

**EFEKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR  
(*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN TAURIN TERHADAP RESPON  
HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)  
YANG DIINDUKSI BENZO( $\alpha$ )PIREN**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**IFFA AFIQA KHAIRANI**



**AKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2017**

## ABSTRACT

### ANTICANCER EFFECTIVITY OF KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) LEAVES ETHANOLIC EXTRACT AND TAURINE ON HEPAR HISTOPATHOLOGY OF MALE MICE (*Mus musculus* L.) INDUCED BY BENZO( $\alpha$ )PYRENE

By

IFFA AFIQA KHAIRANI

Cancer is a disease characterized by the continuously proliferate of cell, so that generate abnormal tissue growth. Various natural ingredients needed as an alternative to reduce the bad effect of chemical drugs consumption on cancer chemotherapies. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) contains high antioxidants that can inhibit carcinogenesis by inducing the process of apoptosis in cancer cells. In addition, taurine (an organic acid group) also act as an antioxidant and anticancer by protect a cells from the damage caused by free radicals. The aim of this study was to determine the anticancer effectivity of kenikir leaves ethanolic extract and taurine on the hepar histopathology of male mice induced by benzo( $\alpha$ )pyrene.

This study was conducted in a complete randomized design by using four treatments (K1, K2, K3 and K4), each in six replications. K1 used as control were not given any treatment. K2 were induced by 0,3 mg/bw benzo( $\alpha$ )pyrene subcutaneously for 10 days without being given kenikir extract nor taurine. K3 were given 20,2 mg/bw of kenikir leaves extract for 15 days after being induced by benzo( $\alpha$ )pyrene. K4 were given 15,6 mg/bw of taurine which was combined by 20,2 mg/bw of kenikir leaves extract for 15 days after being induced by benzo( $\alpha$ )pyrene. The data were analyzed using ANOVA (Analysis of Variance) then continued by calculating least significant difference at 0,05 level of significance. The results indicated that taurine which was combined by kenikir leaves ethanolic extract had the ability to protect hepar form the damage caused by benzo( $\alpha$ )pyrene.

**Keywords:** *Cosmos caudatus* Kunth., taurine, *Mus musculus* L., benzo( $\alpha$ )pyrene, hepar histopathology.

## ABSTRAK

### **EFEKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN TAURIN TERHADAP RESPON HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO( $\alpha$ )PIREN**

Oleh

**IFFA AFIQA KHAIRANI**

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan abnormal sel secara terus menerus dan tidak terkendali. Berbagai bahan alami diperlukan sebagai upaya mengurangi efek samping dari penggunaan obat-obatan kimia dalam terapi penyembuhan kanker. Tumbuhan Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mengandung antioksidan cukup tinggi yang mampu menghambat karsinogenesis dengan memacu proses apoptosis pada sel kanker. Disamping itu, taurin (golongan asam organik) juga bersifat sebagai antioksidan dan antikarsinogenik karena mampu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji efektivitas antikanker dari ekstrak etanol daun kenikir dan taurin terhadap gambaran histopatologi hepar mencit jantan yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing 6 ulangan. Kelompok K1 (diberi pakan standar dan air minum hingga akhir penelitian), K2 (diinduksi dengan benzo( $\alpha$ )piren secara subkutan dengan dosis 0,3 mg/bb selama 10 hari tanpa pemberian bahan uji), K3 (setelah diinduksi benzo( $\alpha$ )piren, diberi ekstrak etanol daun kenikir dengan dosis 20,2 mg/bb selama 15 hari) dan K4 (setelah diinduksi benzo( $\alpha$ )piren, diberi taurin sebanyak 15,6 mg/bb yang dikombinasikan dengan ekstrak etanol daun kenikir sebesar 20,2 mg/bb selama 15 hari). Hasil analisis dengan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan pemberian taurin yang dikombinasikan dengan ekstrak etanol daun kenikir merupakan dosis yang efektif untuk melindungi kerusakan jaringan hepar mencit akibat pemberian benzo( $\alpha$ )piren.

**Kata kunci :** *Cosmos caudatus* Kunth., taurin, *Mus musculus* L., benzo( $\alpha$ )piren, histopatologi hepar

**EFEKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR  
(*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN TAURIN TERHADAP RESPON  
HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)  
YANG DIINDUKSI BENZO( $\alpha$ )PIREN**

Oleh

**IFFA AFIQA KHAIRANI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

Judul Skripsi : **EFEKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK  
ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus  
Kunth.*) DAN TAURIN TERHADAP  
RESPON HISTOPATOLOGI HEPAR  
MENCIT JANTAN (*Mus musculus L.*) YANG  
DIINDUKSI BENZO( $\alpha$ )PIREN**

Nama Mahasiswa : *Iffa Afifa Khairani*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1317021038

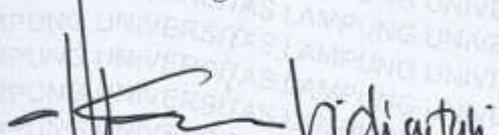
Program Studi : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

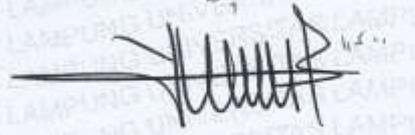


**1. Komisi Pembimbing**

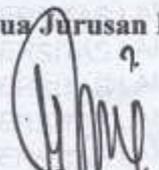
**Pembimbing I**

  
**Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**  
NIP 19610611 198603 2 001

**Pembimbing II**

  
**Dra. Yulianty, M.Si.**  
NIP 19650713 199103 2 002

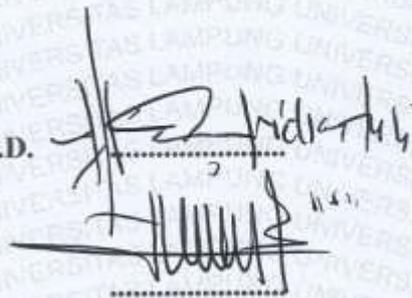
**2. Ketua Jurusan Biologi**

  
**Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
NIP 19660305 199103 2 001

**MENGESAHKAN**

**I. Tim Penguji**

**Ketua : Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**



**Sekretaris : Dra. Yulianty, M.Si.**

**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dra. Sri Murwani, M.Sc.**



**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.**  
NIP. 19710212 199512 1 001

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 04 April 2017**

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 18 November 1995. Penulis merupakan anak ketiga dari empat bersaudara oleh pasangan Bapak Agus Muhammad Hariri dan Ibu Indriyati.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2000. Pada tahun 2001, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Al-Kautsar Bandar Lampung. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2007. Pada tahun 2010 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Al-Kautsar Bandar Lampung.

Pada tahun 2013, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi Umum Jurusan Agribisnis, Embriologi Tumbuhan, Fisiologi Tumbuhan, Fisiologi Hewan dan Biokonservasi. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai sekretaris Bidang Sains dan Teknologi pada tahun 2014-2015.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Ujung Gunung Iilir, Kecamatan Menggala, Kabupaten Tulang Bawang pada Januari-Maret 2016 dan melaksanakan Kerja Praktik di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung pada Juli-Agustus 2016 dengan judul **“Diagnosa Penyakit pada Ikan Laut secara Histopatologi Di BBPBL Lampung”**.

## *PERSEMBAHAN*

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

*Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan*

*Rahmat, Ridho, dan Karunia-Nya yang tak henti-hentinya Dia berikan,*

*Kupersembahkan karya kecilku ini untuk:*

*Ummi dan Abiku tercinta yang senantiasa mengucap namaku dalam do'a,*

*mencurahkan kasih dan sayangNya untukku, serta selalu mendukung dan*

*memotivasi dalam setiap langkahku,*

*Kedua kakakku serta adikku tersayang yang juga selalu mendo'akan dan*

*memberikan semangat,*

*Bapak dan Ibu Dosen yang selalu memberikanku ilmu yang bermanfaat, yang*

*membuat diriku memahami akan kebesaran ALLAH SWT dan membantuku*

*dalam menggapai kesuksesan,*

*Teman-teman, kakak-kakak, dan adik-adik yang selalu memberikanku*

*pengalaman berharga, motivasi, dan semangat,*

*serta Almamaterku tercinta.*

## MOTTO

*“ALLAH akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.”*

*(Al-Mujadalah ayat 11)*

*“ALLAH tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. ia mendapat pahala (dari kebajikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya.”*

*(Al-Baqarah ayat 286)*

*"Cukuplah ALLAH bagiku; tidak ada Tuhan selain Dia. Hanya kepada-Nya aku bertawakkal dan Dia adalah Tuhan yang memiliki 'Arsy yang agung".*

*(At-Taubah ayat 129)*

*“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ?”*

*(Ar-Rahman Ayat 13)*

*“Siapa yang menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka ALLAH akan mudahkan baginya jalan menuju surga.”*

*(HR. Muslim, no. 2699)*

*”Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan Akhirat, maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu”.*

*(HR. Turmudzi)*

## SANWACANA

*Alhamdulillahirobbil'alamin,*

Puji dan syukur Penulis haturkan kepada ALLAH SWT , Dzat yang Maha Besar, Maha Memiliki Ilmu, serta lantunan sholawat beriring salam menjadi persembahan penuh kerinduan pada suri tauladan kita, Rasulullah Muhammad SAW.

Penulis telah menyelesaikan skripsi dengan judul **“EFEKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN TAURIN TERHADAP RESPON HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO( $\alpha$ )PIREN”** yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah berperan atas dorongan, bantuan, saran, kritik, dan bimbingannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, antara lain kepada :

1. Ummy dan Abiku tercinta atas segala kasih sayang yang telah diberikan, do'a yang terus dipanjatkan, serta tak henti-hentinya memberikan nasihat, semangat dan motivasi kepada penulis.

2. Kedua kakakku Muhammad Azizy Almanfaluthi, S.EI., dan Lathifa Indraningtyas, S.TP., M.Sc., serta adikku Fathiya Khairiya, yang selalu memberikan semangat, do'a, serta tempat untuk berbagi canda tawa.
3. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Pembimbing 1 atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Dra. Yulianty, M.Si. selaku Pembimbing 2 atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun penyusunan skripsi.
5. Ibu Dra. Sri Murwani, M.Sc. selaku Pembahas atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun penyusunan skripsi.
6. Prof. Ida Farida Rivai selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
7. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
8. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
9. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Ibu Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. selaku Kepala Laboratorium Biologi Molekuler dan Mbak Nunung Cahyawati, A.Md. selaku Laboran yang telah mengizinkan dan membantu penulis melaksanakan penelitian di Lab. tersebut.

11. Kak Bayu Putra Danan Jaya, A.Md., Ak. selaku Laboran Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu penulis dalam penelitian dan pembuatan preparat histopatologi hepar.
12. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan.
13. Rekan seperjuangan selama penelitian Flora Candra Sari dan Retno Khusniati Rofiqoh, terimakasih atas bantuan, kebersamaan dan kerjasamanya selama penelitian berlangsung.
14. Sahabat-sahabatku Nuraeni Prija Agustina, Oktarina Husaini dan Silvia Andriani, terimakasih telah menjadi partner terbaik, serta terimakasih atas do'a, dukungan, dan semangat yang telah diberikan.
15. Teman-teman terdekatku Rizka Devi Anggita, Balqis Ananda Putri, Nungki Nuari Dewi, Sarah Niati, Dea Putri Andeska, Tetania Tiara Putri, Fatmawati Putri, Carina Pertiwi, Eva Octarianita, Muhammad Pazry, Hafiz Auzar, Nur Rohman dan Hendra Verry Setyawan yang selama di perkuliahan selalu ada untuk membantu, memberi saran, kritik, motivasi, dan semangat, serta sudah memberikan kenangan indah di perkuliahan.
16. Teman-teman Biologi Angkatan 2013 atas keakraban, canda tawa, dukungan, dan kebersamaannya selama ini yang telah kalian berikan.
17. Teman-teman KKN Desa Ujung Gunung Ilir, Kecamatan Menggala, Kabupaten Tulang Bawang, Fatmawati Putri, Artanita Nawawi, Liyana Citra Pertiwi, Fadiyah Eryuda, Gita Marindra, Yota Pentawan dan Ardi Wibowo atas bantuan dan kebersamaannya selama KKN hingga saat ini.

