 | ,687 |
| | 4 | ,192 | 5 | ,200 [*] | ,985 | 5 | ,962 |
| | 5 | ,227 | 5 | ,200 [*] | ,943 | 5 | ,687 |

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 Paru

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,986 | 4 | 20 | ,438 |

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

Model Summary^b

| Model | R | R Square | Adjust R Square | Std. Error of the Estimate |
|-------|-------------------|----------|-----------------|----------------------------|
| 1 | ,997 ^a | ,995 | ,990 | ,85524 |

a. Predictors: (Constant), Sari.Kedelai

b. Dependent Variable: Jumlah Proliferasi Sel kanker Paru

c.

Hasil Uji Analisis Regresi Linier pada SPSS 18

ANOVA

Jumlah Proliferasi Sel kanker Paru

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 2398,800 | 4 | 599,700 | 30,660 | ,000 |
| Within Groups | 391,200 | 20 | 19,560 | | |
| Total | 2790,000 | 24 | | | |

Hasil Analisis *One Way* ANOVA pada SPSS 18

Multiple Comparisons

Jumlah Proliferasi Sel kanker Paru

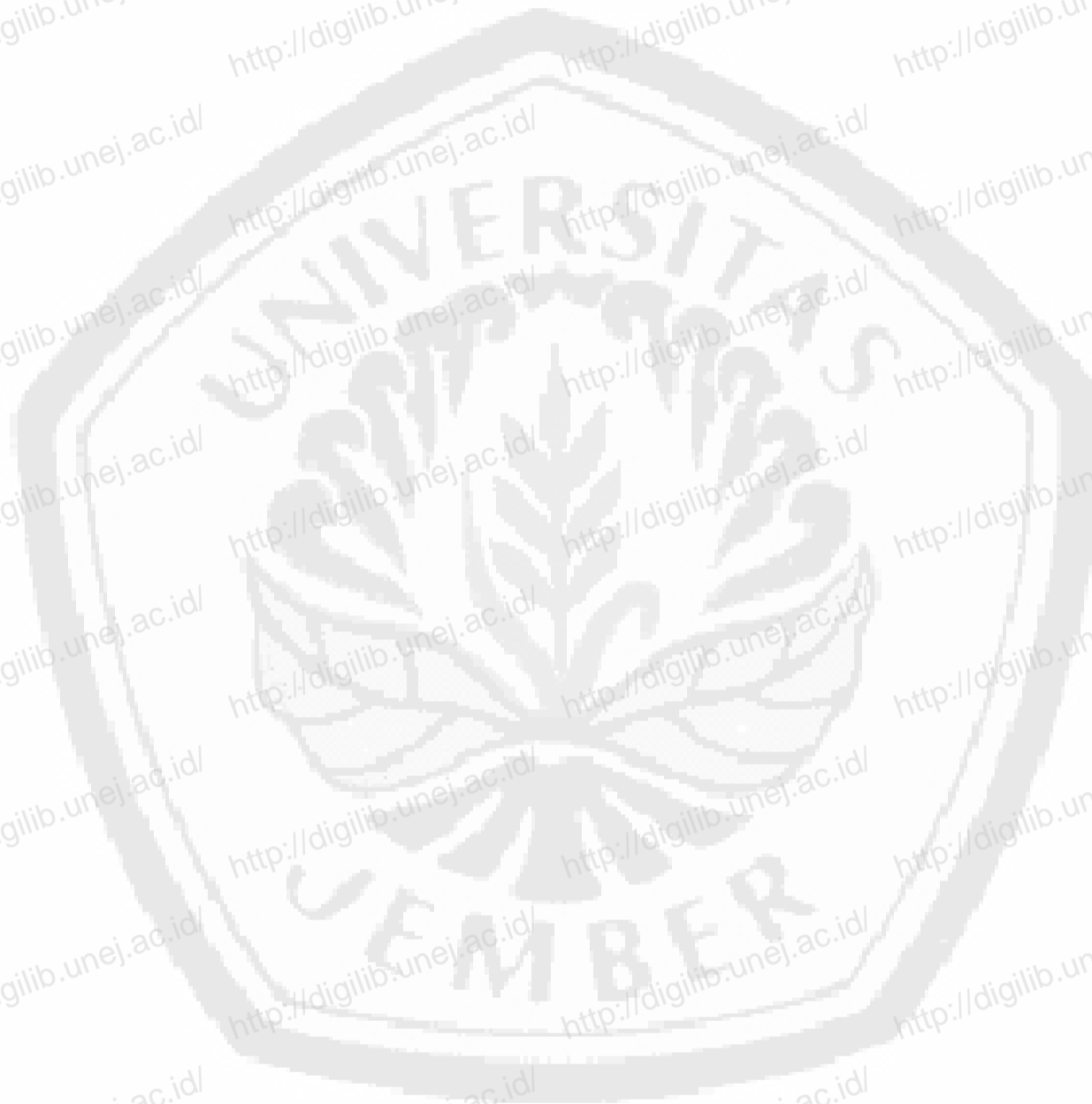
Tukey HSD

| (I) Nomer | (J) Nomer | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-----------|-----------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | -25,20000* | 2,79714 | ,000 | -33,5701 | -16,8299 |
| | 3 | -16,00000* | 2,79714 | ,000 | -24,3701 | -7,6299 |
| | 4 | -9,40000* | 2,79714 | ,023 | -17,7701 | -1,0299 |
| | 5 | ,60000 | 2,79714 | ,999 | -7,7701 | 8,9701 |
| 2 | 1 | 25,20000* | 2,79714 | ,000 | 16,8299 | 33,5701 |
| | 3 | 9,20000* | 2,79714 | ,027 | ,8299 | 17,5701 |
| | 4 | 15,80000* | 2,79714 | ,000 | 7,4299 | 24,1701 |
| | 5 | 25,80000* | 2,79714 | ,000 | 17,4299 | 34,1701 |
| 3 | 1 | 16,00000* | 2,79714 | ,000 | 7,6299 | 24,3701 |
| | 2 | -9,20000* | 2,79714 | ,027 | -17,5701 | -,8299 |
| | 4 | 6,60000 | 2,79714 | ,168 | -1,7701 | 14,9701 |
| | 5 | 16,60000* | 2,79714 | ,000 | 8,2299 | 24,9701 |
| 4 | 1 | 9,40000* | 2,79714 | ,023 | 1,0299 | 17,7701 |
| | 2 | -15,80000* | 2,79714 | ,000 | -24,1701 | -7,4299 |
| | 3 | -6,60000 | 2,79714 | ,168 | -14,9701 | 1,7701 |
| | 5 | 10,00000* | 2,79714 | ,014 | 1,6299 | 18,3701 |
| 5 | 1 | -,60000 | 2,79714 | ,999 | -8,9701 | 7,7701 |
| | 2 | -25,80000* | 2,79714 | ,000 | -34,1701 | -17,4299 |

| | | | | | |
|---|------------|---------|------|----------|---------|
| 3 | -16,60000* | 2,79714 | ,000 | -24,9701 | -8,2299 |
| 4 | -10,00000* | 2,79714 | ,014 | -18,3701 | -1,6299 |

*. 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 ₍₋₎ | 1 | 2 | 4 | 2 | 3 | 0 | 4 | 6 | 5 | 4 | 3 | 33 |
| | 2 | 4 | 2 | 4 | 1 | 1 | 5 | 5 | 3 | 3 | 1 | 29 |
| | 3 | 0 | 3 | 5 | 2 | 3 | 5 | 2 | 2 | 4 | 2 | 28 |
| | 4 | 1 | 2 | 0 | 2 | 5 | 0 | 3 | 2 | 4 | 1 | 20 |
| | 5 | 4 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 3 | 5 | 2 | 2 | 19 |
| K ₍₊₎ | 1 | 6 | 7 | 3 | 4 | 8 | 5 | 5 | 2 | 3 | 4 | 47 |
| | 2 | 4 | 8 | 8 | 7 | 5 | 6 | 4 | 3 | 5 | 2 | 52 |
| | 3 | 8 | 5 | 7 | 9 | 4 | 5 | 6 | 6 | 3 | 4 | 57 |
| | 4 | 3 | 8 | 4 | 5 | 6 | 4 | 7 | 5 | 5 | 2 | 49 |
| | 5 | 1 | 5 | 4 | 5 | 6 | 4 | 8 | 5 | 7 | 5 | 50 |
| P ₁ | 1 | 4 | 5 | 6 | 2 | 4 | 4 | 7 | 3 | 4 | 2 | 41 |
| | 2 | 4 | 3 | 5 | 6 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 4 | 38 |
| | 3 | 2 | 4 | 4 | 5 | 8 | 5 | 6 | 3 | 4 | 3 | 44 |
| | 4 | 6 | 3 | 5 | 4 | 3 | 6 | 3 | 2 | 5 | 2 | 39 |
| | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 6 | 4 | 7 | 6 | 4 | 5 | 47 |
| P ₂ | 1 | 2 | 0 | 5 | 3 | 6 | 4 | 6 | 3 | 5 | 3 | 37 |
| | 2 | 5 | 3 | 4 | 6 | 3 | 4 | 3 | 5 | 6 | 2 | 41 |
| | 3 | 0 | 1 | 0 | 4 | 5 | 3 | 2 | 5 | 3 | 6 | 29 |
| | 4 | 4 | 2 | 3 | 1 | 6 | 2 | 4 | 3 | 2 | 7 | 34 |
| | 5 | 5 | 3 | 4 | 1 | 0 | 5 | 4 | 6 | 4 | 3 | 35 |
| P ₃ | 1 | 1 | 1 | 3 | 4 | 5 | 5 | 1 | 2 | 3 | 3 | 28 |
| | 2 | 0 | 3 | 4 | 3 | 1 | 5 | 2 | 0 | 2 | 3 | 23 |
| | 3 | 1 | 0 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 0 | 3 | 3 | 21 |
| | 4 | 3 | 2 | 0 | 1 | 4 | 5 | 4 | 6 | 5 | 0 | 30 |
| | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 24 |

D. Foto Penelitian