18. Seluruh kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas kebersamaannya di FMIPA, Universitas Lampung.
19. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan penulis dukungan, berbagai kritik dan saran,
20. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan kebaikan pula dari Allah SWT. Aamiin.

Demikianlah, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya.

Bandar Lampung, 04 April 2017

**Iffa Afiqa Khairani**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>SAMPUL DEPAN</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN JUDUL DALAM</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>vii</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>ix</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>x</b>
<b>SANWACANA</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xviii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Kerangka Pikir.....	4
F. Hipotesis.....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
A. Hepar .....	7

B. Kanker .....	14
C. Kanker Hepar .....	17
D. Biologi Tumbuhan Kenikir ( <i>Cosmos caudatus</i> Kunth.).....	20
E. Taurin .....	23
F. Benzo( $\alpha$ )piren.....	25
G. Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....	26
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
A. Waktu dan Tempat .....	29
B. Bahan dan Alat .....	29
C. Metode Penelitian.....	30
D. Pelaksanaan Penelitian .....	31
E. Diagram Alir Penelitian .....	38
F. Parameter Penelitian.....	39
G. Analisis Data .....	40
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>41</b>
A. Perubahan Rerata Berat Badan Mencit .....	41
B. Rerata Berat Basah Hepar Mencit .....	44
C. Rerata Nilai Indeks Hepar Mencit.....	47
D. Pengamatan Histopatologi Hepar Mencit.....	48
1. Struktur Histologis Hepar Mencit K1 .....	51
2. Struktur Histologis Hepar Mencit K2.....	52
3. Struktur Histologis Hepar Mencit K3.....	55
4. Struktur Histologis Hepar Mencit K4.....	57
<b>V. SIMPULAN .....</b>	<b>59</b>
A. Simpulan.....	59
B. Saran.....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>67</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Identifikasi Senyawa Metabolit Daun Kenikir.....	22
Tabel 2. Farmakologi Kenikir .....	22
Tabel 3. Skor Derajat Kerusakan Sel Hepar .....	40
Tabel 4. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Berat Badan Mencit.....	67
Tabel 5. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Berat Basah Hepar Mencit .....	68
Tabel 6. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Indeks Hepar Mencit .....	69
Tabel 7. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Skor Derajat Kerusakan Hepar Mencit.....	70

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Anatomi anterior hepar (b) dan inferior (c).....	7
Gambar 2. Histologi hepar tikus .....	10
Gambar 3. Enam karakter khusus sel kanker .....	15
Gambar 4. Tumbuhan Kenikir .....	21
Gambar 5. Taurin .....	24
Gambar 6. Struktur benzo( $\alpha$ )piren .....	26
Gambar 7. Mencit.....	27
Gambar 8. Proses ekstraksi daun kenikir .....	32
Gambar 9. Diagram alir penelitian.....	38
Gambar 10. Rerata Berat Badan Mencit yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren.....	42
Gambar 11. Rerata Berat Basah Hepar Mencit yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren.....	44
Gambar 12. Rerata Indeks Hepar Mencit yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren .....	47
Gambar 13. Rerata Skor Derajat Kerusakan Hepar Mencit.....	49
Gambar 14. Struktur histologis hepar mencit seluruh kelompok.....	50
Gambar 15. Struktur histologis hepar mencit K1.....	51
Gambar 16. Struktur histologis hepar mencit K2.....	52
Gambar 17. Struktur histologis hepar mencit K3.....	56

Gambar 18. Struktur histologis hepar mencit K4.....	57
Gambar 19. Mencit yang digunakan dalam penelitian.....	72
Gambar 20. Benzo( $\alpha$ )piren.....	72
Gambar 21. Ekstrak daun kenikir.....	72
Gambar 22. Taurin .....	72
Gambar 23. <i>Rotary evaporator</i> .....	73
Gambar 24. Tata letak kandang .....	73
Gambar 25. Penginduksian benzo( $\alpha$ )piren.....	73
Gambar 26. Perbandingan mencit normal dan diinduksi benzo( $\alpha$ )piren .....	74
Gambar 27. Pemberian ekstrak daun kenikir dan taurin secara oral .....	75
Gambar 28. Pembedahan mencit.....	75
Gambar 29. Pengamatan nodul mencit .....	76

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostasis pada organisme multiseluler. Hilangnya fungsi kontrol tersebut menyebabkan sel tidak dapat berproliferasi secara normal, sehingga sel akan berproliferasi terus-menerus dan menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal. Pertumbuhan kanker dapat dikatakan sebagai proses mikroevolusioner yang dapat berlangsung selama beberapa bulan atau beberapa tahun. Proses pertumbuhan sel kanker dinamakan karsinogenesis (Nisa *et al.* 2014).

Kanker tergolong sebagai salah satu penyakit yang paling mengancam dalam dunia kesehatan. Pada tahun 2003, WHO menyatakan bahwa lima besar kanker di dunia adalah kanker paru, kanker payudara, kanker usus besar (*colorectal*), kanker lambung, dan kanker hepar. Tahun 2004, Amerika Serikat melaporkan bahwa kanker hepar merupakan kanker dengan pertumbuhan tercepat diantara jenis kanker yang lain (Kerr, 2004).

Secara umum kanker hepar dapat terjadi karena infeksi virus hepatitis B dan C, aflatoksin, minuman beralkohol, kebiasaan merokok, infeksi parasit,

paparan radikal bebas, zat karsinogenik seperti benzo( $\alpha$ )piren, pengawet makanan seperti formaldehid, dan zat pewarna tekstil (Fong, 2002).

Beberapa obat antikanker yang dikembangkan saat ini antara lain obat yang dapat merangsang diferensiasi sel sehingga akan terjadi perubahan sifat dari sel kanker yang ganas menjadi sel jinak, obat yang dapat meningkatkan efektivitas radiasi, dan obat yang mampu merubah respon imun sel kanker dengan sel sehat. Namun, dalam penggunaannya sebagai obat antikanker, obat-obatan kimia seperti kemoterapi tidak hanya membunuh sel tumor namun juga merusak sel darah, sehingga dapat menyebabkan penurunan fungsi imun atau bahkan kematian yang disebabkan dari komplikasi akibat efek samping obat yang serius. Permasalahan yang kerap dialami dalam penggunaan obat kimia antara lain terjadinya berbagai efek samping serta dapat menyebabkan munculnya resistensi, toleransi, dan selektivitas obat itu sendiri (Li *et al.*, 2008).

Berbagai penelitian juga telah dilakukan dalam rangka pemanfaatan senyawa alami untuk terapi kanker. Penelitian-penelitian tersebut masih terus dikembangkan untuk menemukan obat kanker yang optimal dalam terapi.

Tumbuhan kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antikanker. Tumbuhan yang sejak dahulu kerap dijadikan lalapan ini memiliki kandungan antioksidan cukup tinggi. Senyawa antioksidan mampu menghambat karsinogenesis dengan cara memacu proses apoptosis sel melalui jalur mitokondria (jalur intrinsik). Oleh

sebab itu, senyawa antioksidan memiliki potensi sebagai zat antikanker (Lotulung *et al.*, 2001).

Kenikir mengandung senyawa kuersetin (golongan flavonoid) yang dapat berperan dalam menginduksi apoptosis sel kanker (Taraphadar *et al.*, 2001). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Bunawan *et al.* (2014), tumbuhan kenikir memiliki efek antioksidan tinggi, antibakteri, antijamur, antiosteoporosis, antihipertensi, dan antidiabetes.

Sifat antikanker juga dimiliki oleh taurin (*2-aminoethanesulfonic acid*), yaitu asam organik turunan dari asam amino sistein yang mengandung sulfur (sulfihidril). Taurin digunakan untuk membantu penyerapan lemak dan vitamin yang larut dalam lemak, membantu perkembangan sel-sel tubuh (terutama otot), membantu pendistribusian nutrisi ke seluruh tubuh, membantu mengatur detakan jantung, menstabilkan membran sel, dan memelihara kelangsungan sel-sel otak. Taurin juga dapat berfungsi sebagai antikarsinogenik dengan cara melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Taurin dianggap sebagai faktor penting untuk mengontrol berbagai perubahan biokimia yang terjadi selama proses penuaan dan kerusakan sel oleh radikal bebas (Redmon *et al.*, 1983). Penelitian mengenai pemberian ekstrak daun kenikir dan taurin sebagai antikanker terhadap gambaran histopatologi hepar mencit belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat efektivitas antikanker dari kedua senyawa tersebut.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan taurin yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kenikir dapat melindungi hepar mencit jantan (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi karsinogenik benzo( $\alpha$ )piren.

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas antikanker dari ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan taurin terhadap gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren.

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai kemampuan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan taurin yang berpotensi sebagai antikanker.

## **E. Kerangka Pikir**

Kanker merupakan suatu bentuk penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan abnormal sel secara terus menerus dan tidak terkendali pada jaringan tubuh suatu organisme. Kanker tergolong sebagai salah satu

penyakit yang paling mengancam dalam dunia kesehatan. Pada tahun 2003 WHO menyatakan bahwa lima besar kanker di dunia adalah kanker paru, kanker payudara, kanker usus besar (*colorectal*), kanker lambung, dan kanker hepar. Sementara di Indonesia, penyakit kanker merupakan penyebab kematian sekitar 4,3% dan menduduki peringkat keenam dengan kecenderungan kasus yang semakin meningkat.

Salah satu jenis kanker berbahaya adalah kanker hepar. Sebagai upaya untuk mengobati penyakit kanker, tentunya diperlukan upaya penemuan obat kanker yang efektif dan selektif. Tidak hanya pengobatan secara fisik dan radioterapi, tetapi juga dibutuhkan pengobatan secara kemoterapi. Dalam penggunaannya sebagai obat antikanker, obat-obatan kimia seperti kemoterapi tidak hanya membunuh sel tumor namun juga merusak sel darah dan dapat merusak sel normal disekitar sel kanker, sehingga dapat menyebabkan penurunan fungsi imun atau bahkan kematian yang disebabkan dari komplikasi akibat efek samping obat yang serius.

Tumbuhan kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antikanker. Tumbuhan ini mengandung flavonoid, polifenol, saponin, terpenoid, steroid, dan minyak atsiri. Daun kenikir memiliki potensi sebagai zat antikanker karena kandungan antioksidan yang cukup tinggi dalam kenikir mampu menghambat karsinogenesis dengan cara memacu proses apoptosis sel melalui jalur mitokondria (jalur intrinsik). Disamping itu, taurin juga dapat berpotensi sebagai antioksidan dan antikarsinogenik, karena memiliki kemampuan

melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Taurin juga digunakan untuk membantu penyerapan lemak dan vitamin yang larut dalam lemak, membantu perkembangan sel-sel tubuh (terutama otot), pendistribusian nutrisi ke seluruh tubuh, mengatur detakan jantung, menstabilkan membran sel, dan memelihara kelangsungan sel-sel otak.

Untuk itu, perlu dilakukan penelitian penggunaan senyawa taurin dan ekstrak daun kenikir sebagai antikanker pada mencit yang diinduksi zat karsinogenik benzo( $\alpha$ )piren, sebagai upaya menggali potensi senyawa alami yang dapat digunakan sebagai obat penyakit kanker untuk meminimalisir penggunaan obat kanker berbahan kimia.

## **F. Hipotesis**

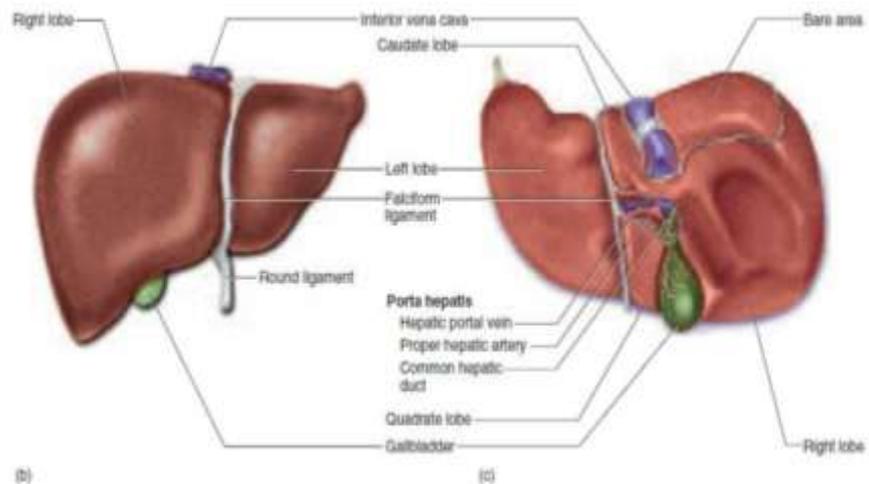
Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan pemberian taurin yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kenikir dapat melindungi hepar mencit jantan (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi benzo( $\alpha$ )piren.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Hepar

#### 1. Anatomi dan Fisiologi Hepar

Secara anatomi, hepar (biasa disebut hati) merupakan organ viseral terbesar pada tubuh manusia dengan berat sekitar 1,5kg. Hepar terletak di bawah diafragma dan di atas cavitas abdominalis, tersusun atas dua lobus yang masing-masing berfungsi secara mandiri. Kedua lobus tersebut yakni lobus hepatis dextra (berukuran besar) dan lobus hepatis sinistra (berukuran kecil) (Gambar 1).



Gambar 1. Anatomi anterior hepar (b) dan inferior (c) (Saladin, 2003)

Hepar menerima darah dari dua sumber yaitu 30% berasal dari arteri hepatica propria dan 70% berasal dari vena porta. Darah dari arteri dan

vena pada hepar berjalan di antara sel-sel hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena sentralis yang akan bermuara ke vena hepatica. Sistem syaraf pada hepar tersusun atas syaraf simpatis dan parasimpatis (Moore *et al.*, 2002; Sloane, 2004 dan Snell, 2006).

Menurut Guyton dan Hall (2008), secara fisiologi hepar termasuk organ metabolik yang sangat penting, karena memiliki fungsi antara lain :

- 1) Fungsi vaskular, yaitu tempat mengalir, menyaring, dan menyimpan darah dalam jumlah besar. Selain itu aliran limfe pada hepar juga tinggi karena sinusoid memiliki sifat sangat permeabel. Pada hepar terdapat sel kupffer (sel makrofag) yang berfungsi menyaring darah.
- 2) Fungsi metabolisme, yaitu berperan dalam metabolisme karbohidrat, protein dan lemak
  - a. Pada metabolisme karbohidrat, hepar berperan dalam mempertahankan konsentrasi glukosa darah normal. Hepar juga berperan sebagai penyimpan glikogen dalam jumlah besar, pengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan pembentuk senyawa kimia penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.
  - b. Pada metabolisme protein, hepar berperan sebagai pendeaminasi asam amino, penginterkonversi beragam asam amino, pembentuk senyawa lain dari asam amino, pembentuk ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, serta berperan sebagai pembentuk protein plasma.

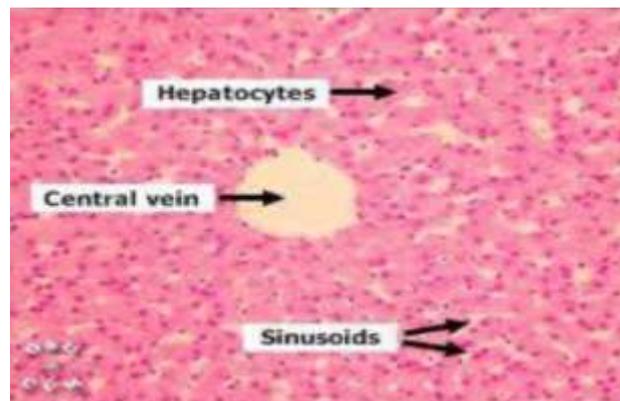
- c. Pada metabolisme lemak, hepar berperan sebagai pengoksidasi asam lemak untuk suplai energi, pembentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein serta pembentuk lemak dari protein dan karbohidrat.
- 3) Fungsi sekresi yaitu berperan sebagai pembentuk empedu yang dialirkan ke dalam saluran pencernaan melalui saluran empedu. Selain itu hepar juga berperan dalam penyekresi hormon dan zat lain serta berperan sebagai penetralisir zat yang bersifat toksik.
- 4) Fungsi lainnya yaitu menyimpan vitamin, menyimpan zat besi dalam bentuk ferritin dan pembentuk zat-zat untuk koagulasi darah dalam jumlah banyak.

## 2. Histologi Hepar

Secara histologi (Gambar 2), hepar dibungkus oleh simpai tipis jaringan ikat yang disebut kapsula Glisson yang menebal di hilus (tempat masuknya vena porta, dan arteri hepatica, tempat keluarnya duktus hepatica kiri dan kanan serta tempat keluarnya pembuluh limfe dari hepar). Pembuluh-pembuluh dan duktus pada hepar dikelilingi oleh jaringan ikat (Junquiera *et al.*, 2007).

Junquiera *et al.* (2007) menjelaskan bahwa hepar tersusun atas satuan heksagonal yang dinamakan lobulus. Di dalam lobulus hepar, terdapat sel hepatosit yang berderet secara radier membentuk lapisan sebanyak 1-2 sel menyerupai susunan bata. Lempengan sel ini mengarah dari tepi ke

pusat lobulus kemudian beranastomosis membentuk struktur seperti labirin dan busa, diantara lempengan sel terdapat celah yang mengandung kapiler disebut sinusoid. Sinusoid hepar merupakan suatu saluran yang berliku dan melebar dengan diameter tidak teratur. Sinusoid dilapisi oleh sel endotel bertingkat yang tidak utuh dan dipisahkan oleh ruang perisinusoidal dari sel hepatosit dibawahnya. Darah yang berada di sinusoid hepar berasal dari cabang terminal vena porta dan arteri hepatica. Aliran darah ini membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan dan darah kaya oksigen dari jantung.



Gambar 2. Histologi hepar tikus (Charlotte dan Ownby, 2002)

### 3. Histopatologi Hepar

Salah satu fungsi vital dari hepar yaitu berperan dalam detoksifikasi racun, sehingga hepar sering terpapar zat-zat beracun yang dapat menyebabkan kerusakan sel hepar (Anshor *et al.*, 2013). Kemudian, Xiaoyue *et al.* (2007) mengatakan bahwa bentuk kerusakan pada hepar meliputi kerusakan struktur maupun kerusakan fisiologis. Penyebab

kerusakan hepar antara lain infeksi, virus, penggunaan obat-obatan dan bahan kimia. Selain itu, paparan zat toksik (racun) akan mempertinggi kerusakan pada hepar, contohnya radikal bebas. Radikal bebas merupakan produk reaksi kimia yang mengandung elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas yang terdapat di hati akan menyebabkan peradangan akut pada sel-sel hati yaitu steatosis dan nekrosis.

Menurut Robbins *et al.* (2007), lima respon umum hepar terhadap cedera antara lain sebagai berikut :

1. Peradangan dan Pembengkakan Sel

Bentuk cedera pada sel hepatosit yang menyebabkan radang akut atau kronis pada hepar disebut hepatitis. Peradangan dapat terbatas pada saluran porta atau meluas ke parenkim hepar seperti sel hepatosit.

Pembengkakan (degenerasi) merupakan manifestasi awal kerusakan sel. Hal ini terjadi akibat hilangnya ATP pada sel sehingga pengaturan ion dan volume terganggu yang menyebabkan terjadinya pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Air yang tertimbun di dalam sel akan memperlihatkan adanya vakuola-vakuola jernih berukuran kecil di dalam sitoplasma, diduga merupakan retikulum endoplasma yang melebar dan menonjol keluar. Kondisi ini disebut degenerasi hidropik atau degenerasi vakuola. Pembengkakan sel hepatosit yang disebabkan oleh gangguan toksik atau imunologis

akan menunjukkan edematosa, yaitu suatu bentuk degenerasi balon dengan sitoplasma ireguler bergumpal dan rongga-rongga jernih yang lebar. Selain itu bahan empedu yang tertahan menyebabkan hepatosit membengkak seperti busa (degenerasi busa).

## 2. Perlemakan Hepar

Akumulasi butiran lemak dalam hepatosit disebut steatosis.

Perlemakan pada hepar disebabkan oleh akumulasi trigliserida dalam sel parenkim. Akumulasi tersebut timbul pada keadaan berikut :

- 1) Peningkatan mobilisasi lemak jaringan, sehingga menyebabkan peningkatan jumlah asam lemak yang sampai ke hepar;
- 2) Peningkatan kecepatan konversi dari asam lemak menjadi trigliserida di dalam hepar karena aktivitas enzim yang terlibat meningkat;
- 3) Penurunan oksidasi trigliserida menjadi asetil-koA dan penurunan bahan keton;
- 4) Penurunan sintesis protein akseptor lipid (Chandrasoma dan Taylor, 2005).

## 3. Nekrosis

Nekrosis (kematian sel) dapat terjadi langsung atau dapat mengikuti degenerasi sel. Berdasarkan lokasinya nekrosis terbagi menjadi tiga yaitu nekrosis fokal, nekrosis zona, nekrosis submasif. Nekrosis fokal sel hepar adalah nekrosis yang terjadi secara acak pada satu sel atau sekelompok kecil sel pada seluruh daerah lobulus-lobulus hepar.

Nekrosis zona sel hepar adalah nekrosis yang terjadi pada regio-regio yang identik disemua lobulus hepar, sedangkan nekrosis submasif merupakan nekrosis yang meluas melewati batas lobulus, sering menjembatani daerah portal dengan vena sentralis (*bridging necrosis*) (Chandrasoma dan Taylor, 2005).

#### 4. Fibrosis

Fibrosis merupakan respon dari cedera akut atau kronik pada hepar berupa akumulasi matriks ekstraseluler. Pada tahap awal, sebagai reaksi penyembuhan terhadap cedera, fibrosis mungkin terbentuk di dalam, di sekitar saluran porta atau vena sentralis maupun dapat mengendap langsung didalam sinusoid. Cedera pada hepatosit akan mengakibatkan pelepasan sitokin dan faktor solubel lainnya oleh sel kupffer serta sel tipe lainnya pada hepar. Faktor-faktor ini akan mengaktivasi sel stelat yang akan mensintesis sejumlah besar komponen matriks ekstraseluler (Robbins *et al.*, 2007).

#### 5. Sirosis

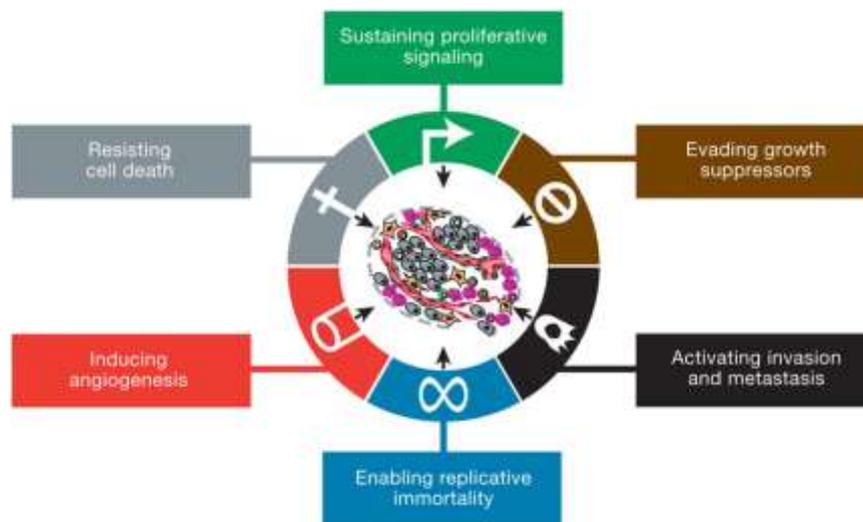
Berlanjutnya fibrosis dan cedera parenkim menyebabkan hepar terbagi-bagi menjadi nodus hepatosit yang mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut. Jaringan parut ini disebut sirosis (Robbins *et al.*, 2007).

## B. Kanker

Berdasarkan Mediawiki (2007) istilah kanker berasal dari bahasa latin, yaitu *carcinamon*. *Carci* memiliki arti kepiting, sedangkan *oma* memiliki arti pembesaran. Ranasasmita (2008) mengatakan bahwa penamaan tersebut kemungkinan didasarkan pada bentuk jaringan yang mengandung sel kanker, dimana penampakan melintang jaringan secara fisik terlihat bulat memadat pada bagian tengah dan bagian pinggir membentuk juluran sehingga menyerupai kepiting. Kanker dalam dunia medis dikenal dengan istilah *neoplasma* dan tumor. *Neoplasma* yang berasal dari bahasa Yunani (*neos* yang berarti baru dan *plasma* yang berarti pembentukan) digunakan untuk menyebut pertumbuhan sel baru yang tidak memiliki fungsi fisiologis, sementara tumor (*tumere* yang berarti pembengkakan) digunakan untuk menyebut bentuk abnormal dari massa sel yang tidak mempunyai fungsi fisiologis. Tumor padat berupa kumpulan massa kecil berbentuk membulat tak beraturan yang dapat dideteksi dengan perabaan disebut nodul.

Tumor digolongkan menjadi dua jenis berdasarkan tingkat keganasan. Tumor yang tidak menyebar ke jaringan didekatnya, tidak bermetastasis menjadi lebih besar dan dapat dihilangkan dengan pembedahan minor dinamakan tumor jinak. Sementara tumor yang dinyatakan ganas (disebut kanker), merupakan tumor yang memiliki kemampuan menyebar ke jaringan lain, bermetastasis dan dapat menyebabkan kematian pada penderita (Aryani, 2003).

Kanker merupakan suatu bentuk penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan abnormal sel secara terus menerus dan tidak terkendali pada jaringan tubuh suatu organisme (Aryani, 2003). Kanker yang berasal dari jaringan epitel tergolong karsinoma, sementara kanker yang berasal dari jaringan mesenkim disebut sarkoma (Alison, 2003).



Gambar 3. Enam karakter khusus sel kanker (*Hallmark of Cancer*) (Hannan dan Weinberg, 2011)

Menurut Hannan dan Weinberg (2011), enam karakter khusus sel kanker (Gambar 3) yang membedakan sel kanker dari sel normal antara lain :

- A. Mempertahankan sinyal proliferaatif (*Sustaining Proliferative Signaling*) : proliferasi sel kanker tidak membutuhkan sinyal pertumbuhan normal dikarenakan sel kanker mampu memproduksi *growth factors* dan *growth receptors* sendiri serta mampu memperpendek jalur *growth factornya*.
- B. Menghindari hambatan pertumbuhan (*Evading Growth Suppressors*) : sel kanker tidak mengenal adanya istirahat dalam pembelahan sel, karena pada sel kanker terdapat mekanisme untuk mengelak dari

sinyal penghambat pertumbuhan disebabkan oleh mutasi gen protoonkogen pada sel kanker. Hal ini mengakibatkan tidak adanya homeostasis pada jaringan.

- C. Menahan kematian sel (*Resisting Cell Death*) : Apoptosis merupakan mekanisme yang penting untuk mengatur jumlah sel dalam tubuh. Sel normal akan mengalami kematian sel (apoptosis) apabila telah melewati batas umur tanpa menyebabkan inflamasi (peradangan), sementara sel kanker tidak mengalami apoptosis. Kegagalan sel kanker dalam merespon sinyal apoptosis disebabkan karena gen-gen regulator apoptosis dan gen-gen sinyal apoptosis telah mengalami mutasi. Pada mekanisme apoptosis, protein p53 akan mencegah replikasi DNA yang rusak pada sel normal dan menstimulasi sel yang mengandung DNA yang tidak normal untuk menghancurkan dirinya sendiri. Tetapi pada sel kanker gen p53 tersebut mengalami mutasi sehingga proliferasi dan transformasi sel akan terus berjalan sehingga sel akan tetap hidup dan kehilangan kendali.
- D. Memungkinkan replikasi secara terus menerus (*Enabling Replicative Immortality*) : sel kanker memiliki kemampuan untuk melakukan replikasi (perbanyak) sel secara terus-menerus. Hal ini disebabkan karena sel kanker memiliki mekanisme untuk tetap menjaga telomere yang panjang pada saat pembelahan sel, sehingga sel kanker memiliki kemungkinan untuk terus membelah diri.
- E. Merangsang angiogenesis (*Inducing Angiogenesis*) : sel kanker mampu membentuk pembuluh darah baru disekitar jaringan kanker

(angiogenesis) untuk menyuplai kebutuhan nutrisinya, sementara pada sel normal pembuluh darah pensuplai nutrisi berbentuk sederhana dan bersifat konstan hingga sel menjadi dewasa.

- F. Mengaktivasi invasi dan metastasis (*Activating Invasion and Metastasis*) : sel kanker memiliki kemampuan untuk menginvasi sel lain dalam tubuh, dan mengekspansi bagian lain dari tubuh (metastasis) dengan cara berpindah dari suatu lokasi ke lokasi lain di dalam tubuh disertai dengan pengrusakan pada jaringan target. Penyebaran sel kanker dapat dilakukan melalui aliran darah dan kelenjar getah bening. Apabila metastasis sel kanker semakin meluas, maka dapat menyebabkan kematian pada penderita kanker.

### C. Kanker Hepar

Kanker hepar berasal dari satu sel yang mengalami pembelahan sel yang tidak terkontrol. Hal ini disebabkan adanya perubahan mekanisme kontrol dalam sel. Sel abnormal tersebut akan membentuk jutaan sel identik yang disebut klon, dimana sel-sel tersebut tidak dapat melakukan fungsi normal sebagai sel hepar dan terus menerus memperbanyak diri. Sel-sel tidak normal ini akan membentuk tumor (Nisa *et al.*, 2014). Kanker hepar yang bermula dari organ bagian hepar disebut *hepatocellular cancer*. Sementara kanker hepar yang berasal dari organ lain (misalnya dari kolon yang menyebar ke organ hepar) disebut *metastatic liver cancer* (Bruix dan Sherman, 2005).

Beberapa jenis kanker pada hepar, antara lain :

- 1) Tumor hepar yang dikategorikan jinak (*benign*) yaitu hemangiomas dan adenomas. Hemangiomas merupakan kumpulan dari pembuluh darah abnormal pada hati yang membengkak, sementara adenomas merupakan kumpulan benjolan pada jaringan hati.
- 2) *Hepatocellular carcinoma* (HCC) atau dikenal sebagai hepatoma, yaitu kanker yang muncul dari sel hati itu sendiri. Hepatoma merupakan 80% kasus kanker hati yang paling sering terjadi.
- 3) Cholangiocarcinoma, yaitu kanker yang berasal dari kelenjar empedu di hati. Cholangiocarcinoma yang terletak di perbatasan antara empedu dengan hati disebut klatskin tumor. Kasus ini tercatat sebesar 15%.
- 4) Tiga jenis kanker hati yang jarang terjadi yaitu angiocarcinoma, lymphomas dan carcinoids. Angiocarcinoma adalah kanker yang berasal dari pembuluh darah di hati, lymphomas adalah kanker yang berasal dari sel-sel imun di hati dan carcinoids adalah kanker yang berasal dari hormon yang dibuat oleh sel hati (Nisa *et al.*, 2004).

Kanker hepar memiliki beberapa tingkat penyakit (stadium) yaitu:

- a) Stadium 1 : Kanker berukuran tidak lebih dari 2 cm dan belum menyebar.
- b) Stadium 2 : Kanker mempengaruhi pembuluh darah di hepar atau terdapat lebih dari satu tumor di hepar.
- c) Stadium 3A : Kanker berukuran lebih dari 5 cm dan telah menyebar ke pembuluh darah di dekat hepar.
- d) Stadium 3B : Kanker telah menyebar ke organ terdekat seperti lambung namun belum mencapai limfonodus

- e) Stadium 3C : Kanker berada dalam berbagai ukuran dan telah mencapai limfonodus
- f) Stadium 4 : Kanker telah menyebar ke organ yang jauh dari hepar misal paru-paru (Fong, 2002; Bruix dan Sherman, 2005) .

Secara umum kanker hepar dapat disebabkan oleh faktor-faktor berikut :

- 1) Infeksi virus hepatitis B dan C adalah penyebab kanker hepar yang utama didunia. Hal ini terutama pada pasien dengan antigenemia dan juga mempunyai penyakit kronik hepatitis. Pasien laki-laki dengan umur lebih dari 50 tahun yang menderita penyakit hepatitis B dan C mempunyai kemungkinan besar terkena kanker hepar.
- 2) Sirosis hati yang biasa disebabkan oleh alkohol, hemochromatosis, dan defisiensi Alpha 1-antitrypsin.
- 3) Aflatoksin, yaitu mikrotoksin karsinogenik yang diproduksi oleh jamur *Aspergillus flavus*. Racun ini mengkontaminasi makanan yang disimpan dalam keadaan lembab.
- 4) Faktor lainnya yaitu kebiasaan merokok, infeksi parasit, radikal bebas, zat karsinogenik seperti benzo( $\alpha$ )piren, pengawet makanan seperti formaldehid, dan zat pewarna tekstil (Fong, 2002).

Gejala kanker hepar pada awalnya tanpa keluhan atau hanya sedikit keluhan seperti lesu, nafsu makan berkurang dan penurunan berat badan. Kanker hepar dapat diketahui dengan diagnosa menggunakan radiologi, biopsi hepar, dan serologi (Bruix dan Sherman, 2005).

#### **D. Biologi Tumbuhan Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)**

*Cosmos caudatus* Kunth. di Indonesia dikenal dengan sebutan kenikir atau dalam bahasa Melayu disebut suring maupun ulam raja. Kenikir merupakan tumbuhan yang memiliki aroma khas, sangat umum digunakan sebagai sayuran dan daun mentahnya sering digunakan sebagai lalapan (Shui, 2005).

##### **1. Klasifikasi Tumbuhan Kenikir**

Berdasarkan taksonominya, tumbuhan kenikir diklasifikasikan sebagai berikut (Simpson, 2006):

Kerajaan : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Fabales  
Suku : Asteraceae  
Marga : *Cosmos*  
Jenis : *Cosmos caudatus* Kunth.

##### **2. Morfologi Tumbuhan Kenikir**

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) tergolong tumbuhan herba semusim dengan tinggi berkisar antara 0,5 – 1,5 m (Gambar 4). Tumbuhan ini tergolong dalam kelas dikotil, yaitu memiliki akar tunggang, berbatang tegak berwarna hijau terang keunguan, beralur dan memiliki banyak

percabangan. Daunnya tergolong daun majemuk dengan bentuk lanset, ujung daun meruncing dan tepi daun bergerigi. Bunga tumbuhan ini tergolong dalam bunga majemuk dengan tangkai berbentuk seperti cawan berwarna kuning dan memiliki daun pembalut berbentuk lonceng berwarna hijau. Kenikir memiliki buah dan biji yang keras dan berbentuk jarum. Bagian ujung buah tampak berambut, biji kenikir berwarna hitam dengan panjang sekitar 1 cm (Hassan, 2006). Daerah asli *Cosmos caudatus* Kunth. adalah daerah tropis di Amerika Tengah dan hampir sebagian besar daerah beriklim tropis.



Gambar 4. Tumbuhan Kenikir (<http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>)

### 3. Kandungan Kimia dan Farmakologi Tumbuhan Kenikir

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, daun kenikir secara umum mengandung senyawa flavonoid, polifenol, saponin, terpenoid, steroid dan minyak atsiri. Bagian akar kenikir mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol (Sarmoko dan Sulistyorini, 2010; Liliwiarinis *et al.*, 2011).

Bunawan *et al.* (2014) memaparkan kandungan senyawa aktif pada kenikir dalam Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Metabolit Daun Kenikir

No	Metabolit	Kelas
1	Catechin	Flavonoids
2	Chlorogenic Acid	Phenolic Acid
3	Neochlorogenic Acid	Phenolic Acid
4	Cryptochlorogenic Acid	Phenolic Acid
5	Caffeic Acid	Phenolic Acid
6	Ferulic Acid	Phenolic Acid
7	Quercetin 3-O-glucoside	Flavonoids
8	Quercetin pentose	Flavonoids
9	Quercetin deoxyl-hexose	Flavonoids

Secara tradisional kenikir digunakan sebagai penambah nafsu makan, obat lemah lambung penguat tulang dan pengusir serangga. Menurut Cheng *et al.* (2015) potensi tanaman kenikir sebagai obat herbal dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Farmakologi Kenikir

No	Jenis Pelarut	Farmakologi
1	Daun segar	Antioksidan
2	Ekstrak Etanol	Antioksidan, Antidiabetes, Antimikroba dan Antijamur
3	Ekstrak Metanol	Antiinflamasi
4	Ekstrak Air	Antioksidan dan Antiosteoporosis
5	Ekstrak Diklorometana	Antiinflamasi, Antimikroba dan Antijamur
6	Ekstrak Dietil eter	Antimikroba dan Antijamur
7	Ekstrak Heksana	Antidiabetes

Beberapa penelitian menyatakan bahwa daun kenikir memiliki efek antioksidan tinggi, antibakteri, antijamur, antiosteoporosis, antihipertensi, dan antidiabetes (Bunawan *et al.*, 2014). Kenikir juga memiliki

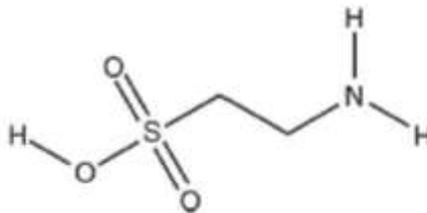
kandungan kalsium tinggi sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk mengatasi osteoporosis pasca-menopause pada wanita (Mohamed *et al.*, 2013).

Ren, *et al.* (2003) meneliti didalam kenikir terkandung senyawa flavonoid yang mampu menginduksi terjadinya apoptosis pada sel kanker. Penelitian daun kenikir sebagai antikanker antara lain telah diteliti bahwa kuersetin (jenis *dietary flavonoid*) mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker kolon Caco-2 dan HT-29 serta menginduksi apoptosis sel kanker leukemia HL-60. *Dietary flavonoid* adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki efek antiproliferasi sehingga dapat dijadikan sebagai agen kemopreventif, terutama pada kanker saluran pencernaan karena senyawa ini kontak secara langsung dengan makanan (Taraphadar *et al.*, 2001). Penelitian lain yang dilakukan oleh Pebriana *et al.* (2008), ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin yang berpotensi sebagai antikanker dan terbukti bersifat sitotoksik dalam memacu apoptosis sel kanker payudara T47D melalui berbagai macam kemungkinan mekanisme.

## **E. Taurin**

Taurin (*2-aminoethanesulfonic acid*) merupakan asam organik turunan dari asam amino sistein yang mengandung sulfur (sulfhidril) (Gambar 5). Taurin dalam arti sempit tidak digolongkan sebagai asam amino karena tidak

memiliki gugus karboksil. Namun, taurin memiliki gugus sulfonat sehingga disebut asam sulfonat amino (Burhan, 2004).



Gambar 5. Taurin (Strange dan Jackson, 1997).

Pada tahun 1827, ilmuwan Jerman yaitu Friedrich Tiedemann dan Leopold Gmelin mengisolasi taurin pertama kali dari empedu sapi. Arouma *et al.* (1988) menyebutkan bahwa taurin adalah kandungan utama dari empedu. Pada manusia, taurin dapat ditemukan pada otot rangka, jantung, sel darah putih dan sistem saraf pusat. Senyawa ini juga ditemukan pada beberapa sayuran dan kacang-kacangan. Burhan (2004) menjelaskan, pada mamalia sintesis taurin terjadi dalam pankreas melalui jalur asam sistein sulfonik. Kelompok sulfhidril dari sistein dioksidasi pertama kali oleh enzim sistein dioksigenase menjadi asam sistein sulfonik. Selanjutnya sistein asam sulfonik akan didekarboksilasi oleh enzim dekarboksilase sulfinoalanin untuk membentuk *hypotaurine*.

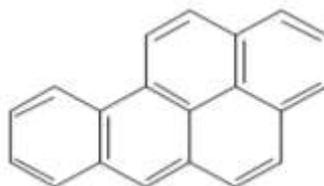
Berbeda dengan asam amino, taurin (khususnya L-taurin), tidak digunakan sebagai protein blok pembangun. Taurin digunakan untuk membantu penyerapan lemak dan vitamin yang larut dalam lemak, membantu perkembangan sel-sel tubuh (terutama otot), membantu pendistribusian nutrisi ke seluruh tubuh, membantu mengatur detakan jantung, menstabilkan membran sel, dan memelihara kelangsungan sel-sel otak. Tidak hanya itu,

senyawa yang biasa digunakan dalam suplemen dan minuman berenergi ini juga berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai obat antikanker karena memiliki kemampuan sebagai inhibitor proteasome (Xia Zang *et al.*, 2008). Taurin berfungsi sebagai antikarsinogenik dengan cara melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Taurin juga dianggap sebagai faktor penting untuk mengontrol berbagai perubahan biokimia yang terjadi selama proses penuaan dan kerusakan sel oleh radikal bebas (Tabassum *et al.*, 2006 dan Redmon *et al.*, 1983). Peranan taurin sebagai antikanker juga dikemukakan oleh Shuo Tu *et al.* (2015), bahwa pemberian taurin terbukti memiliki efek penghambatan yang signifikan terhadap proliferasi sel, dan mampu menginduksi apoptosis pada sel *human hepatocellular carcinoma* (HHCC) HepG2.

#### **F. Benzo( $\alpha$ )piren**

Benzo( $\alpha$ )piren (Gambar 6) yang juga dikenal dengan benzo[d,e,f]chrysene; 3-4benzopyrene; 3,4-benzpyrene; benz[a]pyrene; BP atau B[a]P, adalah senyawa PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*) yang tergolong prokarsinogen kuat. Senyawa dengan rumus kimia  $C_{20}H_{12}$ , memiliki 5 buah cincin alkil aromatik dan memiliki berat molekul 252,3. Benzo( $\alpha$ )piren berbentuk padatan atau kristal berwarna kuning yang larut dalam air dengan titik leleh 179-179,3°C dan titik didih 310-312°C. Senyawa ini secara alami ditemukan sebagai bagian dalam dari material larva gunung api, batu bara, dan jatuhan dari atmosfer yaitu *airborne particulate*. Di lingkungan,

benzo( $\alpha$ )piren dijumpai sebagai hasil pirolisis lemak atau pembakaran arang yang tidak sempurna seperti pada daging yang dipanggang menggunakan arang dan makanan yang diasap, ditemukan pula pada asap rokok dan asap kendaraan (Terzi *et al.*, 2008 dan Nebert *et al.*, 2013).



Gambar 6. Struktur benzo( $\alpha$ )piren (Mugianton, 2010)

Walker (2009) menyebutkan bahwa sebagai senyawa karsinogenik, benzo( $\alpha$ )piren mampu menimbulkan mutasi DNA pada onkogen (gen yang bertanggung jawab pada pertumbuhan dan diferensiasi sel secara normal). Ikatan kimia antara benzo( $\alpha$ )piren dengan DNA akan mengganggu proses replikasi DNA dan mempengaruhi jaringan pada saat pembelahan sel. Yana (2009) juga menyebutkan bahwa benzo( $\alpha$ )piren dapat merusak DNA dan menimbulkan mutasi pada gen p53 (gen pengatur pertumbuhan). Senyawa ini dapat menyebabkan kerusakan kromosom dengan membentuk aberasi atau patahan kromosom.

#### G. Mencit (*Mus musculus* L.)

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit (*Mus musculus* L.) (Gambar 7). Berdasarkan taksonominya, klasifikasi mencit putih menurut Pramono dan Malole (1989) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Subfilum : Vertebrata  
Kelas : Mamalia  
Bangsa : Rodentia  
Suku : Muridae  
Marga : *Mus*  
Jenis : *Mus musculus* L.



Gambar 7. Mencit

Karakteristik umum mencit menurut Thrall (2004) dan Suckow (2006) yaitu memiliki panjang tubuh 7,5-10 cm, dengan luas permukaan tubuh 36 cm<sup>2</sup>. Lama hidup 1-3 tahun, dimana pada usia 35 hari mencit telah dikategorikan dewasa. Berat mencit jantan dewasa berkisar antara 20-40 g sementara berat betina berkisar antara 18-35 g. Mencit memiliki siklus estrus 4-5 hari dengan lama bunting antara 19-21 hari. Selain itu, mencit memiliki jumlah sel darah merah  $6,5-10,1 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l dan sel darah putih sebanyak  $2,61-10,05 \times 10^3$  sel/ $\mu$ l.

Denyut jantung mencit berkisar 325-800 denyut/menit dengan laju respirasi 95-165 tarikan nafas/menit.

Sejak abad ke-19, mencit banyak digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian. Mencit banyak digunakan karena memiliki gen yang relatif mirip dengan manusia. Mencit merupakan hewan yang mudah dipelihara, dikarenakan morfologinya kecil, jinak, lemah, mudah ditangani, mengkonsumsi makanan relatif sedikit dan memiliki harga yang relatif murah. Mencit juga memiliki daya reproduksi yang tinggi dengan masa kebuntingan yang singkat (Soegijanto *et al.*, 2003 dan Yuwono, 2009).

### **III. METODE KERJA**

#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 - Januari 2017. Pemeliharaan hewan uji, penginduksian zat karsinogen benzo( $\alpha$ )piren, pemberian taurin dan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) serta pembedahan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Gedung MIPA Terpadu, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Proses mikroteknik dan pengamatan histopatologi hepar dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

#### **B. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain hewan uji berupa mencit jantan (*Mus musculus* L.) berumur 3 bulan dengan berat badan  $\pm$  30-40 g, pelet pakan mencit, air minum, taurin, benzo( $\alpha$ )piren, minyak jagung, daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), etanol 96% digunakan untuk ekstraksi daun kenikir, bahan pembuatan preparat mikroteknik (*xylol*, alkohol bertingkat, parafin, larutan pewarnaan *Harris Hematoxylin Eosin*, dan kanada balsam).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain set peralatan pemeliharaan mencit (bak berbahan plastik berukuran 20x30cm dilengkapi dengan penutup berbahan kawat, wadah pakan, dan wadah minuman sebanyak 24 buah), neraca analitik untuk menimbang bahan dan mengukur berat badan mencit, jarum suntik untuk menginduksi zat karsinogen yaitu benzo( $\alpha$ )piren, sonde lambung untuk mencekockkan taurin, dan ekstrak daun kenikir pada mencit, *beaker glass*, erlenmeyer, set alat ekstraksi (blender, oven, kertas saring, corong *buchner*, dan *rotary evaporator*), set alat mikroteknik (*embedding cassette*, *waterbath*, inkubator, mikrotom, dan bak pewarnaan), *object glass*, *cover glass*, mikroskop, dan kamera untuk dokumentasi.

### C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan, dimana masing-masing perlakuan berisi enam ulangan. Kelompok tersebut yaitu sebagai berikut :

1. Kelompok 1: Kelompok yang diberi pakan standar hingga akhir penelitian (kontrol negatif).
2. Kelompok 2: Kelompok yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren selama 10 hari tanpa pemberian bahan uji (kontrol positif).
3. Kelompok 3: Kelompok yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren selama 10 hari, kemudian dilanjutkan pemberian ekstrak daun kenikir dengan dosis 20,2 mg/bb/hari selama 15 hari.

4. Kelompok 4: Kelompok yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren selama 10 hari, kemudian dilanjutkan pemberian taurin dosis 15,6 mg/bb/hari yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kenikir dosis 20,2 mg/bb/hari selama 15 hari.

## **D. Pelaksanaan Penelitian**

### **1. Persiapan Hewan Uji**

Hewan uji berupa mencit jantan (*Mus musculus* L.) berjumlah 24 ekor berumur 3 bulan dengan berat badan  $\pm$  30-40 g. Mencit diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Mencit dipelihara pada lingkungan homogen secara individu di dalam bak berbahan plastik berukuran 20x30 cm dengan penutup berbahan kawat yang dilengkapi wadah pakan, dan wadah air minum.

Aklimatisasi mencit dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan, hal ini bertujuan agar mencit dapat beradaptasi dengan kondisi kandang.

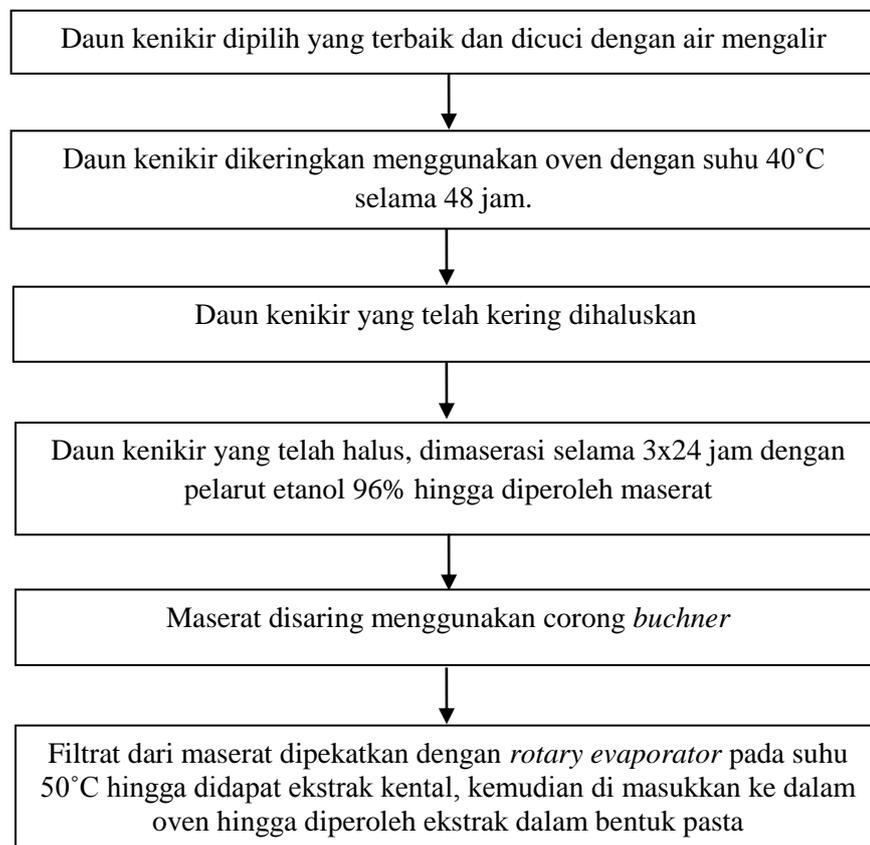
Selama proses aklimatisasi, mencit diberi pakan standar (pelet), dan air minum secara *ad libitum* (sampai kenyang atau secukupnya).

### **2. Persiapan Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan yaitu taurin dan ekstrak daun kenikir, dengan uraian sebagai berikut :

## 2.1. Persiapan Ekstrak Daun Kenikir

Tahapan ekstraksi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) adalah sebagai berikut :



Gambar 8. Proses ekstraksi daun kenikir

## 2.2. Persiapan Taurin

Menurut tabel konversi Nugraha (2011), nilai konversi dari manusia ke mencit yaitu 0,0026. Dosis normal pemberian taurin yang biasa diberikan pada manusia adalah sebesar 3 g/70 kg berat badan (Shao, 2008). Jika dihitung berdasarkan hasil konversi, dosis normal taurin yang diberikan kepada mencit yaitu 3000 mg dikalikan dengan 0,0026 adalah sebesar 7,8 mg/bb/hari.

### **3. Induksi Zat Karsinogenik Benzo( $\alpha$ )piren**

Induksi zat karsinogenik dilakukan dengan cara menyuntikkan larutan

benzo( $\alpha$ )piren pada jaringan subkutan mencit di bagian tengkuk.

Sebanyak 0,3 mg benzo( $\alpha$ )piren dilarutkan dalam 0,2 ml minyak jagung.

Semua kelompok perlakuan (kecuali kontrol negatif) diinduksi dengan

benzo( $\alpha$ )piren selama 10 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian

zat uji selama 15 hari. Setelah dilakukan induksi benzo( $\alpha$ )piren,

ditunggu hingga terlihat munculnya benjolan (nodul) di bagian tengkuk

mencit. Hal ini mengindikasikan adanya kanker. Sel kanker ini akan

tumbuh setelah terinduksi zat karsinogen benzo( $\alpha$ )piren antara 9-13 hari

(Juliyarsi dan Melia, 2007).

### **4. Pemberian Bahan Uji Ekstrak Daun Kenikir**

Dosis pemberian ekstrak daun kenikir yang diberikan pada tikus putih

seberat 200g adalah 72 mg/hari (Santoso, 2012). Nilai konversi dari

tikus ke mencit adalah 0,14 (mencit dengan berat 20 g). Dosis ekstrak

daun kenikir yang diberikan untuk mencit dengan berat 30-40 g yaitu

sebesar  $72 \text{ mg} \times 0,14 \times 2 = 20,2 \text{ mg/bb/hari}$ .

### **5. Pemberian Bahan Uji Taurin yang Dikombinasikan dengan Ekstrak Daun Kenikir**

Dalam penelitian ini, digunakan dosis taurin untuk pengujian yaitu 15,6

mg/bb/hari (dua kali dosis normal). Dosis ini merupakan dosis terbaik

sebagaimana yang disebutkan dalam penelitian Agata (2015), bahwa pemberian taurin dengan dosis 15,6 mg/bb/hari mampu memperbaiki kerusakan jaringan hepar mencit yang diinduksi benzo( $\alpha$ )piren. Dosis taurin sebanyak 15,6 mg/bb/hari dikombinasikan dengan dosis ekstrak daun kenikir sebesar 20,2 mg/hari yang selanjutnya diberikan secara oral pada mencit.

## **6. Pengamatan Berat Badan dan Berat Basah Jaringan Hepar Mencit**

Selama penelitian berlangsung dilakukan pengamatan berat badan mencit pada setiap kelompok. Pengamatan berat badan mencit dibagi menjadi tiga yaitu berat badan mencit hari ke 10, berat badan mencit hari ke 20, dan berat badan mencit hari ke 25. Pada akhir perlakuan, dilakukan pembedahan, pengambilan organ hepar dan pengukuran berat basah jaringan dari setiap kelompok.

## **7. Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar Mencit**

Proses pembuatan preparat histopatologi, terdiri dari beberapa tahapan yaitu tahap fiksasi, tahap dehidrasi, tahap *embedding*, tahap *cutting*, tahap *staining* dan tahap *mounting* (Ali, 2007).

### **7.1. Fiksasi**

Fiksasi jaringan bertujuan untuk mematikan sel dan mengeraskan jaringan secara cepat, sehingga jaringan tidak mengalami autolisis

atau membusuk. Potongan organ hepar yang telah dipilih dimasukkan kedalam larutan fiksatif yaitu formalin 10% dengan volume 20 kali volume organ. Fiksasi ini dilakukan minimal 24 jam. Setelah dilakukan fiksasi, organ hepar dicuci dengan air mengalir.

#### 7.2. *Trimming*

Organ hepar dipotong menjadi ukuran lebih kecil yaitu  $\pm 3$  mm, kemudian dimasukkan kedalam *embedding cassette*.

#### 7.3. Dehidrasi, *Clearing*, dan Impregnasi

Dehidrasi dilakukan dengan merendam organ hati dalam alkohol bertingkat 80% dan 90% berturut-turut masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman dalam alkohol 95%, alkohol absolut I, II, III selama 1 jam. Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan merendam *embedding cassette* ke dalam larutan *xylol* I, II, III masing-masing selama 1 jam. Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin I, II, dan III masing-masing selama 2 jam.

#### 7.4. *Embedding*

Parafin cair disiapkan dan dimasukkan ke dalam cangkir logam, lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas  $58^{\circ}\text{C}$  dan dituangkan ke dalam pan. Selanjutnya *embedding cassette* satu-persatu dipindahkan ke dasar pan dengan mengatur jarak satu dengan yang lainnya. Setelah itu, pan dimasukkan ke dalam air. Kemudian parafin yang berisi potongan organ hepar dilepaskan dari pan dengan

cara dimasukkan ke dalam suhu 4°C selama beberapa saat. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan menggunakan scalpel hangat. Hasil potongan diletakkan pada balok kayu, diratakan bagian pinggirnya dan dibuat sedikit meruncing pada bagian ujung. Terakhir, blok parafin siap dipotong dengan mikrotom.

#### 7.5. *Cutting*

Pemotongan dilakukan pada ruang dingin. Sebelum dipotong blok parafin didinginkan terlebih dahulu. Pemotongan dilakukan dengan ketebalan 4µm. Hasil pemotongan yaitu berupa pita jaringan tipis. Pita jaringan diapungkan pada air untuk menghilangkan kerutan pada jaringan, lalu dipindahkan ke dalam *waterbath* selama beberapa detik hingga mengembang sempurna. Setelah itu, pita jaringan diambil dengan *object glass (slide)* bersih dan ditempatkan pada bagian sepertiga atas *object glass*. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam hingga jaringan melekat sempurna.

#### 7.6. *Staining*

Pewarnaan diawali dengan perendaman *slide* jaringan dalam larutan *xylol* I, II, III masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya direndam dalam alkohol absolute I, II, III masing-masing selama 5 menit. Perendaman selanjutnya yaitu dengan aquades selama 1 menit. Potongan organ dimasukkan ke dalam larutan pewarnaan *Harris Hematoxylin Eosin* selama 20 menit. *Slide* jaringan dimasukkan ke

dalam aquades selama 1 menit dengan sedikit mengoyang-goyangkan organ. *Slide* jaringan dicelupkan dalam asam alkohol sebanyak 2-3 celupan, lalu dibersihkan dalam aquades bertingkat masing-masing 15menit, dimasukkan dalam eosin selama 2 menit dan berturut-turut dimasukkan dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir *slide* jaringan dimasukkan kedalam *xylol* IV dan V masing-masing selama 5 menit.

#### 7.7. *Mounting*

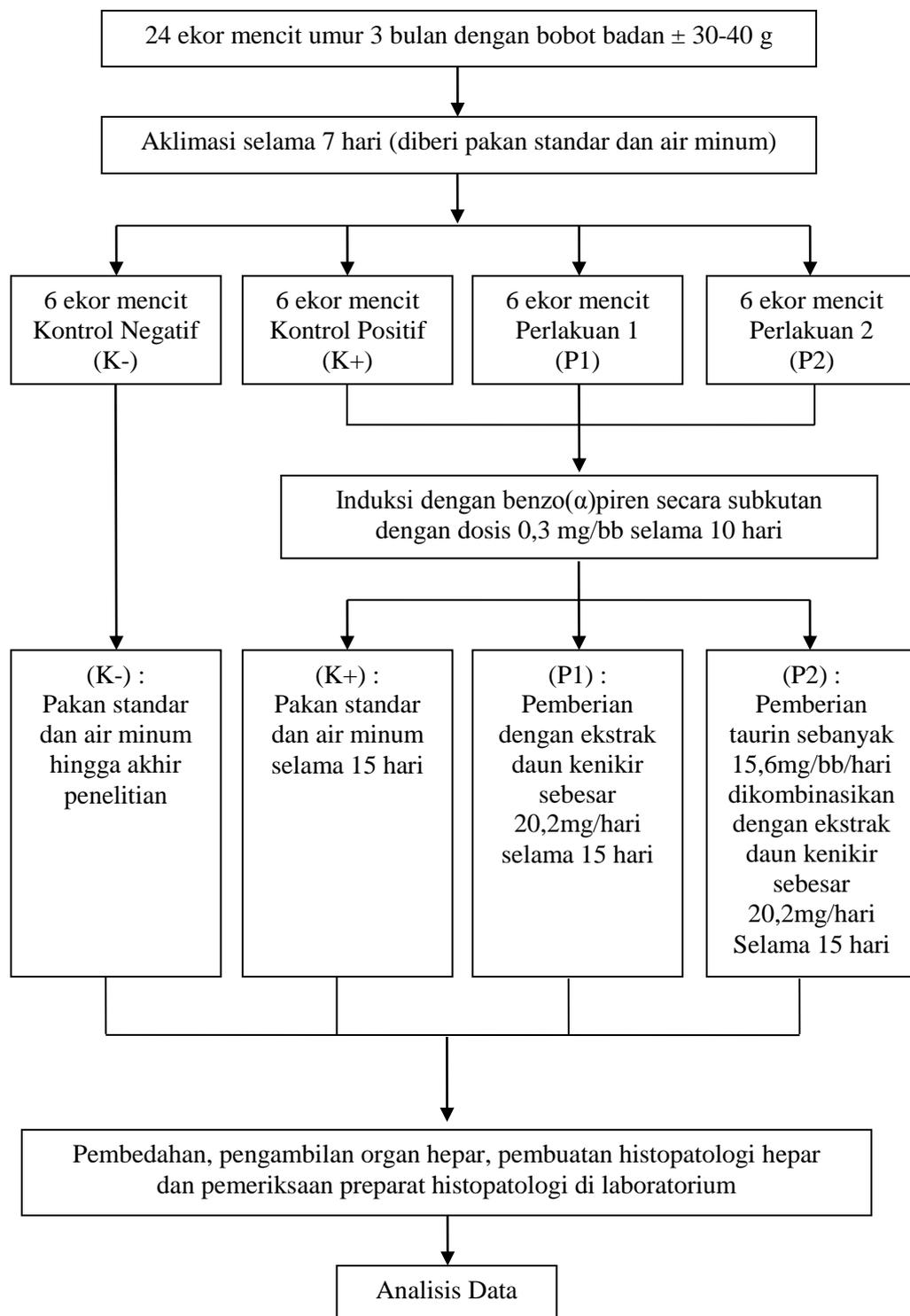
Setelah pewarnaan selesai *slide* jaringan ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, dan ditetesi dengan bahan mounting yaitu kanada balsam kemudian ditutup dengan *cover glass*. Dalam proses ini jangan sampai terbentuk gelembung udara pada preparat histopatologi hepar.

#### 7.8. Pengamatan preparat menggunakan mikroskop

Preparat histopatologi hepar diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah prosedur *double blinded* (Ali, 2007).

Keseluruhan tahapan penelitian ini dapat dilihat pada diagram alir penelitian (Gambar 9).

### E. Diagram Alir Penelitian



Gambar 9. Diagram alir penelitian

## F. Parameter Penelitian

Parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu :

a. Rerata berat badan mencit

Pengukuran rerata berat badan mencit dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pengukuran berat badan mencit hari ke-10 (berat badan mencit setelah 10 hari diinduksi benzo( $\alpha$ )piren), hari ke-20 (berat badan mencit setelah 10 hari pemberian ekstrak daun kenikir dan taurin), dan hari ke-25 (berat badan mencit setelah 15 hari pemberian ekstrak daun kenikir dan taurin).

b. Rerata berat basah organ hepar mencit

Pengamatan berat basah hepar mencit dilakukan dengan menimbang organ hepar sesaat setelah dilakukan nekropsi (pembedahan).

c. Rerata nilai indeks organ hepar mencit

Perhitungan nilai indeks hepar mencit dilakukan dengan rumus berikut :

$$\text{Indeks Hepar} = \frac{\text{Berat Basah Hepar Mencit (g)}}{\text{Berat Badan Mencit (g)}}$$

d. Gambaran histologi sel hepar mencit

Pengamatan pengaruh pemberian benzo( $\alpha$ )piren terhadap kerusakan jaringan hepar mencit dilakukan dengan melakukan pengamatan kerusakan jaringan pada preparat histologi hepar mencit seluruh kelompok perlakuan, kemudian dilakukan skoring derajat kerusakan pada lima lapang pandang. Berdasarkan penelitian Maretnowati *et al.* (2005), kriteria skor derajat kerusakan sel hepar mencit yaitu :

Tabel 3. Skor Derajat Kerusakan Sel Hepar

Kriteria Kerusakan	Skor
Sel hepar normal	0
Kerusakan sel hepar sebesar 1%-25%	1
Kerusakan sel hepar sebesar 26%-50%	2
Kerusakan sel hepar >50%	3

### G. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan metode statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf nyata 5% untuk melihat perbedaan yang nyata antarkelompok perlakuan, kemudian jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf nyata 5%.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- a) Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan taurin mengandung antioksidan yang berpotensi sebagai antikanker dengan memperlihatkan efektivitas dalam melindungi sel hepar mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi zat karsinogenik benzo( $\alpha$ )piren.
- b) Pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dosis 20,2 mg/bb/hari yang dikombinasikan dengan taurin dosis 15,6 mg/bb/hari merupakan dosis yang efektif dalam melindungi sel hepar mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi zat karsinogenik benzo( $\alpha$ )piren.

### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan mengamati respon histopatologi organ lainnya seperti ginjal dan limfa mencit yang diinduksi zat karsinogenik benzo( $\alpha$ )piren.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., K. K. Dhaliwal, N. N. F. Roslan, C. H. Lee, M. Kalaiselvam, H. M. Radman, Q. H. M. Saad, K. Yusof dan K. Jaarin. 2015. The Effects of *Cosmos caudatus* (Ulam Raja) on Detoxifying Enzymes in Extrahepatic Organs in Mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5(01): 082-088
- Agata, A. 2015. Respon Histopatologi Hepar Meci (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). (Tesis). Universitas Lampung. Lampung.
- Ali, H.T. 2007. Beneficial Effects Of *Nigella sativa* On The Testis Tissues Of Mice Exposed to UV Irradiation. Biology Departement/ Education College/ Mosul University.
- Alison, M.R. 2003. The Cancer Handbook 2nd Edition. Nature Publishing. Los Angeles.
- Anggraini, D. R. 2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat. (Tesis). Universitas Sumatera Utara
- Anshor, T., A. Dominius, Irwanda, M. I. Imiawan. 2013. Supresi Ekspresi CYP1A1 dan CYP1A2 Pada Hepatocellular Carcinoma Melalui Potensi Formula Herbal Terkombinasi *Gynura procumbens* dan Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* var. Microcarpa) sebagai Agen Kemopreventif Keganasan Hepar. *IMKU*. 2(1): 1–11.
- Arouma, O.I., B. Halliwell, B.M. Hoey dan J. Butler. 1988. The Antioxidant Action Of Taurine, Hypotaurine And Their Metabolic Precursors. *Biochem J*, 256:251-255.
- Aryani, D. C. 2003. Kajian Aktivitas Antiproliferasi Sel Kanker K-562. (Skripsi). Departemen TPG Fateta IPB. Bogor.
- Bhara, M. L. A. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 hari Terhadap Gambaran Histologis Hepar Tikus Wistar. (Skripsi). Universitas Diponegoro. Semarang.

- Brzoska, M. M., J. M. Jakoniuk, B. P. Marcinkiewicz dan B. Sawicki. 2003. Liver and Kidney Function and Histology in Rats Exposed to Cadmium and Ethanol. *Alcohol Alcohol*. Vol. 38 (1):2-10
- Bruix, S. dan M. Sherman. 2005. Management of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*. 42:5.
- Bunawan, H., N. B. Syarul, S. N. Bunawan, N. M. Amin dan N. M. Noor. 2014. *Cosmos caudatus* Kunth: A Traditional Medicinal Herb. *Global Journal of Pharmacology*. 8 (3): 420-426.
- Burhan, E. 2004. Angka Tahan Hidup Penderita Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil yang Layak Didedah. (Tesis). Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FKUI. Jakarta.
- Chandrasoma dan Taylor. 2005. Ringkasan Patologi Anatomi. EGC. Jakarta.
- Charlotte, L. dan Ownby. 2002. Micrographs Of Pig Liver. Diakses pada 1 Januari 2017.  
<http://instruction.cvhs.okstate.edu/histology/HistologyReference/hrd2.htm>
- Cheng S., M. Y. Barakatun-Nisak, J. Anthony dan A. Ismail. 2015. Potential Medicinal Benefits Of *Cosmos caudatus* (Ulam Raja): A scoping review. *Journal of Research in Medical Sciences* p.1000-1007.
- Dewi, M. K., U. A. Lantika dan S. Ahmad. 2014. Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Distribusi Lemak Tubuh pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Obesitas. *Prosiding Sains, Teknologi, dan Kesehatan* 4(1):81-88.
- Eilertsen, K., R. Larsen, H. K. Maehre, I. Jensen, dan E. O. Elvevoll. 2012. Anticholesterolemic and antiatherogenic effects of taurine supplementation is model dependent. *Lipoproteins – Role in Health and Diseases*. 269-288.
- Elisabeth, J., T. Haryati dan D. Siahaan. 2000. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. (PAH): Kaitannya dengan Minyak Sawit dan Kesehatan dalam Warta PPKS (Pusat Penelitian Kelapa Sawit). Medan.
- Fong, T. L. 2002. Hepatocellular Carcinoma (Liver Cancer). Diakses pada 17 Oktober 2016. [www.medicinet.com](http://www.medicinet.com)
- Georgieva, N.V. 2005. Oxidative Stress As A Factor Of Disrupted Ecological Oxidative Balance In Biological Systems—a review. *Bulg.J.Vet.Med.* 8(1): 1–11.
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11. EGC. Jakarta.

- Hannan, D. dan R. A. Weinberg. 2011. The Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell - Elsevier*, 4:646-674.
- Harbinson, R. D. 2001. The Basic Science of Poison in Cassaret and Doulls Toxicology. Mac Millan Publish. New York
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas pada Usia Lanjut. *MIPA* 14(1):54.
- Hassan, W. E. 2006. Healing Herbs of Malaysia Kuala Lumpur. *Federal Land Development Agency* p.1.
- Iradat, P. 2013. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Gambaran Histopatologi Alveolus Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Gentamisin. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung.
- Ismail, S.A.A. 2016. Clinicopathological Studies on the Chemotherapeutic Effect of Silymarin and Taurine on N-nitrosodiethylamine induced hepatic cell carcinoma in Rats. *International Journal of Advanced Research* Volume 4(1):1219- 1230
- Juliyarsi dan Melia. 2007. Dadih Susu Sapi Mutan (*Lactococcus lactis*) Sebagai Food Healthy Dalam Menghambat Kanker. *Artikel Penelitian*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas. Padang.
- Junqueira, L.C. dan J. Carneriro. 2007. Histologi Dasar Teks Dan Atlas, Edisi ke-10. EGC. Jakarta.
- Katz, B. G. 2002. Basic and Clinical Pharmacology. *alih bahasa* : Dripa Sjabana, Endang Isbianti, Achmad Basori, Moch. Sudjak N, Indriyatni, Ramadhani RB, Sunarni Zakaria. Salemba Medika. Surabaya.
- Kerr, M. 2004. Liver Cancer Fastest Growing Cancer in US. Diakses pada tanggal 17 Pktober 2016. <http://www.nlm.nih.gov>
- Lavenia, A. 2010. Penghambatan Peroksidasi Lipid Oleh Ekstrak Kulit Batang Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Pada Tikus Hiperurisemia. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Bogor.
- Liliwiarinis N, N.L.W. Musa, W.Z.W.M. Zain, J. Kassim dan S.A. Karim. 2011. Premilinary Studies on Phytochemical Screening of Ulam and Fruit from Malaysia. *E-Journal of Chemistry* 8(1):285-288.
- Li, N., Z. Shi, Y. Tang, J. Chen dan X. Li. 2008. Recent Progress On The Total Synthesis Of Acetogenins From Annonaceae. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 4(48): 4–12.

- Lotulung, P.D.N., Minarti dan L. B. S. Kardono. 2005. Penapisan Aktivitas Antibakteri, Antioksidan Dan Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Ekstrak Tumbuhan Asteraceae. Abstrak. Pusat Penelitian LIPI.
- Maretnowati, N., A. Widyawaruyanti, M. H. Santosa. 2005. Uji Toksisitas Akut Dan Subakut Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus champeden* Spreng dengan Parameter Histopatologi Hati Mencit. *Majalah Farmasi Airlangga*; 5(3):91-5.
- Marlinda, H. 2015. Respon Eritrosit dan Leukosit Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Dewa (*Gynura segetum* (Lour) Merr. (Tesis). Universitas Lampung. Lampung.
- Maysa, A. 2015. Uji Senyawa Taurin sebagai Antikanker terhadap Jumlah Sel-Sel Leukosit dan Sel-Sel Eritrosit Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Benzo (A) pyren secara *In Vivo*. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung.
- Mediawiki. 2007. Cancer. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2016. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer>
- Michael, B., Yano, Barry., R. S. Sellers, R. Perry, D. Morton, N. Roomie, J. K. Johnson dan K. Schafer. 2007. Evaluation of Organ Weights for Rodent and Non-Rodent Toxicity Studies: A Review of Regulatory Guidelines and a Survey of Current Practises. *Toxicologic Pathology* Vol. 35: 742-750
- Mohamed N., Z. Sahhugi, E. S. M. Ramli dan N. Muhammad. 2013. The Effects of *Cosmos caudatus* (ulam raja) On Dynamic And Cellular Bone Histomorphometry In Ovariectomized Rats. *BMC Research Notes* 6 : 239-245.
- Moore, K.L. dan A. M. R. Agur. 2002. *Anatomi Klinis Dasar*. Hipokrates. Jakarta.
- Mugianton. 2010. Kandungan Benzo ( $\alpha$ ) piren dalam Daging Olahan Dengan Metode Kromatografi Gas. (Skripsi). Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Muljono, D.H. 2004. Keterlibatan Mitokondria Pada Penyakit Hati. Lembaga Biologi Molekul Eijkman. Jakarta.
- Nebert, D.W., Z. Shi, M. Gálvez-Peralta, S. Uno dan N. Dragin. 2013. Oral Benzo[a]pyrene: Understanding Pharmacokinetics, Detoxication and Consequences—*Cyp1* Knockout Mouse Lines as a Paradigm. *Molecular Pharmacology Fast Forward*. DOI: 10.1124/mol.113.086637.
- Nisa, F., I. Pratomo, P. A. Nugroho dan A. Hermawan. 2014. Kanker Hepar (Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC) Farmasi UGM).

Diakses pada tanggal 17 Oktober 2016.

[http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=864](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=864)

- Nugraha, L.S.A. 2011. Cara dan Rute Pemberian Obat Pada Hewan Percobaan Mencit. Akademi Farmasi Theresiana. Semarang.
- Pebriana R. B., B. W. K. Wardhani, E. Widayanti, N. L. S. Wijayanti, T. R. Wijayanti, S. Riyanto dan E. Meiyanto. 2008. Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmakon*, 9(1):21-26.
- Pierce, S.A dan L. M. Wilson. 2006. Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Vol 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Pramono dan Malole. 1989. Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor.
- Ranasasmita, R. 2008. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun *Aglaia elliptica* Blume Pada Tikus Betina Yang Diinduksi 7,12-dimetilbenz( $\alpha$ )antrasena. (Skripsi). Program Studi Biokimia. FMIPA IPB. Bogor.
- Redmon, H., P. Stapleton dan David. 1983. Immunostription The Ple of Taurine. *Nutrition*14: 559-604.
- Ren, W., Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu dan L. Zhang. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews* 23 (4), 519-534.
- Ressang, A. A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. NV Percetakan Bali, Bali.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran dan V. Kumar. 2007. Robbins Buku Ajar Patologi Edisi 7. EGC. Jakarta.
- Saladin. 2003. Anatomy & Physiology: The Unity Of Form And Function, Third Edition. The mcgraw-hill companies. New York.
- Santoso, A. A. 2012. Efek Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Kadar Asam Urat Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar Hiperurikemia. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Sarmoko, E. dan Sulistyorini. 2010. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.). Diakses pada tanggal 30 Oktober 2016.  
[http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=101](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=101).
- Schuller-Lewis, G. dan M.R. Qinn. 1994. Taurine Protects Against Oxidant-Induced Lung Injury: Possible Mechanism(s) Of Action. *Adv Exp Med Biol* ;359:31–39.

- Sellers, R. S., Morton, D., Michael, B., Roome, N., Johnson, J. K., Yano, B. R., Perry, R., and Schaffer, K..2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Ogan Weight Recommendation for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology* Vol. 35:751-755
- Shao, A. dan J.N. Hathcock. 2008. Risk Assessment for the Amino Acids Taurine, L-Glutamine and L-Arginine. *Regul Toxicol Pharmacol* 50(3) : 376-399.
- Shui, G. L. P., S. P. Leong dan Wong. 2005. Rapid Screening and Characterization of Antioxidant of *Cosmos caudatus* Using Liquid Chromatography Coupled With Mass Spectrometry. 822:125-158.
- Shuo, Tu, X. Zhang, D. Luo, Z. Liu, X. Yang, H. Wan, L. Yu, H. Li dan F. Wan. 2015. Effect Of Taurine On The Proliferation And Apoptosis Of Human Hepatocellular Carcinoma Hepg2 Cells. *Exp Ther Med*, 10(1): 193–200.
- Simpson, M. G. 2006. Plant Systematics. Elsevier Academic Press. USA.
- Sloane, E. 2004. Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula. EGC. Jakarta.
- Smayda, R. 2002. Contemporary Review Of Therapeutic Benefits Of The Amino Acid Taurine. *The Journal of Biological Chemistry* 257(6):2802-2805.
- Snell, R.S. 2006. Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran, edisi ke-6. EGC. Jakarta.
- Soare, J.R., T. C. P. Dinis, A. P. Cunha dan L. M. Almeida. 1997. Antioxidant Activities of Some Extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, 26: 469-478
- Soegijanto, S., F.A. Ratam, Soetjipto, K. Sudiyana, Y. Priyatna. 2003. Uji Coba Vaksin Dengue Rekombinan pada Hewan Coba Mencit, Tikus, Kelinci dan Monyet. *Sari Pediatri*, Vol. 5, No. 2, September 2003: 64 – 71.
- Strange, W. dan Jackson, 1997. Penaeid Shrimp Nutrition for the Comercial Feed Industry. In Proceeding of the Aquaqulture Feed.
- Suckow, M.A., S.H. Weisbroth, dan C. I. Franklin. 2006. Rats As Laboratory Animals. Elsevier Inc. London.
- Sugitha, I.M. dan M. Djalil. 1989. Susu, Penanganan dan Teknologinya. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Sumpena, Y. 2009. Uji Mutagenisitas Benzo ( $\alpha$ ) piren dengan Metode Mikronukleus pada Sumsu Tulang Mencit Albino (*Mus musculus*). *Cermin Dunia Kedokteran* Vol 36 no. 1/167.

- Tabassum, H., H. Rehman, B. D. Banerjee, S. Raisuddin dan S. Parvez. 2006. Attenuation Of Tamoxifen-Induced Hepatotoxicity By Taurine In Mice. *Clinica Chimica Acta*, 370:129–136.
- Takutude, R., L. Lilliy dan M. P. Lintong. 2014. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang Diberikan Boraks. *Jurnal e-Bimedil (eBM)* 2(4): 4.
- Taraphadar, A. K., M. Roy dan R. K. Bhattacharya. 2001. Natural Products As Inducers Of Apoptosis: Implication For Cancer Therapy And Prevention. *Current Science*, (80)11:1387-1396.
- Terzi, G., T. H. Çelik dan C. Nisbet. 2008. Determination Of Benzo[A]Pyrene In Turkish Döner Kebab Samples Cooked With Charcoal Or Gas Fire. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, (47) : 187–193.
- Thrall, M. A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Maryland: Lippincott Williams dan Wilkins. hal 3-11; 20; 69-77; 212-217.
- Walker, C. H. 2009. *Organic Pollutants : An Ecotoxicological Perspective*. CRC Press. London.
- Wibowo, L. K. 2014. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Kerusakan Struktur Histologi Ginjal Mencit yang diinduksi Parasetamol. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Xiaoyue P., F. N. Hussain, J. Iqbal, M. Feuerman dan M. M. Hussain. 2007. Inhibiting Proteasomal Degradation Of Microsomal Triglyceride Transfer Protein Prevents CCl<sub>4</sub>-Induced Steatosis. *JBC papers*. 282(23): 17078–89.
- Xia Zhang, C. Bi, Y. Fan, Q. Cui, D. Chen, Y. Xiao dan Q. P. Dou. 2008. Induction Of Tumor Cell Apoptosis By Taurine Schiff Base Copper Complex Is Associated The With Inhibition Of Proteasomal Activity. *Int J Mol Med*, 22(5): 677–682.
- Yana, S. 2009. Uji Mutagenisitas Benzo(alfa)piren dengan Metode Mikronukleus pada Sumsum Tulang Mencit Albino (*Mus musculus*). *Cermin Dunia Kedokteran*, Vol 36(1):167.
- Yuwono. 2009. Mencit strain CBR Swiss Derived. Pusat Penelitian Penyakit Menular Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta.