

POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGA KUPU-KUPU (*Bauhinia purpurea* L.) DAN TAURIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, ERITROSIT DAN RESPON HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO(α)PIREN

(Skripsi)

**Oleh
NUZULUL ISTIKOMAH**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

ANTICANCER POTENTIAL OF *Bauhinia purpurea* L. LEAVES ETHANOLIC EXTRACT AND TAURINE ON LEUKOCYTE, ERYTHROCYTE AND BRAIN HISTOPATHOLOGY OF MICE (*Mus musculus* L.) INDUCED BY BENZO(α)PYRENE

By

Nuzulul Istikomah

Cancer is a disease characterized by the presence of uncontrolled cell division. Some research is done to get the drug based natural ingredients and is believed to have little side effects and has a good therapeutic effect thus reducing the use of chemical drugs. *Bauhinia purpurea* L. has a good antioxidant activity as well as the nature of effect tumor cells. In addition, taurine also has the function to protect the cells from free radicals and inhibit proliferation of tumor. The purpose of this study was to determine the anticancer effectivity of *Bauhinia purpurea* L. leaves ethanolic extract and taurine on the leukocyte, erythrocyte and brain histopathology of mice induced by benzo(α)pyrene. This study was conducted in a complete randomized design by using four treatments, each in six replications. K1 used as control were not given any treatment. K2 were induced by 0,3 mg/bw benzo(α)pyrene subcutaneously for 10 days without being given *Bauhinia purpurea* L. leaves extract nor taurine. K3 were given 22,4 mg/bw of *Bauhinia purpurea* L. leaves extract for 15 days after being induced by benzo(α)pyrene. K4 were given 15,6 mg/bw of taurine which was combined by 22,4 mg/bw of *Bauhinia purpurea* L. extract for 15 days after being induced by benzo(α)pyrene. The data will be tested homogeneity with levene test and then 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 *Bauhinia purpurea* L. leaves ethanolic extract had the ability to protect leukocyte, erythrocyte and brain cell from the damage caused by benzo(α)pyrene.

Keywords: *Bauhinia purpurea* L., benzo(α)pyrene, brain histopathology, erythrocyte, leukocyte, *Mus musculus* L., taurine

ABSTRAK

POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGA KUPU-KUPU (*Bauhinia purpurea* L.) DAN TAURIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, ERITROSIT DAN RESPON HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO(α)PIREN

Oleh

NUZULUL ISTIKOMAH

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya pembelahan sel yang tidak terkendali. Beberapa penelitian dilakukan untuk mendapatkan obat yang berbasis bahan alam dan dipercayai memiliki efek samping yang kecil dan memiliki efek terapi yang baik sehingga mengurangi penggunaan obat kimia. Daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang baik serta bersifat antiproliferatif. Selain itu, taurin juga memiliki fungsi untuk melindungi sel-sel dari radikal bebas dan dapat menghambat proliferasi tumor. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efektivitas antikanker dari ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan taurin terhadap jumlah leukosit, eritrosit, dan respon histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi benzo(α)piren. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan terbagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan 6 ulangan. Kelompok K1= (K-), K2 (diinduksi benzo(α)piren dosis 0,3 mg/bb 10 hari), K3 (diinduksi benzo(α)piren 10 hari kemudian ekstrak daun bunga kupu-kupu dosis 22,4 mg/bb 15 hari), K4 (diinduksi benzo(α)piren 10 hari kemudian taurin dosis 15,6 mg/bb/hari dikombinasikan ekstrak daun bunga kupu-kupu dosis 22,4 mg/bb 15 hari). Data yang diperoleh diuji homogenitas dengan uji levene selanjutnya dianalisis menggunakan metode statistik ANOVA (*analysis of variance*) pada taraf nyata 5% ($p < 0,05$), jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan pemberian taurin dosis 15,6 mg/bb/hari yang dikombinasikan dengan ekstrak daun bunga kupu-kupu dosis 22,4 mg/bb/hari selama 15 hari efektif dalam melindungi leukosit, eritrosit dan mengurangi kerusakan sel otak akibat induksi benzo(α)piren.

Kata kunci : *Bauhinia purpurea* L., benzo(α)piren, eritrosit, histopatologi otak, leukosit, *Mus musculus* L., taurin

POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGA KUPU-KUPU (*Bauhinia purpurea* L.) DAN TAURIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, ERITROSIT DAN RESPON HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO(α)PIREN

Oleh

NUZULUL ISTIKOMAH

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
2018**

Judul Skripsi

: **POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK
ETANOL DAUN BUNGA KUPU-KUPU (*Bauhinia
purpurea* L.) DAN TAURIN TERHADAP JUMLAH
LEUKOSIT, ERITROSIT DAN RESPON
HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT (*Mus musculus*
L.) YANG DIINDUKSI BENZO(a)PIREN**

Nama Mahasiswa

: **Nuzulul Istikomah**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1417021090

Program Studi

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Endang Linirin Widhiastuti, Ph.D.
NIP. 19610611 198603 2 001

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

2. Ketua Jurusan Biologi

Dr. Nuning Nurchayani, M.Sc.
NIP. 19660305 1991603 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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

Sekretaris

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

Penguji

Bukan Pembimbing

: **Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**

2. 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 : 16 April 2018

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pringsewu, pada tanggal 07 Februari 1995. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara oleh pasangan Bapak Dasman dan Ibu Hindun.

Penulis mulai menempuh pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 06 Pringsewu Utara. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri 01 Pringsewu pada tahun 2007. Pada tahun 2010 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Negeri 01 Pringsewu.

Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi Umum Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan Mikrobiologi Pangan dan Industri. Selain itu, penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai bendahara Bidang Sains dan Teknologi periode kepengurusan 2015-2016

dan sebagai sekretaris umum Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA periode kepengurusan tahun 2016.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Purwodadi, Kecamatan Bangun Rejo, Lampung Tengah pada bulan Januari-Februari 2017 dan melaksanakan Kerja Praktik di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung pada Juli-Agustus 2017 dengan judul **“Gambaran Histopatologi Organ Dalam Ikan Budidaya Laut Terinfeksi Penyakit di BBPBL Lampung”**.

PERSEMBAHAN

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:

Bapak dan Ibuku tercinta yang senantiasa mengucap namaku dalam do'a, mencurahkan kasih dan sayangnya untukku, serta selalu mendukung dan memotivasi dalam setiap langkahku,

Ketiga kakakku tersayang yang juga selalu mendo'akan dan memberikan semangat, motivasi dan selalu berbagi canda tawa,

Bapak dan Ibu Dosen yang selalu memberikanku ilmu yang bermanfaat, dan membantuku dalam menggapai kesuksesan,

Teman-teman, kakak-kakak, dan adik-adik yang selalu memberikanku pengalaman berharga, motivasi, dan semangat,

serta Almamaterku tercinta.

MOTTO

*“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(Al-Insyirah Ayat 6)*

*“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ?”
(Ar-Rahman Ayat 13)*

*“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu.
Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi
kamu. Allah Maha Mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”
(Al Baqarah Ayat 216)*

*“Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan
Allah”
(HR. Turmudzi)*

*“Sesungguhnya malaikat meletakkan sayapnya sebagai tanda ridha
pada penuntut ilmu”
(HR. Abu Daud)*

SANWACANA

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang selalu memberikan segala bentuk nikmat hidup serta rahmat dan hidayah, sholawat beriring salam semoga senantiasa tercurah kepada pemimpin, murrobbi serta guru kita sepanjang zaman Nabi besar Muhammad SAW.

Penulis telah menyelesaikan skripsi dengan judul **“POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGA KUPU-KUPU (*Bauhunia purpurea* L.) DAN TAURIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, ERITROSIT DAN RESPON HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI BENZO(α)PIREN”** yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan memberikan bantuan, bimbingan, kritik dan saran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini :

1. Bapak dan ibuku tercinta yang selalu memberikan do'a-do'a terbaiknya, memberi kasih sayang, semangat, serta motivasi kepada penulis dalam menggapai cita-cita.
2. Kakak-kakaku Fitri Yuningsih, Imam Al Imron dan Widi Imam Syah yang selalu memberikan do'a, semangat dan menjadi tempat berbagi cerita.

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 atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
5. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Pembahas atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
6. Ibu Martha L. Lande, M.P. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi, pengarahan 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 Dr. 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 selaku Laboran Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu penulis dalam pembuatan preparat histopatologi otak.

12. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan.
13. Mba Iffa Afiqa Khairani dan mba Radella Hervidea terima kasih telah banyak memberikan waktu, dukungan dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
14. Nadhiroh Zulfa rekan seperjuangan sejak menjadi mahasiswa baru, selama perkuliahan hingga penelitian terima kasih atas semua bantuan, kerjasama, do'a, semangat, motivasi, tempat berbagi cerita dan canda tawa serta terima kasih telah menjadi partner terbaik selama ini.
15. Teman-teman terdekatku Alfi Oktariani, Microholic 2014 (Rosmaida LA Sinurat, Komang Rima, Benny Hartanto, Agung Setia N, Rismayanti, Ketut, Nandia Putri), Saudaraku Diana Ismawati dan Nurul Zikra, Aprilia Sari, Astri Ayu A, Titin Aprilia, Intan Aghniya, Nabiillah Iffatul, Irani Maya S, Vielda Rahmah, Eka Prasetiawati, Annisa Gena, Nurjulia Jashinda, Betara Sona, Athiyya, Irma Aryani, Anis Ashari, Nadia Fakhriyati, Mizan Sahroni yang selama di perkuliahan selalu ada untuk membantu, memberi saran, kritik, motivasi, semangat serta canda tawa.
16. Presidium HIMBIO 2016 Dicky Dwi Alfandy, Dian Pramudiono dan Indah Yusni terima kasih atas semangat kebersamaannya selama ini.
17. Teman-teman Biologi Angkatan 2014 atas keakraban, canda tawa, dukungan, dan kebersamaannya selama ini yang telah kalian berikan.
18. Warga kosan No. 31 Iska Hartina A, Dea Putri A, Lina Linda, Renita Sari, Mba Ana Wahyu, Mba Ema Rahmawati, DDN, Nisa dan Winda terima

kasih atas semangat, motivasi serta kebersamaan dan kekeluargaan yang terjalin selama ini.

19. Teman KKN Desa Purwodadi, Kecamatan Bangun Rejo, Lampung
Tengah Lupita Indah Sari dan Elina Rahma, terima kasih atas bantuan dan kebersamaannya selama KKN hingga saat ini.
20. Seluruh kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas kebersamaannya di FMIPA, Universitas Lampung.
21. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan penulis dukungan, berbagai kritik dan saran.
22. 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, April 2018

Penulis,

Nuzulul Istikomah

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
E. Kerangka Pikir.....	5
F. Hipotesis	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Kanker.....	8

B. Otak.....	11
C. Tumor Otak.....	13
D. Darah.....	16
E. Kanker Darah (Leukemia).....	19
F. Daun Bunga Kupu-kupu (<i>Bauhinia purpurea</i> L.).....	21
G. Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	25
H. Taurin.....	27
I. Benzo(α)piren.....	29
III. METODE PENELITIAN.....	31
A. Waktu dan Tempat.....	31
B. Bahan dan Alat.....	31
C. Metode Penelitian	32
D. Pelaksanaan Penelitian.....	34
E. Alur Penelitian.....	40
F. Parameter Uji.....	41
G. Analisis Data.....	45
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
A. Perubahan Rerata Berat Badan Mencit.....	46
B. Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit).....	49
C. Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit).....	51
D. Korelasi Jumlah Sel Darah Merah dan Sel Darah Putih ..	55
E. Rerata Jumlah Total Jenis Leukosit.....	56
F. Rerata Berat Basah Organ Otak Mencit	60
G. Rerata Indeks Organ Otak Mencit	62
H. Pengamatan Histopatologi Otak Mencit.....	63
1. Rata-Rata Jumlah Kerusakan Sel Otak Mencit	63
2. Gambaran Kerusakan Jaringan Otak.....	66
a. Struktur Histologis Otak Mencit K1.....	67
b. Struktur Histologis Otak Mencit K2.....	69
c. Struktur Histologis Otak Mencit K3.....	73
d. Struktur Histologis Otak Mencit K4.....	76
V. SIMPULAN	79
A. Simpulan	79
B. Saran.....	79
DAFTAR PUSTAKA.....	80
LAMPIRAN.....	90

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rerata Jumlah Total Jenis Leukosit	56
Tabel 2. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Berat Badan Mencit.....	99
Tabel 5. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Jumlah Eritrosit	103
Tabel 6. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Jumlah Leukosit	105
Tabel 7. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Jumlah Jenis Leukosit	106
Tabel 8. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Berat Basah Organ Otak.....`	108
Tabel 9. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Indeks Organ Otak.....	108
Tabel 10. <i>One Way</i> ANOVA Skor kerusakan sel-sel otak	109

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Enam karakter khusus sel kanker	9
Gambar 2. Susunan saraf pusat otak	12
Gambar 3. Skema <i>hematopoiesis</i>	17
Gambar 4. Diferensiasi leukosit pada Mencit	18
Gambar 5. Bentuk sel darah merah manusia.....	19
Gambar 6. Daun bunga kupu-kupu (<i>Bauhinia purpurea</i> L.)	23
Gambar 7. Mencit.....	26
Gambar 8. Struktur taurin	27
Gambar 9. Struktur benzo(α)piren	29
Gambar 10. Proses ekstraksi daun bunga kupu-kupu	35
Gambar 11. Diagram alir penelitian.....	40
Gambar 12. Kamar Hitung Improved Neubaur.....	44
Gambar 13. Rerata Berat Badan Mencit yang Diinduksi Benzo(α)piren.....	46
Gambar 14. Jumlah Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit).....	49
Gambar 15. Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit)	52
Gambar 16. Korelasi Jumlah Sel Darah Merah dan Sel Darah Putih	55
Gambar 17. Rerata Berat Basah Organ Otak Mencit.....	60
Gambar 18. Rerata Indeks Organ Otak Mencit.....	62

Gambar 19. Rata-Rata Jumlah Kerusakan Sel Otak Mencit	64
Gambar 20. Struktur Histologis Otak Mencit K1	67
Gambar 21. Struktur Histologis Otak Mencit K2	69
Gambar 22. Struktur Histologis Otak Mencit K3	73
Gambar 23. Struktur Histologis Otak Mencit K4	76
Gambar 24. Mencit yang digunakan dalam Penelitian	91
Gambar 25. Timbangan Digital	91
Gambar 26. Timbangan Analitik	91
Gambar 27. Tabung EDTA	92
Gambar 28. Seperangkat Alat Bedah	92
Gambar 29. Daun Bunga Kupu-kupu yang Dikering Anginkan.....	92
Gambar 30. Ekstrak Daun Bunga Kupu-kupu	93
Gambar 31. Taurin	93
Gambar 32. Tata Letak Kandang	93
Gambar 33. Penginduksian Benzo(α)piren Kepada Mencit.....	94
Gambar 34. Mencit yang Diinduksi Benzo(α)piren.....	94
Gambar 35. Pemberian Ekstrak Daun Bunga Kupu-kupu Kepada Mencit	95
Gambar 36. Pemberian Taurin Kepada Mencit.....	95
Gambar 37. Pengukuran Berat Badan Mencit.....	96
Gambar 38. Pembiusan Mencit	96
Gambar 39. Proses Pengambilan Darah Mencit	97
Gambar 40. Proses Pembedahan dan Pengambilan Organ Otak Mencit	98

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, berkembang cepat dan terus membelah diri, hingga menjadi penyakit berat (Maharani, 2009). Karakter penyakit kanker adalah terjadinya proliferasi atau pembelahan yang tidak terkontrol. Sel-sel kanker membentuk suatu masa dari jaringan ganas yang kemudian menyusup ke jaringan didekatnya dan menyebar ke seluruh tubuh (Sunaryati, 2011).

Berdasarkan data statistik beberapa bentuk kanker dapat diderita oleh lebih dari sepertiga populasi dan merupakan penyebab lebih dari 20% kematian (Nussbaum dkk, 2001). Penyakit kanker menjadi salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Jenis kanker seperti kanker darah (leukemia), kanker mata (retinoblastoma), kanker otak, kanker kelenjar getah bening (limfoma), dan kanker tulang merupakan jenis kanker yang banyak diderita oleh anak-anak (Yayasan Pita Kuning Anak Indonesia, 2011).

Penyakit kanker dapat menyerang semua jaringan termasuk darah dan otak. Penyakit kanker darah (leukemia) ditandai dengan adanya perkembangan dan

proliferasi leukosit secara abnormal di dalam darah dan sumsum tulang (Ramadi, 2005). Sel-sel jaringan darah akan mengalami pembelahan secara terus menerus dan mengalami peningkatan. Pertumbuhan dan perkembangan abnormal sel-sel darah dapat berubah menjadi sel-sel ganas. Pada pasien kanker sering ditemukan adanya kekurangan jumlah sel-sel darah merah yang merupakan kelainan hematologi (Yuliangga 2008).

Tumor otak merupakan salah satu bagian dari tumor pada sistem saraf. Tumor otak ada yang bersifat primer atau merupakan metastasis dari tumor pada organ lain. Permasalahan klinis tumor otak berbeda dengan tumor lain karena efek yang ditimbulkan dan keterbatasan terapi. Kerusakan yang terjadi pada jaringan otak secara langsung akan menyebabkan gangguan fungsional pada sistem saraf pusat, seperti gangguan motorik, sensorik, panca indera dan kemampuan kognitif. Efek massa tumor yang ditimbulkan dapat memberikan masalah yang serius karena tumor berada dalam rongga tengkorak yang merupakan suatu ruang tertutup dengan ukuran tetap (Hakim, 2005; Wahjoepramono, 2006).

Benzo(α)piren termasuk dalam senyawa *hidrokarbon polisiklik aromatik* (PAH) dan digolongkan sebagai senyawa prokarsinogen yang kuat. Menurut Nebert dkk (2013), senyawa ini dijumpai di lingkungan sebagai hasil proses pembakaran yang tidak sempurna. Secara *in vivo*, benzo(α)piren telah terbukti dapat menyebabkan tumor pada setiap model hewan percobaan, baik melalui jalur makanan, pernapasan, maupun kontak pada permukaan kulit.

Benzo(α)piren memiliki beberapa efek kesehatan di dalam tubuh seperti efek

genetis, efek kronis dan efek akut. Efek genetis ditandai dengan terbentuknya DNA *adduct* yang dapat meningkatkan proses mutasi pada limfosit perifer. Efek kronis berupa *immunosupresive*, serta efek yang cukup berbahaya lainnya yaitu munculnya kanker pada beberapa organ. Efek akut berupa iritasi pada kulit (Mais, 2008).

Secara medis, metode pengobatan kanker diantaranya adalah tindakan bedah, radiasi dan kemoterapi (Sukaradja, 2000). Namun, pengobatan kanker secara medis memerlukan biaya tinggi. Selain itu, obat kemoterapi yang digunakan dalam penyembuhan kanker memiliki efek secara langsung pada organ dalam tubuh dan memicu toksisitas obat dari waktu ke waktu. Dampak yang ditimbulkan berupa kerusakan sel atau jaringan yang luas menimbulkan beberapa efek samping spesifik seperti rambut rontok, kulit kering, mukositis dan sebagainya (Gibson dan Soanes, 2008).

Hal tersebut mendorong untuk dikembangkannya penelitian mengenai penggunaan obat yang berbasis bahan alam yang dipercayai memiliki efek samping yang kecil dan memiliki efek terapi yang baik. Salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antikanker adalah tanaman daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.). Tumbuhan yang biasa digunakan untuk peneduh pekarangan rumah ini memiliki sifat antiproliferatif serta antioksidan yang baik.

Daun Bunga Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) mengandung senyawa flavonoid yang berperan dalam aktivitas antiproliferatif. Kumar dan Chandrashekar (2011), menyatakan bahwa tumbuhan ini memiliki potensi

sebagai antibakteri, antidiabetes, antijamur, analgesik, anti-inflamasi, anti-diare, antikanker dan *nephroprotective*.

Taurin atau yang dikenal dengan *2-aminoethanesulfonic acid* memiliki sifat antikanker yaitu dengan melindungi sel-sel dari radikal bebas. Secara tidak langsung, taurin diketahui sebagai zat antioksidan yaitu dengan menstabilkan membran dan secara langsung yaitu melalui penyerapan HOC1 (Stapleton dkk., 1998). Penelitian mengenai pemberian ekstrak daun bunga kupu-kupu dan taurin sebagai antikanker terhadap jumlah sel-sel darah dan respon histopatologi otak mencit belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi antikanker dari kedua senyawa tersebut.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah pemberian ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan kombinasi taurin dengan ekstrak daun bunga kupu-kupu dapat melindungi sel-sel darah dan otak mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi karsinogenik benzo(α)piren.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi antikanker dari ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan taurin terhadap jumlah leukosit, eritrosit dan respon histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi benzo(α)piren.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai kemampuan ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan taurin yang berpotensi sebagai antikanker.

E. Kerangka Pikir

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya pembelahan sel yang tidak terkendali. Menurut *The Central Brain Tumor Registry of the United States* (CBTRUS), tumor otak primer termasuk dalam 10 besar penyebab kematian terkait kanker. Diperkirakan sekitar 13.000 orang di Amerika Serikat meninggal dunia akibat tumor ini setiap tahunnya. Sementara, jenis kanker seperti kanker darah, kanker mata dan kanker kelenjar getah bening juga banyak menyerang khususnya terjadi pada anak-anak.

Penyakit kanker menjadi salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Di Indonesia, kanker perlahan mulai menggeser posisi serangan jantung sebagai penyebab utama kematian. Data Departemen Kesehatan RI pada tahun 2007, menunjukkan bahwa kanker berada pada posisi keempat penyebab kematian akibat penyakit non-infeksi, setelah serangan jantung, *stroke*, dan *diabetes mellitus*. Naiknya posisi kanker sebagai penyebab kematian adalah akibat tingginya jumlah kasus baru kanker yang datang pada stadium lanjut.

Penyakit kanker salah satunya dapat disebabkan oleh zat karsinogenik seperti benzo(α)piren. Benzo(α)piren yang terakumulasi di dalam darah dapat

membahayakan yaitu dengan menginduksi kerusakan DNA dan stres oksidatif. Benzo(α)piren telah teridentifikasi sebagai senyawa yang memiliki sifat karsinogen yang tinggi, karena secara permanen dapat membentuk kompleks dengan DNA dan menyebabkan mutasi pada gen.

Jenis kanker yang berbahaya diantaranya adalah kanker otak dan kanker darah (leukemia). Berbagai pengobatan dilakukan untuk dapat menyembuhkan penyakit kanker, salah satunya adalah dengan melakukan kemoterapi. Namun, dalam jangka panjang obat kemoterapi dapat mengakibatkan kerusakan sel atau jaringan yang luas dan menimbulkan beberapa efek samping spesifik.

Daun Bunga Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antikanker. *Bauhinia purpurea* L. memiliki kandungan utama senyawa metabolit sekunder seperti glikosida, flavonoid, saponin, terpenoid, senyawa fenol, oxepin, asam lemak dan fitosterol. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid yang terdapat pada *Bauhinia purpurea* L. memiliki aktivitas antioksidan yang baik serta bersifat antiproliferasi.

Selain itu, taurin atau 2-aminoethanesulfonic acid memiliki fungsi untuk melindungi sel-sel dari radikal bebas. Selain itu, taurin juga dapat menghambat proliferasi tumor melalui beberapa mekanisme seperti meningkatkan antioksidan tubuh, meningkatkan imun, serta menurunkan toksisitas obat kemoterapi. Beberapa penelitian juga telah menunjukkan bahwa taurin dapat menginduksi apoptosis sel kanker.

Untuk itu, perlu dilakukan penelitian mengenai potensi antikanker dari ekstrak etanol daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan taurin terhadap mencit yang diinduksi benzo(α)piren agar dapat mengurangi penggunaan obat berbahan kimia.

F. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan pemberian kombinasi taurin dengan ekstrak daun bunga kupu-kupu dapat melindungi sel-sel darah serta otak mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi benzo(α)piren.

II. TINJAUAN PUSTAKA

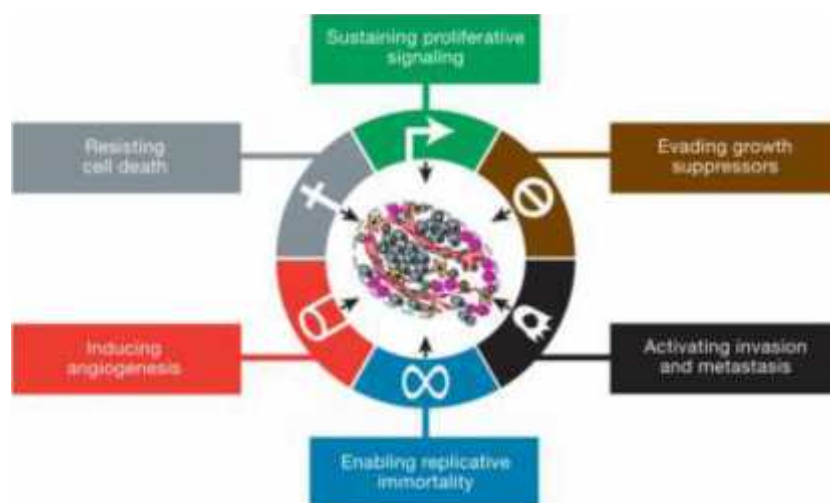
A. Kanker

Penyakit kanker menurut Akmal dkk. (2010), merupakan suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tumbuh sangat cepat dan tidak terkendali. Ada tiga ciri utama keberadaan sel kanker dalam tubuh, yaitu kontrol pertumbuhan yang menurun, invasi ke bagian setempat dan penyebaran ke bagian tubuh lainnya (Murray dan Granner, 2009). Sel-sel kanker yang telah menyebar ke bagian tubuh lain dalam perkembangannya dapat menyebabkan kematian (Yayasan Kanker Indonesia, 2008).

Kanker merupakan suatu istilah untuk menggambarkan bentuk yang lebih ganas dari neoplasia, yaitu suatu proses penyakit yang memiliki karakteristik proliferasi yang tidak terkontrol hingga menyebabkan terbentuknya suatu massa atau tumor. Suatu neoplasia akan berubah menjadi kanker apabila bersifat maligna, artinya pertumbuhannya terjadi secara abnormal dan tumor tumbuh langsung di jaringan didekatnya (invasi), menyebar (metastase) ke tempat yang lebih jauh, atau keduanya. Sementara neoplasia merupakan akumulasi abnormal dari sel-sel yang terjadi karena ketidakseimbangan antara pembelahan sel dan atrisi sel (Nussbaum dkk., 2001).

Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali disebabkan kerusakan *deoxyribose nucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel (Sunaryati, 2011). Mutasi tersebut juga dapat terjadi pada gen-gen pengatur pertumbuhan, seperti gen p53 dan ras. Proses menuju terjadinya kanker atau proses karsinogen umumnya berjalan lama dan melibatkan perubahan genetik lanjut, perubahan ekspresi gen yang mempengaruhi sifat pertumbuhan sel. Proses tersebut dibagi menjadi dua fase yaitu fase inisiasi, fase yang menyebabkan mutasi awal dan fase post inisiasi yang terdiri dari tahap promosi dan progresi (Hanan dan Weinberg, 2011).

Sel kanker memiliki enam karakter khusus yang membedakannya dengan sel normal (Hanan dan Weinberg, 2011) yang ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Enam karakterisasi sel kanker (Hanan dan Weinberg, 2011)

1. Kanker mempunyai *growth factors* dan *factor receptor* sendiri sehingga mampu menjaga sinyal untuk terus-menerus melakukan proliferasi, sementara sel normal membutuhkan sinyal eksternal untuk proliferasi dan pertumbuhan.

2. Sel normal merespon sinyal penghambatan pertumbuhan, sementara sel kanker mampu menghindari faktor inhibisi pertumbuhan. Hal ini disebabkan karena adanya mutasi proto-onkogen menjadi onkogen
3. Sel kanker dapat berpindah dari lokasi utama ke lokasi lainnya, perpindahan ini merupakan faktor utama penyebab terjadinya kematian, sementara sel normal memiliki kepatuhan untuk tidak berpindah ke lokasi lain.
4. Sel kanker memiliki kemampuan untuk melakukan replikasi sel yang tidak terbatas karena sel kanker memiliki mekanisme tertentu untuk menjaga telomer tetap panjang, sehingga memungkinkan untuk tetap membelah diri.
5. Sel kanker mampu melakukan angiogenesis. Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru di daerah sekitar jaringan kanker yang berfungsi agar sel kanker dapat menjalar ke bagian lain dari tubuh.
6. Sel kanker tidak merespon sinyal apoptosis, hal ini disebabkan karena mutasi pada gen-gen regulator dan gen-gen sinyal apoptosis.

Terdapat tiga jenis kanker menurut Nussbaum dkk., (2001), yaitu :

1. Sarcoma, dimana tumor berasal dari jaringan mesenkim, seperti tulang, otot atau jaringan ikat.
2. Carcinoma, yang berasal dari jaringan epitel, seperti sel-sel yang melapisi bagian dalam usus, atau bronchi.
3. Keganasan pada limfoid (kelenjar getah bening) dan hematopoietic, seperti leukemia dan limfoma yang menyebar melalui sumsum tulang, sistem limfatik dan pembuluh darah tepi.

B. Otak

1. Anatomi dan Fisiologi Otak

Otak merupakan organ vital yang terdiri dari 100-200 milyar sel aktif yang saling berhubungan dan bertanggung jawab atas fungsi mental dan intelektual. Rata-rata otak manusia dewasa terdiri dari 2% berat badan tubuh, dengan kisaran 1,2-1,4 kg. Otak terdiri dari serebrum, serebelum, dan batang otak yang dibentuk oleh mesensefalon, pons, dan medulla oblongata (Moore dan Argur, 2007).

Otak terdiri atas bagian-bagian seperti berikut :

1. Cerebrum

Menurut Ganong (2013), cerebrum adalah otak yang terbesar yang terdiri dari sepasang hemisfer kanan dan kiri dan tersusun dari korteks. Korteks ditandai dengan sulkus (celah) dan girus. Cerebrum dibagi menjadi beberapa lobus, yaitu lobus frontalis berfungsi sebagai pusat fungsi intelektual yang lebih tinggi, lobus oksipitalis berfungsi sebagai pusat penglihatan dan area asosiasi penglihatan, lobus temporalis berfungsi sebagai pengatur daya ingat verbal, visual, pendengaran dan perkembangan emosi, dan lobus parietalis berfungsi sebagai daerah pusat kesadaran.

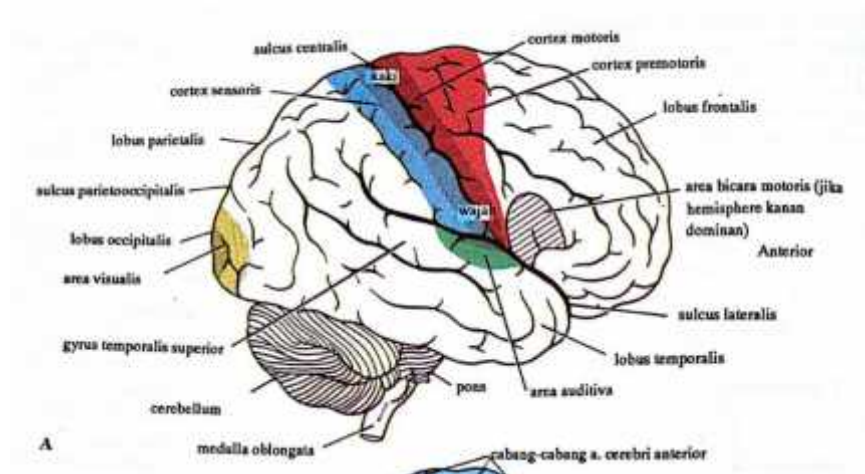
2. Cerebellum

Cerebellum mengandung lebih banyak neuron dibandingkan otak secara keseluruhan. Cerebellum merupakan pusat koordinasi untuk keseimbangan dan tonus otot. Bagian-bagian dari cerebellum adalah

lobus anterior, lobus medialis, dan lobus fluccolonodularis (Purves, 2004).

3. Batang otak

Batang otak berada di dalam tulang tengkorak dan memanjang sampai medulla spinalis. Batang otak bertugas untuk mengontrol tekanan darah, denyut jantung, pernafasan, kesadaran, serta pola makan dan tidur. Menurut Moore dan Argur (2007) batang otak terdiri dari tiga bagian yaitu mesesenfalon, pons dan medulla oblongata.



Gambar 2. Susunan saraf pusat serta pembagiannya (Snell, 2012)

2. Histologi Otak

Mescher (2011), menyatakan bahwa Sistem saraf pusat (SSP) merupakan organ yang seperti gel dan relatif lunak karena hampir tidak memiliki jaringan ikat. Pada cerebrum, cerebellum, dan medulla spinalis memperlihatkan substansia alba (daerah putih) dan substansia grisea

(daerah kelabu). Perbedaan antara substansia alba dan grisea adalah distribusi mielin.

Sel yang terdapat pada SSP yaitu sel neuron dan sel penyokong atau sel glia. Sel neuron memiliki tiga karakteristik, yaitu badan sel, akson, dan dendrit. Sementara sel penyokong atau glia memiliki enam jenis sel, yaitu oligodendrosit, astrosit, sel ependim, mikroglia, sel schwann dan sel satelit ganglia (Mescher, 2011).

Pada korteks (substansia grisea) dapat ditemukan sel neuron, oligodendrosit, astrosit, mikroglia, serta sabut saraf tanpa mielin sedangkan pada medulla atau substansia alba dapat ditemukan sel glia dan sabut saraf bermielin. Substansia alba memiliki komponen utama berupa akson bermielin dan oligodendrosit. Pada substansia alba, tidak ditemukan badan sel neuron namun terdapat mikroglia. Substansia grisea terletak di permukaan cortex cerebri dan cerebellum sedangkan substansia alba letaknya lebih ke pusat. Cortex cerebelli memiliki 3 lapisan, yaitu lapisan molekuler, ganglioner, dan granuler (Mescher, 2011).

C. Tumor Otak

Tumor otak merupakan sekumpulan sel yang normal atau abnormal yang tumbuh tidak terkontrol sehingga membentuk massa atau tumor. Pertumbuhan sel yang tidak diperlukan secara berlebihan menyebabkan kerusakan pada sel-sel lain di otak dan dapat mengganggu fungsi otak (Cook dan Freedman, 2012).

Tumor otak ini dapat berupa tumor yang sifatnya primer ataupun yang merupakan metastasis dari tumor pada organ lainnya (Wahjoepramono, 2006).

Menurut Kumar dkk., (2007), neoplasma Sistem Saraf Pusat (SSP) berasal dari dalam otak, medulla spinalis, atau meningen, serta tumor yang merupakan metastasis dari tempat lain. Neoplasma SSP primer sedikit berbeda dengan neoplasma yang timbul di tempat lain, walaupun secara histologis jinak, mungkin akan bersifat ganas karena letaknya berdekatan atau di sekitar struktur vital dalam rongga tertutup.

Giensberg (2011), menyatakan bahwa tumor otak intrakranial dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

1. Tumor otak *benign*, tumor ini tumbuh dari meningen, saraf kranialis, atau struktur lain dan menyebabkan kompresi ekstrinsik pada substansi otak (ekstra-aksial). Meskipun terjadi secara ekstra-aksial tumor ini dapat mengancam nyawa karena efek yang ditimbulkan.
2. Tumor *maligna* yaitu tumor berasal dari parenkim otak (intra-aksial). Tumor *maligna* dibagi menjadi tumor *maligna* primer umumnya berasal dari sel glia dan tumor otak *maligna* sekunder merupakan metastasis dari tumor *maligna* di bagian tubuh lain.

Jenis patologi tumor otak primer adalah sebagai berikut:

a. Tumor Neuroglia Primer (Glioma)

Tumor jenis ini pada orang dewasa berada di supratentorial dan berasal dari korteks dan hemisfer otak, sedangkan pada anak-anak 70% terletak di infratentorial yang berasal dari cerebellum, batang otak, dan

mesensefalon. Tumor ini merupakan tumor otak primer paling banyak dijumpai (50%) (Satria, 2011).

b. Neoplasma Neuron

Neoplasma neuron terbagi atas tumor sel ganglion yang merupakan tumor neuroepitel yang berdiferensiasi baik dan tumbuh perlahan-lahan. Selain itu terdapat Tumor Neuroepitel Disembrioplastik (DNT) yang merupakan tumor jinak (Louis dkk., 2007).

c. Neoplasma Intraparenkim Primer

Tumor ini terdiri atas Limfoma Sistem Saraf Pusat (SSP) yang biasanya berupa tumor sel Limfosit B yang secara mikroskopis mirip dengan neoplasma non-Hodgkin dengan predominansi sel besar dan lesi agresif dengan pola pertumbuhan angiosentrik (Kumar dkk., 2007).

Kemudian, Neoplasma Sel Germinativum yang terdiri atas sel besar dengan batas jelas, sitoplasma jernih kaya glikogen dan nukleus bulat dengan nukleolus yang jelas.

d. Meningioma

Meningioma biasanya melekat pada bagian dalam permukaan duramater. Tumor ini berkaitan dengan hilangnya sebagian atau seluruh kromosom 22 yang menyebabkan delesi gen NF2 (Louis dkk., 2007).

D. Darah

1. Biologi Darah

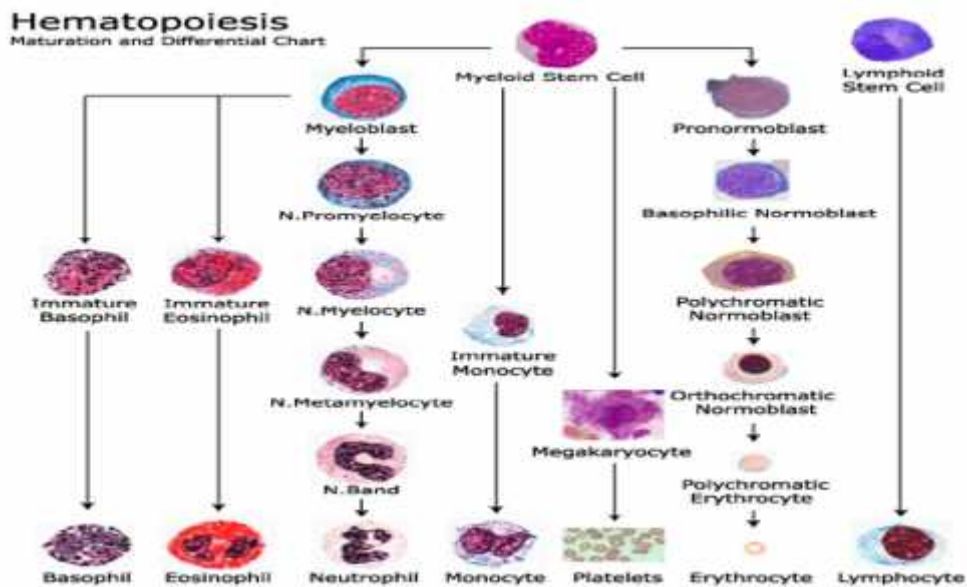
Darah adalah jaringan cair yang terdiri atas plasma darah dan sel darah. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Darah terdiri atas sekitar 55% plasma darah dan sisanya 45% sel darah (Pearce, 2006). Secara umum fungsi darah dalam sistem sirkulasi adalah sebagai alat transportasi (O_2 , karbondioksida, zat gizi, dan sisa metabolisme), pemeliharaan keseimbangan asam basa, pengatur cairan jaringan dan cairan ekstra sel, pengatur suhu tubuh dan sebagai pertahanan tubuh dengan mengedarkan antibodi dan sel darah putih (Goorha dkk., 2003).

Sel-sel darah mempunyai usia tertentu sehingga ketika pada sumsum tulang terjadi pendarahan atau penghancuran maka akan berlangsung proses pembentukan sel-sel darah baru yang disebut *hematopoiesis*.

Setelah dewasa, darah yang terbentuk dari sumsum tulang bermigrasi ke darah perifer. Terdapat 2 stem sel yang berperan dalam

pembentukan sel darah yaitu stem sel mieloid dan stem sel limfoid.

Stem sel limfoid menghasilkan sel limfosit. Stem sel mieloid memiliki enam garis keturunan yang berbeda yaitu eritrosit, trombosit, neutrofil, eosonofil, basofil, dan monosit/makrofag. (Wellman, 2010).



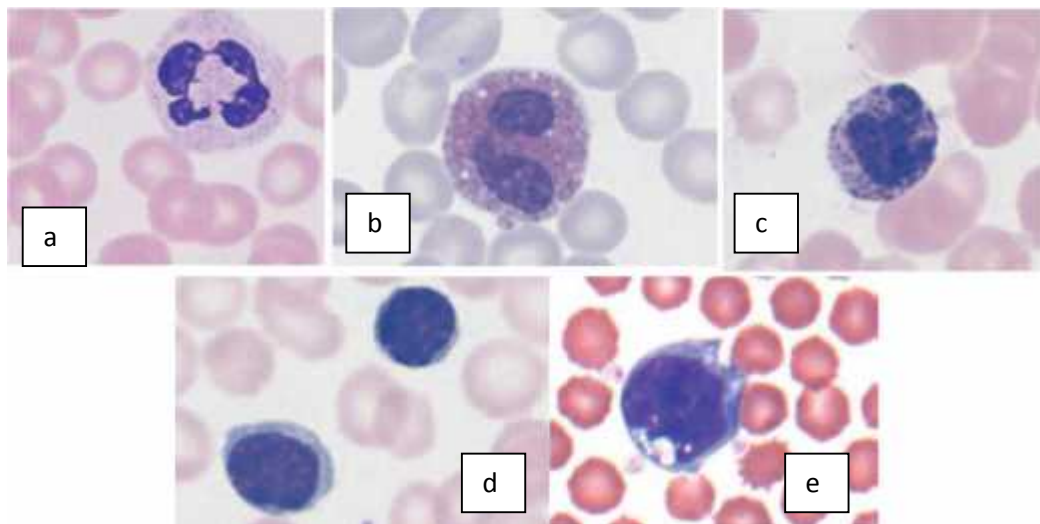
Gambar 3. Skema *hematopoiesis* (Themi dkk., 2004)

2. Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah putih (leukosit) adalah sel darah yang mengandung inti, tidak berwarna, bersifat ameboid, dan dapat menembus dinding kapiler.

Satu liter darah manusia dewasa yang sehat mengandung sel leukosit normal sebanyak 4×10^9 hingga 11 atau sekitar 7000 - 25000 sel per tetes. Secara mikroskopis sitoplasma leukosit mempunyai granulosit, yang dalam keadaan hidup berupa tetesan setengah cair, dan mempunyai bentuk inti yang bervariasi. Sementara yang tidak mempunyai granula sitoplasmanya homogen dengan inti berbentuk bulat atau bentuk ginjal. Granula dianggap spesifik bila secara tetap terdapat dalam jenis leukosit tertentu (Harahap, 2008 ; Effendi, 2003).

Menurut Effendi (2003), leukosit bertanggungjawab dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Ada enam macam leukosit yang secara normal ditemukan dalam darah yaitu neutrofil polimorfonuklear, eosinofil polimorfonuklear, basofil polimorfonuklear, monosit, limfosit dan kadang-kadang sel plasma. Granulosit dan monosit berfungsi melindungi tubuh terhadap organisme atau zat asing yang menyerang dengan cara fagositosis. Fungsi utama sel limfosit dan sel-sel plasma berhubungan dengan sistem imun dalam tubuh. Struktur macam leukosit dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diferensiasi leukosit pada Mencit (*Mus musculus* L)
 a. Neutrofil b. Eosinofil c. Basofil d. Limfosit mencit (Perbesaran 100x) (Themi dkk, 2004) e. Monosit mencit (Perbesaran 100x) (Weiss dan Wardrop, 2010)

3. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Sel darah merah (eritrosit) pada mamalia tidak berinti atau tidak memiliki nukleus, berbentuk oval dan bikonkaf. Weiss dan Wardrop

(2010), menyatakan bahwa eritrosit mencit mempunyai ketebalan sel 2,1-2,13 μm dan diameter rata-rata 6,2 μm atau sekitar 5,7-7 μm . Eritrosit mencit sendiri memiliki waktu hidup sekitar 43 hari. Eritrosit terdiri sekitar 20% air, 40% protein, 35% lemak, dan 6% karbohidrat. Fungsi eritrosit adalah untuk transportasi HbO_2 yang berisi oksigen ke dalam jaringan. Jumlah eritrosit (RBC) digunakan untuk diagnosa mengenai penyebab penyakit anemia (Thrall, 2004). Struktur eritrosit dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bentuk sel darah merah manusia (Sunariah, 2008)

E. Kanker Darah (Leukemia)

Leukemia merupakan penyakit keganasan pada jaringan *hematopoetik* yang ditandai dengan penggantian elemen sumsum tulang normal dengan sel darah abnormal (*Neoplastik*) (Rendra dkk, 2013). Pada leukemia, leukosit tidak merespon tanda atau signal yang diberikan sehingga berakibat pada produksi berlebihan secara abnormal yang mengakibatkan

leukosit akan keluar dari sumsum tulang dan dapat ditemukan di dalam darah tepi (darah perifer). Jumlah leukosit yang tidak normal dapat mengganggu fungsi normal sel lainnya, sehingga menyebabkan terganggunya fungsi sel (Yuliangga, 2008).

Perjalanan alamiah penyakit leukemia dibagi menjadi perjalanan akut dan kronis. Smeltzer dkk (2008) menyatakan bahwa Leukemia Limfoblastik Akut (LLA) adalah proliferasi maligna/ganas limfoblast dalam sumsum tulang yang disebabkan oleh sel inti tunggal yang dapat bersifat sistemik. Leukemia akut dapat berakibat kematian dalam hitungan minggu bahkan hari. Sedangkan leukemia kronis memiliki perjalanan penyakit yang tidak begitu cepat sehingga memiliki harapan hidup yang lebih lama, yaitu lebih dari 1 tahun bahkan mencapai 5 tahun (Yuliangga, 2008).

Berdasarkan jenis sel *blast* yang ditemukan leukemia akut dikelompokkan menjadi *acute myelogenous leukemia* dan *acute lymphoblastic leukemia*.

1. *Acute Myelogenous Leukemia* (leukemia mielositik) yaitu ketika leukemia mempengaruhi sel mieloid seperti neutrofil, basofil dan eosinofil.
2. *Acute Lymphoblastic Leukemia* (leukemia limfositik) yaitu ketika leukemia memengaruhi limfosit atau sel limfoid (Yuliangga, 2008).

Berdasarkan jumlah leukosit dalam darah, leukemia dibagi menjadi leukemia leukemik, leukemia subleukemik dan leukemia leukemik (Yuliangga, 2008).

1. Leukemia leukemik terjadi apabila leukosit di dalam darah jumlahnya melebihi jumlah normal serta terdapat sel-sel abnormal.
2. Leukemia subleukemik terjadi apabila leukosit di dalam darah jumlahnya kurang dari jumlah normal serta terdapat sel-sel abnormal.
3. Leukemia aleukemik terjadi apabila jumlah leukosit di dalam darah jumlahnya kurang dari jumlah normal serta tidak terdapat sel-sel abnormal.

Diagnosa terhadap penyakit leukemia dapat diamati dari beberapa perubahan. Hal yang dapat memicu terjadinya leukemia adalah kenaikan jumlah sel darah merah yang sangat tinggi yaitu 3-4 kali nilai normal, sehingga harus diwaspadai sebagai tanda adanya pertumbuhan ke arah keganasan. Jumlah leukosit yang kurang dari 4.000 sel/mm^3 disebut leukopenia, sedangkan jumlah leukosit yang lebih dari 11.000 sel/mm^3 disebut leukositosis. Proliferasi sel-sel leukemia dapat ditandai dengan adanya keluhan seperti pembesaran limpa, atau keluhan lain yang tidak bersifat spesifik, seperti cepat lelah, badan lemah, demam yang tidak terlalu tinggi, keringat malam, dan penurunan berat badan (Playfair and Chain, 2001 ; Aryanto, 2014).

F. Biologi Tumbuhan Bunga Kupu-Kupu (*Bauhinia purpurea* L.)

Bauhinia purpurea L. atau dikenal sebagai *Orchid Tree* atau *Orchid-purple* atau anggrek ungu merupakan pohon berbunga, dan memiliki ciri khas pada daun yang berbentuk seperti kupu – kupu (Tina, 2011).

1. Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan daun bunga kupu-kupu adalah sebagai berikut

(Cronquist, 1981 ; APG II, 2003):

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Fabales
Suku	: Fabaceae
Marga	: <i>Bauhinia</i>
Jenis	: <i>Bauhinia purpurea</i> L.

2. Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan ini memiliki banyak variasi nama pada beberapa daerah di India, seperti kota, rak takanchan, khairwal, karar, kanchan dan biasanya dalam bahasa Inggris disebut dengan *orchid tree*.

Masyarakat Malaysia menyebut tumbuhan ini adalah tapak kuda, sementara di Indonesia tumbuhan ini disebut sebagai tumbuhan bunga kupu-kupu. Tumbuhan berbunga ini tumbuh sebagai tumbuhan peneduh pada pekarangan rumah. Tumbuhan ini berukuran kecil sampai sedang dan dapat tumbuh hingga mencapai 17 m. Kulit kayunya berwarna gelap dan daunnya memiliki panjang 1,5- 15 cm (Kumar dan Chandrashekar, 2011).



(A)

(B)

Gambar 6. (A) Perawakan dan (B) Morfologi Daun dan Bunga Kupu-Kupu

3. Kandungan Kimia dan Farmakologi Tumbuhan Daun Bunga Kupu-Kupu

Bauhinia purpurea L memiliki kandungan utama senyawa metabolit sekunder seperti glikosida, flavonoid, saponin terpenoid, senyawa fenol, oxepin, asam lemak dan fitosterol (Pettit dkk, 2006). Tanaman ini dikenal memiliki sifat sebagai antibakteri, antidiabetes, antijamur, analgesik, anti-inflamasi, anti-diare, antikanker dan *nephroprotective* (Kumar dan Chandrashekar, 2011).

Tumbuhan *Bauhinia purpurea* L. adalah salah satu spesies yang digunakan dalam beberapa sistem pengobatan tradisional untuk menyembuhkan penyakit (Kumar dan Chandrashekar, 2011).

Tumbuhan bunga kupu-kupu oleh masyarakat etnis Dayak Meratus di Kalimantan Selatan dan masyarakat Polahi di Kabupaten Gorontalo digunakan sebagai obat tradisional seperti obat sakit perut, pembengkakan paha dan kejang. Bagian tumbuhan yang digunakan yaitu daun dan batang tanaman bunga kupu – kupu (*Bauhinia purpurea* L.) lalu direbus, kemudian air rebusannya diminum.

Daun *Bauhinia purpurea* L. banyak digunakan dalam pengobatan luka (Chopda dan Mahajan, 2009). Studi *in vitro* menunjukkan bahwa daun *Bauhinia purpurea* L. memiliki fungsi antiproliferasi (Zakaria dkk., 2011), antioksidan (Annegowda dkk., 2012; Zakaria dkk., 2011) dan aktivitas antimikroba (Negi dkk, 2012, Annegowda dkk., 2012).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Krishnaveni (2014), ekstrak daun *Bauhinia purpurea* L. terbukti menjadi antioksidan yang baik. Daun *Bauhinia purpurea* L. memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, flavonoid berfungsi melindungi dari tekanan abiotik seperti sinar UV dan serangan patogen. Flavonoid telah disebut sebagai "pengubah respons biologis alam" karena bukti eksperimental menunjukkan kemampuan untuk memodifikasi reaksi tubuh terhadap alergen, virus dan karsinogen.

Penelitian Zakaria dkk. (2011), menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak air, kloroform dan metanol daun *Bauhinia purpurea* L. memiliki sifat antiproliferatif dan antioksidan. Ekstrak air dan kloroform efektif melawan sel kanker yaitu MCF-7, MDA-MB 231 dan Caov-3, serta sangat efektif melawan sel kanker CEMss dan HeLa. Ekstrak metanol sangat efektif melawan sel kanker HL-60.

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

Mencit laboratorium merupakan turunan dari mencit liar yang telah mengalami domestikasi. Mencit dimasukkan ke dalam anak filum vertebrata dan kelas mamalia karena bertulang belakang dan menyusui. Selain itu mencit memiliki kebiasaan mengerat sehingga masuk ke dalam bangsa rodentia, suku muridae, dengan marga *Mus* dan jenis *Mus musculus* L. (Priyambodo, 2003).

Klsifikasi mencit (*Mus musculus* L.) berdasarkan Aringgtton (1972) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: <i>Mus</i>
Jenis	: <i>Mus musculus</i> L.

Menurut Setijono (1985), berat badan mencit bervariasi. Ketika lahir berat badan mencit berkisar antara 2-4 gram, mencit jantan dewasa memiliki berat badan yang berkisar antara 20-40 gram dan mencit betina dewasa memiliki berat badan yang berkisar antara 25-40. Susunan gigi mencit adalah indicisivus $\frac{1}{2}$, caninus 0/0, premolar 0/0, dan molar 3/3. Sebagai hewan pengerat mencit memiliki gigi seri yang kuat dan terbuka.

Mencit memiliki jantung yang terdiri dari empat ruang dengan dinding ventrikel yang lebih tebal dibandingkan dengan dinding atrium. Mencit merupakan hewan nocturnal, yaitu memiliki karakter yang lebih aktif di malam hari. Mencit merupakan jenis yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) hal ini dikarenakan murah dan cepat berkembang biak (Kusumawati, 2004). Morfologi mencit (*Mus musculus* L.) dapat dilihat pada Gambar 7.



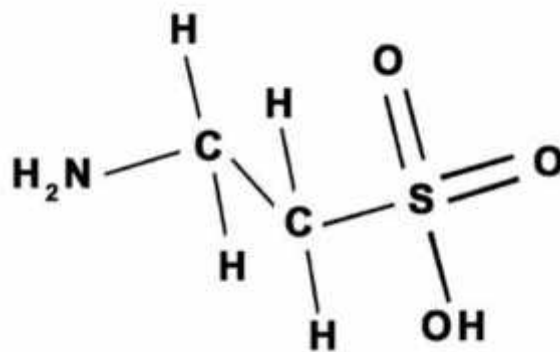
Gambar 7. Mencit yang digunakan dalam penelitian

H. Taurin

Taurin merupakan asam amino bebas berkonsentrasi tertinggi dan banyak ditemui dalam berbagai jenis sel pada manusia (Stapleton dkk,1998).

Taurin atau *2-aminoethanesulfonic acid*, merupakan senyawa yang diproduksi secara alami dalam tubuh manusia. Taurin ditemukan dalam kadar tinggi pada otot rangka, jantung, serta dalam sel darah putih dan sistem saraf pusat. Taurin pertama kali ditemukan pada tahun 1827 oleh Tiedemann dan Gmelin pada empedu sapi.

Taurin adalah asam organik yang mengandung belerang (S) dengan gugus amino, yang memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas, mengatur homeostasis kalsium intraseluler, menjaga stabilitas membran sel dan melindungi sel-sel (Huxtable, 1992). Taurin berfungsi sebagai agen antitumor dengan meregulasi ekspresi matriks metaloproteinase-2, mengatur N-acetylgalactosaminyltransferase, dan menghambat invasi potensial dan metastasis yang diinduksi oleh radiasi ionik (Neary dkk, 2010). Struktur taurin dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Turin (Asha, 2009)

Taurin dapat menghambat proliferasi tumor melalui beberapa mekanisme, yaitu:

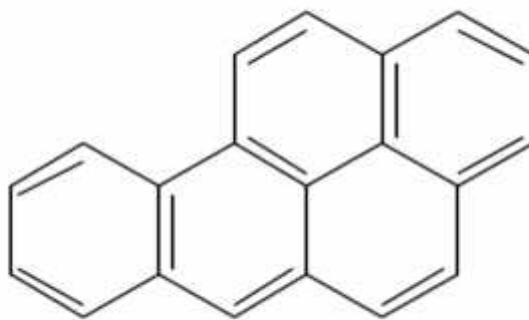
1. Taurin mampu meningkatkan antioksidan dalam tubuh, yang selanjutnya melindungi sel-sel normal dari kerusakan oksidatif dan menginduksi apoptosis sel tumor (Yu dan Kim, 2010; Das dkk, 2011; Mates dkk, 2011).
2. Taurin dapat menghambat proliferasi tumor dengan meningkatkan imunitas. Abd-Rabou dkk. (2012), menemukan bahwa taurin yang dikombinasikan dengan kurkumin dapat meningkatkan kekebalan tubuh pada suatu organisme, yang kemudian dapat menghambat sel karsinoma.
3. Taurin mampu menggunakan fungsi antitumornya dengan menurunkan toksisitas obat kemoterapi (Zhang dkk, 2014).

Sintesis taurin pada mamalia terjadi dalam pankreas melalui jalur asam sistein sulfinik (Burhan, 2004). Penambahan sejumlah taurin ke air minum telah terbukti dapat memperpanjang rata-rata umur tikus yang telah ditransplantasikan tumor, dengan tingkat penghambatan pertumbuhan tumor mencapai 42,26% (Yu, 2010). Taurin terbukti dapat menginduksi apoptosis sel kanker pada usus manusia dengan mengatur apoptosis gen p53 (Zhang dkk, 2014). Pemberian taurin terbukti memiliki efek penghambatan yang signifikan terhadap proliferasi sel dan menginduksi apoptosis pada sel HHG2 HHCC (Shuo tu dkk, 2015).

I. Benzo(α)piren

Benzo(α)piren adalah anggota senyawa Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (HAP) bercincin lima. Senyawa ini merupakan produk dari pembakaran tidak sempurna dan pada suhu tinggi (300 °C dan 600 °C). Benzo(α)piren termasuk ke dalam kelompok senyawa organik yang bersifat mutagenik dan karsinogenik (Ramalhosa dkk, 2009 ; Mugianton, 2010).

Benzo(α)piren memiliki rumus kimia $C_{20}H_{12}$, dalam keadaan murni senyawa ini berbentuk kristal berwarna kuning dengan berat molekul 252,3 g/mol, serta titik lebur 181,1°C dan titik leleh 495°C (IARC, 1983 ; Aldrich, 1996). Benzo(α)piren di lingkungan dapat ditemukan sebagai hasil proses pembakaran yang tidak sempurna seperti pada daging panggang, sate, makanan yang diasap, asap rokok dan asap kendaraan (Nebert *et al*, 2013). Benzo(α)piren memiliki struktur sebagai berikut Gambar 9.



Gambar 9. Struktur Benzo(α)piren (Mugianton, 2010)

Struktur molekul benzo(α)piren menyerupai basa nukleat sehingga dapat dengan mudah menyisipkan diri ke DNA yang menyebabkan terganggunya fungsi DNA dan apabila kerusakan ini tidak dapat diperbaiki di dalam sel maka akan menimbulkan penyakit kanker. Ikatan kimia yang terjadi antara benzo(α)piren dengan DNA akan mengganggu proses replikasi DNA dan mempengaruhi jaringan saat pembelahan sel. Secara *in vivo*, benzo(α)piren terbukti dapat menyebabkan tumor pada hewan percobaan, baik melalui makanan, pernafasan ataupun kontak langsung dengan permukaan kulit. Induksi benzo(α)piren dapat menyebabkan tumor pada hewan uji melalui rute pemberian intravena, subkutan, intraperitoneal, intraplumonary dan transplasental (Elisabeth dkk, 2000).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 sampai bulan Januari 2018. Pemeliharaan hewan uji, penginduksian zat karsinogen benzo(α)piren, pemberian taurin dan ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) serta pembedahan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Proses mikroteknik dan pengamatan histopatologi otak dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Penghitungan jumlah leukosit dan eritrosit dilakukan di Laboratorium Biomolekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, 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, pakan mencit, air minum, taurin, benzo(α)piren, minyak jagung, daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.), etanol 96% digunakan untuk ekstraksi daun bunga kupu-kupu, bahan pembuatan preparat mikroteknik (xylol, alkohol bertingkat, parafin, larutan pewarnaan *Harris Hematoxylin*

Eosin, dan kanada balsam). Bahan untuk penghitungan sel-sel darah yaitu larutan Hayem (NaCl 1g + NaSO₄ 5 g + HgCl 20,5 g + aquadest 200 mL), larutan trunk (asam asetat 13 mL + gentiana violet 21 mL + aquadest 100 mL) , Giemsa dan garam fisiologis (NaCl 0,9%).

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), neraca analitik untuk menimbang bahan dan mengukur berat badan mencit, jarum suntik untuk menginduksi zat karsinogen yaitu benzo(α)piren, sonde lambung untuk mencekikkan taurin dan ekstrak daun bunga kupu-kupu, *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), gelas benda, gelas penutup, mikroskop, tabung EDTA, haemositometer untuk menghitung sel darah dan kamera untuk dokumentasi.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Jumlah ulangan dilakukan berdasarkan rumus Frederer (1983) yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan.

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

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

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan rumus Federer jumlah sampel yang akan digunakan pada tiap kelompok adalah 6 ekor mencit jantan dan dikalikan dengan 4 sehingga jumlah mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor.

Kelompok tersebut yaitu sebagai berikut :

1. Kelompok 1 (K1) : Kelompok yang diberi pakan standar hingga akhir penelitian.
2. Kelompok 2 (K2) : Kelompok yang diinduksi benzo(α)piren selama 10 hari tanpa pemberian bahan uji.
3. Kelompok 3 (K3) : Kelompok yang diinduksi benzo(α)piren selama 10 hari, kemudian dilanjutkan pemberian ekstrak daun bunga kupu-kupu dengan dosis 22,4 mg/bb selama 15 hari.
4. Kelompok 4 (K4) : Kelompok yang diinduksi benzo(α)piren selama 10 hari, kemudian dilanjutkan pemberian taurin dosis 15,6 mg/bb/hari yang dikombinasikan dengan ekstrak daun bunga kupu-kupu dosis 22,4 mg/bb selama 15 hari.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 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 secara individu pada bak berbahan plastik berukuran 20x30 cm dengan penutup berbahan kawat yang dilengkapi wadah pakan, dan wadah air minum. Mencit di aklimasi selama 10 hari dengan diberi pakan secara teratur. Aklimasi ini dilakukan dengan tujuan agar mencit terbiasa dengan tempat tinggal yang baru dan tidak mengalami stres.

2. Persiapan Bahan Uji

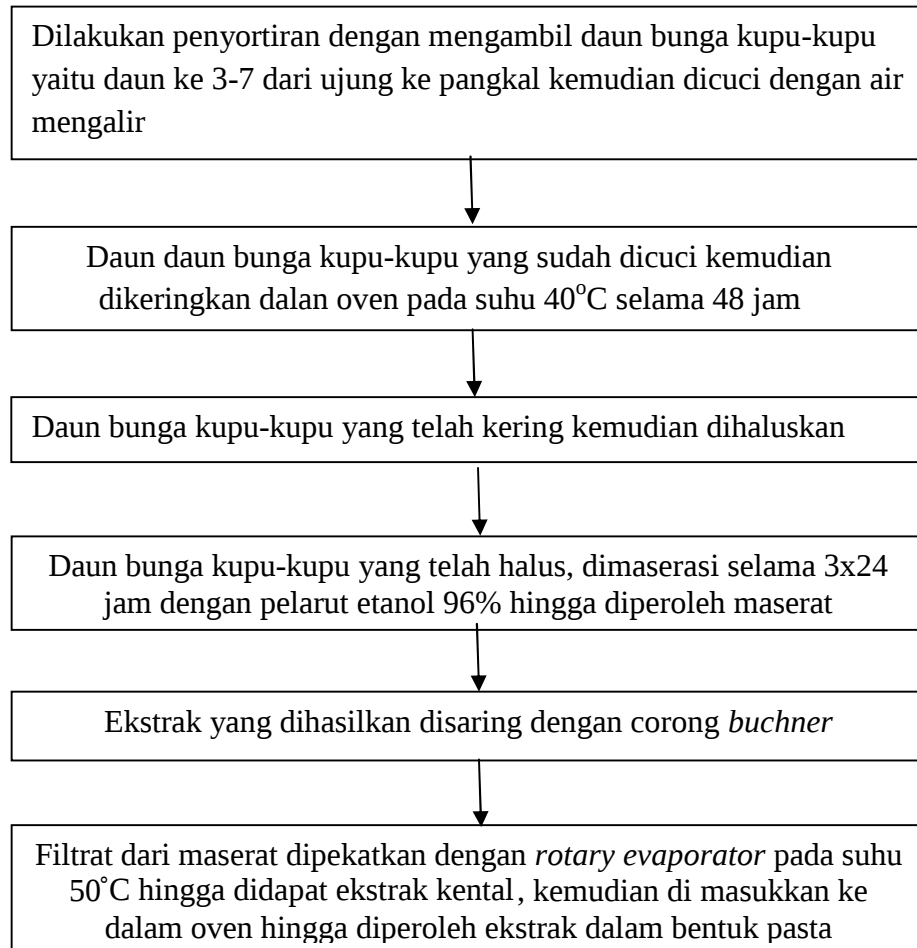
Bahan uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah taurin dan ekstrak daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.).

2.1. Persiapan Taurin

Menurut Shao dan Hathcock (2008), dosis normal pemberian taurin yang diberikan kepada manusia adalah sebesar 3 g/70 kg berat badan. Tabel konversi menunjukkan bahwa nilai konversi dari manusia ke mencit yaitu 0,0026 (Nugraha, 2011). Perhitungan berdasarkan hasil konversi dosis normal taurin yang diberikan kepada mencit yaitu $3000 \text{ mg} \times 0,0026 = 7,8 \text{ mg/bb/hari}$.

2.2. Persiapan Ekstrak Daun Bunga Kupu-kupu

Tahapan ekstraksi daun bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)
adalah sebagai berikut :



Gambar 10. Tahapan ekstraksi daun bunga kupu-kupu

3. Induksi Zat Kasinogenik Benzo(α)piren terhadap Hewan Uji

Benzo(α)piren yang digunakan sebanyak 0,3 mg kemudian dilarutkan dalam 0,2 ml minyak jagung (*corn oil*). Induksi benzo(α)piren dilakukan dengan cara menyuntikkannya pada jaringan subkutan mencit di bagian tengkuk. Semua kelompok perlakuan kecuali kontrol negatif (K1) diinduksi dengan benzo(α)piren selama 10 hari kemudian dilanjutkan

dengan pemberian zat uji berupa ekstrak daun bunga kupu-kupu serta taurin selama 15 hari. Setelah dilakukan induksi benzo(α)piren, ditunggu hingga terlihat munculnya benjolan (nodul) di bagian tengkuk mencit. Munculnya nodul menandakan telah terjadinya kanker. Sel kanker ini akan tumbuh setelah terinduksi zat karsinogen benzo(α)piren antara 9-13 hari (Juliyarsi dan Melia, 2007).

4. Pemberian Bahan Uji Ekstrak Daun Bunga Kupu-Kupu

Dosis ekstrak daun bunga kupu-kupu yang diberikan secara oral dengan berat badan 30 – 40 g yaitu 22,4 mg/bb (Shama dan Shastry, 2012).

5. Pemberian Bahan Uji Taurin yang Dikombinasikan dengan Ekstrak Daun Bunga Kupu-kupu

Dosis taurin yang digunakan untuk pengujian dalam penelitian ini yaitu 15,6 mg/bb/hari (dua kali dosis normal) (Agata dkk., 2017).

6. Pengamatan Berat Badan dan Berat Basah Jaringan Otak Mencit

Selama penelitian berlangsung dilakukan pengamatan berat badan mencit pada setiap kelompok. Pengamatan berat badan mencit dibagi menjadi lima yaitu berat badan mencit hari ke 5, 10, 15, 20, dan 25. Pada akhir perlakuan, dilakukan pembedahan, pengambilan serta pengukuran berat basah organ otak dari setiap kelompok.

7. Pembuatan Preparat Histologis Otak Mencit

Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah prosedur *double blinded*. Metode teknik pewarnaan histopatologi dibagi menjadi 10 proses yaitu (Ali, 2007):

1. *Fixation*

Proses dilakukan dengan cara potongan hati dan otak difiksasi dengan larutan buffer formalin 10% kemudian dicuci dengan air mengalir.

2. *Trimming*

Organ dipotong hingga berukuran ± 3 mm. Kemudian organ dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

3. *Dehidrasi*

Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan kandungan air yang berada dalam jaringan. *Embedding cassette* diletakkan pada kertas tisu untuk menuntaskan airnya. Kemudian dilakukan perendaman organ otak dalam alkohol bertingkat 80% dan 90% masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman alkohol 95%, absolute I, II, III selama 1 jam.

4. *Clearing*

Clearing (penjernihan) dilakukan dengan cara organ otak direndam pada xylol I, II, III masing-masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Proses impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin I, II, III masing-masing selama 2 jam.

6. *Embedding*

Parafin dibersihkan dengan memanaskannya beberapa saat di atas api dan diusap dengan menggunakan kapas. Kemudian di masukkan parafin cair ke dalam cangkir logam dan di masukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58° C. Parafin cair kemudian dituangkan ke dalam pan. Satu-persatu dari *embedding cassette* dipindahkan ke dasar pan dengan mengatur jarak satu dengan yang lainnya dan pan dimasukkan ke dalam air. Parafin yang berisi potongan otak dilepaskan dari pan dengan di masukkan ke dalam suhu 4°C beberapa saat. Parafin kemudian di kikis bagian yang tidak terdapat organ dengan menggunakan scalpel. Dilakukan bloking dengan parafin agar memudahkan pemotongan dengan mikrotom.

7. *Cutting*

Sebelum dilakukan pemotongan blok parafin didinginkan terlebih dahulu kemudian dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil potongan diletakkan ke dalam *waterbath* selama beberapa detik agar jaringan mengembang sempurna. Jaringan diambil menggunakan slide. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37 °C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

8. *Staining* (pewarnaan) dengan *Harris Hematoxylin Eosin*.

Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, kemudian jaringan diwarnai dengan cara preparat direndam dalam xylol I, II, III masing-masing selama 5 menit. Preparat direndam dalam alkohol absolut I, II, III masing-masing selama 5 menit. Preparat dicuci dengan aquades

selama 1 menit. Potongan organ dimasukkan dalam zat warna *Harris Hematoxylin Eosin* selama 20 menit. Potongan organ otak dimasukkan dalam aquades selama 1 menit dengan sedikit mengoyang-goyangkan organ. Organ dicelupkan dalam asam alkohol sebanyak 2-3 celupan, kemudian preparat dicuci dalam aquades bertingkat masing-masing 15 menit. Potongan organ dimasukkan dalam eosin selama 2 menit, secara berurutan potongan organ dimasukkan dalam alkohol 96% selama 2 menit, dan alkohol III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam xylol IV dan V masing-masing selama 5 menit.

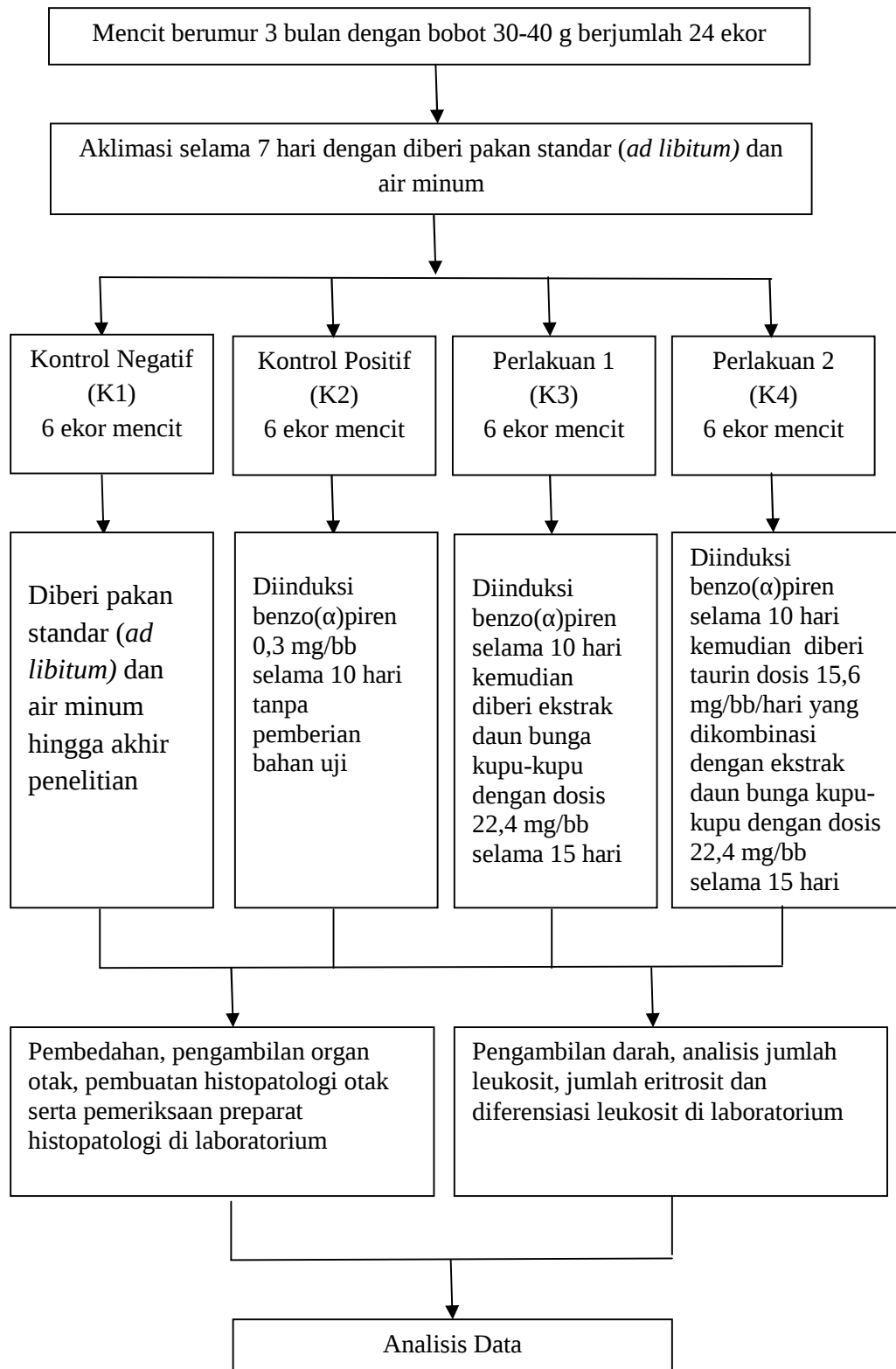
9. *Mounting*

Setelah pewarnaan selesai slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, kemudian ditetesi dengan bahan mounting yaitu kanada balsam dan ditutup dengan gelas penutup, dicegah jangan sampai terbentuk gelembung udara pada preparat.

10. Pengamatan Slide Jaringan

Slide diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

E. Alur Penelitian



Gambar 11. Diagram Alir Penelitian

F. Parameter Uji

Parameter yang diukur dalam penelitian ini antara lain :

a. Rerata berat badan mencit

Pengukuran rerata berat badan mencit dilakukan sebanyak lima kali, yaitu pengukuran berat badan mencit hari ke-5, hari ke-10, hari ke-15, hari ke-20 dan hari ke-25.

b. Rerata berat basah organ otak mencit

Pengamatan berat basah otak mencit dilakukan dengan menimbang organ otak sesaat setelah dilakukan pembedahan.

c. Rerata nilai indeks organ otak mencit

Perhitungan nilai indeks otak mencit dilakukan dengan rumus berikut :

$$\text{Indeks organ} = \frac{\text{Berat Basah Organ (g)}}{\text{Berat Badan Mencit (g)}} \quad (\text{Intan dkk., 2017}).$$

d. Gambaran histologi sel otak mencit

Preparat yang telah dibuat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Penghitungan sel dilakukan dengan metode lima lapang pandang yang diutamakan pada fokus neuron yang mengalami nekrosis. Pada tiap lapang pandang, diamati perubahan apa saja yang terjadi. Sel yang dihitung merupakan seluruh sel neuron dan sel glia yang mengalami nekrosis. Sel yang hidup tidak dimasukkan hitungan lapang pandang. Setelah seluruh lapang pandang diamati, sel-sel yang mengalami nekrosis tersebut dijumlahkan dan dihitung rata-ratanya.

Nilai yang digunakan untuk mengukur kerusakan otak mencit adalah (Theodorus, 2018):

0: tidak ada neuron yang nekrosis

1: terdapat 1-10 neuron yang nekrosis (ringan)

2: terdapat 11-20 neuron yang nekrosis (sedang)

3: terdapat >20 neuron yang nekrosis (berat)

e. Analisis Perhitungan Jumlah Total Sel Darah Putih (Leukosit)

Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan pipet Thoma leukosit. Sampel darah yang telah diberi antikoagulan EDTA dihisap dengan pipet sampai tanda "11" hingga diperoleh pengenceran 1 : 20.

Pipet dibolak-balik selama kurang lebih 3 menit hingga membentuk seperempat lingkaran, lalu 2-3 tetes darah yang pertama dibuang.

Kemudian darah ditetaskan pada pinggir kamar hitung. Kamar hitung dibiarkan satu menit agar eritrosit lisis sehingga leukosit dapat menempati kamar hitung. Perhitungan jumlah leukosit digunakan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 40x pada empat kotak besar dari kamar hitung. Jumlah leukosit tiap mm^3 adalah jumlah sel yang terhitung dikalikan dengan 50 (Tambur, 2006).

f. Analisis Macam Sel Darah Putih (Leukosit)

Sampel darah segar ditetaskan pada gelas obyek dan dibuat preparat apus.

Setelah kering preparat apus difiksasi dengan menggunakan metanol selama 3-5 menit kemudian dikeringanginkan. Selanjutnya preparat

diwarnai dengan menggunakan larutan Giemza dengan pengenceran 1 : 9

selama 30 menit (pada pH buffer fosfat 6,8,7,2). Kemudian preparat dicuci menggunakan aqudest dan ditunggu hingga kering. Setelah kering preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan dihitung setiap jenis leukosit menggunakan *bold counter* tabulator. Sel yang dihitung paling sedikit memiliki 100 sel kemudian dilakukan persentase perhitungan leukosit. Angka yang diperoleh merupakan jumlah relatif masing-masing leukosit dari seluruh jenis leukosit (Tambur, 2006).

g. Analisis Perhitungan Jumlah Total Sel Darah Merah (Eritrosit)

Perhitungan eritrosit menggunakan haemositometer yang terdiri atas dua komponen yaitu kamar hitung (*counting chamber*) dan pipet pengencer. Kamar hitung yang dipakai adalah tipe *improved chamber* dan pipet pengencer Thomas. Larutan Hayem digunakan sebagai larutan fisiologis. Larutan ini terdiri dari NaCl 1 g, NaSO₄ 5 g, HgCl 20,5 g dan aquadest 200 mL. Larutan fisiologis tersebut berfungsi untuk mengencerkan darah sehingga darah dapat dihitung karena harus bersifat isotonis dan fiksatif terhadap eritrosit. Mencit dibius terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengambilan darah melalui bagian aorta setelah terambil darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Tetes darah yang pertama, kemudian tetes darah selanjutnya dihisap dengan menggunakan haemositometer hingga batas 0,5 atau 1. Larutan pengencer dihisap hingga angka 11, suspensi kemudian dikocok hingga homogen (larutan di dalam tabung menjadi berwarna merah). Kamar hitung dan gelas penutup dibersihkan terlebih dahulu, gelas penutup dipasang di atas kamar hitung sedemikian rupa sehingga pada saat dibalik kamar hitung tidak

terjatuh. Tetes pertama suspensi darah dibuang, kemudian tetes selanjutnya diletakkan dipinggir gelas penutup. Dilakukan perhitungan eritrosit pada 5 kotak kecil yang terletak pada kotak besar di tengah.

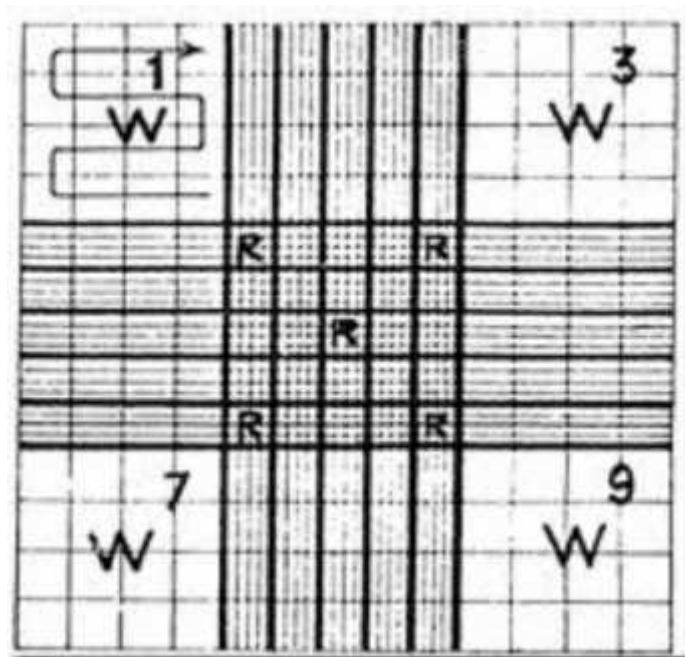
Rumus perhitungan eritrosit adalah sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel darah merah (DM)} = N_e \times p \times 50$$

Keterangan : N_e = Jumlah eritrosit dalam satu kotak menengah

P = pengeceran

Kamar hitung pada perhitungan jumlah leukosit dan eritrosit dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Kamar Hitung Improved Neubaur (Depkes RI, 1989)

Keterangan

W : kotak untuk hitung jumlah leukosit

R : kotak untuk hitung jumlah eritrosit

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dihomogenkan terlebih dahulu menggunakan uji levene.

Kemudian dianalisis menggunakan metode statistik ANOVA (analysis of variance) pada taraf nyata 5% ($p < 0,05$) untuk melihat perbedaan yang nyata antarkelompok perlakuan, 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 maka dapat disimpulkan bahwa pemberian taurin dosis 15,6mg/bb/hari yang dikombinasikan dengan ekstrak daun bunga kupu-kupu dosis 22,4 mg/bb/hari selama 15 hari efektif dalam melindungi leukosit, eritrosit, dan mengurangi kerusakan histopatologi sel otak mencit akibat induksi benzo(α)piren.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai uji immunohistokimia jaringan otak mencit yang diinduksi dengan benzo(α)piren.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Rabou AA, Zoheir KM, dan Ahmed HH. 2012. Potential Impact of Curcumin and Taurine on Human Hepatoma Cells Using Huh-7 Cell Line. *Clin Biochem*. Vol 45:1519–1521.
- Agata, A., E.L. Widiastuti, dan G.N. Susanto. 2017. Respon Histopatologi Hepar Mecit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia*. Vol 16 : 54-63.
- Akmal, M., Zely, I., Widhawati, Sekar, S. 2010. *Ensiklopedi Kesehatan Untuk Umum*. Ar-Ruzz Media. Jogjakarta.
- Aksenova, V. M., dan Michael, Y. A . 2005. Cell Culture Models of Oxidative Stress and Injury in The Central Nervous System. University of South Carolina. USA. *Current Neurovascular*. Vol 2 :73-89
- Aldrich. 1996. *Catalog Handbook of Fine Chemicals*. Aldrich Chemicals Company. Milwaukee. Wisconsin.
- 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.
- Alvarez, X.A., Sampedro, C., Lozano, R., dan Cacabelos, R. 1999. Citicoline Protects Hippocampal Neurons Against Apoptosis Induced by Brain B-amyloid Deposits plus Cerebral Hypoperfusion in Rats. *Meth Find Exp Clin Pharmacol*. Vol (21) 535-40.
- Annegowda H.V., Mordi M.N., Ramanathan S., Hamdan M.R., dan Mansor S.M. 2012. Effect of Extraction Techniques on Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Bauhinia purpurea*: HPTLC Determination of Antioxidants. *Food Analytical Methods*. Vol 5 (2) : 226–233.
- A.P.G. (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141, 399–436 (also available online. at <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APWeb>, Diakses tanggal 13 September 2017, Pukul 13.40 WIB).

- Arrington, L. R. 1972. *Introduction Laboratory Animal Science: The Breeding, Care, and Management Of Experimental Animals*. Danville: The Interstate Printers and Publishers Inc.
- Asha, K.K. 2009. Biochemical Studies on the Protective Effect of Taurine on Experymetally Induced Fulminat Hepatic Failure in Rats. *Tesis*. Cochin University. India.
- Astawan, Made. 2004. *Kiat Menjaga Tubuh Tetap Sehat*. PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri. Solo
- Aryanto. 2014. Gambar sel leukosit abnormal <http://www.obatkankerdarah.info/> Penyakit kanker darah dan obatnya. 14 September 2017.
- Azhari, B., S. Luliana., dan Robiyanto. 2017. Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Air Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada Pemodelan Tikus Jantan Galur Wistar Hiperkolesterolemia. *Trad. Med. Journal*. Vol 22 : 57-62.
- Baratawidjaja Karnen G. 2004. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Burhan, E. 2004. Angka Tahan Hidup Penderita Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil yang Layak Dibedah. (Tesis). Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FKUI. Jakarta.
- Campbell, Neil A. 2004. *Biologi Jilid 3*. Erlangga. Jakarta
- Cook, L.J. and J. Freedman. 2012. *Brain Tumors, Understanding Brain Diseases and Disorders*. The Rosen Publishing. New York. Pp : 9-10.
- Cotran, R.S., Michel, M.D., Ramzi, S., danRichard, N. 2003. Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel. In: Robins Pathologic Basic of Disease. Ed 7. Alih Bahasa: Prasetyo A, Pendit UB, Priliono T. Volume 1. EGC : 3-28. Jakarta.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Das, J., Ghosh, J., Manna, P., dan Sil, P.C. 2011. Taurine Suppresses Doxorubicin-Triggered Oxidative Stress and Cardiac Apoptosis in Rat Via Up-Regulation of PI3-K/Akt and inhibition of p53, p38-JNK. *Biochem Pharmacol*. Vol 81: 891–909.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Hematologi*. Bandung.
- Donatus, I.A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.

- Effendi, Z. 2003. *Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatra Utara. Medan.
- 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.
- Evans, W.J. 2000. Vitamin E, Vitamin C, and Exercise. *Am J Clin Nature*. No 72: 647-52.
- Ganong, W. F. 2013. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Ganong, W. F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Garman, R. 2011. Histology of the Central Nervous System. *Society of Toxicology Pathology Journal*.
- Gershwin, M.E., German, J.B., dan Keen, C.L., 2000. *Nutrition and Immunology Principles and Practice*. Human Press.
- Gibson, F., and Soanes, L. 2008. *Cancer in Children and Young People*. JohnWiley & Sons, Ltd.
- Goorha, Y. K., M.P.Deb., L.C.T. Chatterjee, C.P.S.Dhot., B.R.S. Prasad. 2003. Artificial Blood. *Medical Journal Armed Forces India* 59 : 45-50.
- Giensberg L. 2008. *Lecture Notes : Neurology*. Erlangga. Jakarta.
- Hakim, A. A. 2005. Kasus-kasus Tumor Otak di RSUP H. Adam Malik dan RSUP H Medan tahun 2003 dan 2004. *Majalah Kedokteran Nusantara*. Vol 38. No. 3.
- Halim, Binarwan. 2001. *Imunologi Kanker*. Cermin Dunia Kedokteran No. 132 : 47-51
- Handayani W. 2008. *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Salemba Medika. Jakarta. Hal: 87-100.
- Hannan, D. dan R. A. Weinberg. 2011. The Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell - Elsevier*, 4:646-674.
- Harahap, N.S. 2008. Pengaruh Aktivitas Fisik Maksimal Terhadap Jumlah Leukosit dan Hitung Jenis Leukosit pada Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- 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. FMIPA.
- Hidayat, A. A. A. 2006. *Pengantar Kebutuhan Dasar Manusia: Aplikasi Konsep dan Proses Keperawatan*. Salemba Medika. Jakarta.
- Hoffbrand, A. V., J. E. Pettit., P. A. H. Moss. 2005. *Kapita Selekta Haematologi*. Edisi 4. EGC Penerbit Buku Kedokteran. hlm 1-3. Jakarta.
- Huxtable, R. J. 1992. *Physiology Action of Taurine*. Department of Pharmacology. University of Arizona College of Medicine. Tucson. Arizona. Hal 101-163.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 1983. *Benzo(a)pyrene In: IARC Monograph on the evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Polynuclear Aromatic Compounds, Part I. Chemical, Environmental, and Experimental Data*. World Health Organization. Lyon. France. Vol. 32 : 33-224.
- Intan, P. R., T. W. Lestari, dan Y. Sani, 2017. Studi Histopatologi Pasca Pemberian Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* L. R. Br.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. Vol 25 (1) : 010-022.
- Islambulchilar, M. I., Asvadiz, Z., Esfahaniz, A., dan Sattari, M.R. 2011. Effect of Taurine on Febrile Episodes in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Adv Pharm Bull*. Vol (1) : 103-108.
- 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.
- Khaira, Khuntum. (2010). Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan. *Jurnal Sainstek*. Vol.11(2): 183-187.
- Krishnaveni, M. 2014. Antioxidant Potential of *Bauhinia purpurea* L. Leaf. *International Journal Pharm Science*. Vol 6 (7) : 558-560.
- Kumar dan K.S. Chandrashekar. 2011. *Bauhinia Purpurea* L.: A Review of its Ethnobotany, Phytochemical and Pharmacological Profile. *Research Journal of Medicinal Plant*. Vol 5 (4) : 420 -431
- Kumar, V., Cotran R. S., dan Robbins S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7; Alih Bahasa, Brahm U, Pendt ; Editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwiny Darmaniah, Nnda Wulandari. Ed 7. EGC. Jakarta.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

- Lavenia A. 2010. Potensi Ekstrak Kulit Batang Mahoni sebagai Antioksidan pada Tikus Hiperurisemia. *Skripsi*. Bogor: Departemen Biokimia FMIPA IPB.
- Louis, D.N., Ohgaki, H., Westler, O.D., dan Cavenese, W.K. 2007. WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System 4th Edition. *International Agency for Research on Cancer*. Lyon.
- Maharani, S. 2009. *Kanker: Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Katahati. Yogyakarta.
- Mais, D. 2008. Benzo(α)piren–Hemoglobin *adduct* pada Polisi Lalu Lintas dan Pasien Kanker Paru-Paru yang Terpapar Polisiklik Aromatik Hidrokarbon. (Skripsi). FMIPA. Universitas Indonesia
- Marlinda, H., E. L. Widiastuti, G. N. Susanto, dan Sutyarso. 2015. Respon Eritrosit dan Leukosit Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)Piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Dewa (*Gynuras segetum* (Lour.) Merr). *Jurnal Natur Indonesia*.
- Mates J.M., Segura J.A., Alonso F.J., dan Marquez J. 2012. Sulphur-Containing Non Enzymatic Antioxidants: Therapeutic Tools Against Cancer. *Front Biosci* (Schol Ed). Vol 4: 722–748.
- Maysa, A., E. L. Widiastuti, N. Nurcahyani, dan H. Busman. 2016. Uji Senyawa Taurin sebagai Antikanker terhadap Jumlah Sel-Sel Leukosit dan Sel-Sel Eritrosit Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Benzo(α)pyren Secara *In Vivo*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 16 (2): 68-75.
- Mescher, AL.L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira, Teks, dan Atlas*. Edisi 12. EGC. Jakarta
- Michael, B., Yano, Barry., Sellers, R. S., Perry, R., Morton, D., Roomie, N., Johnson, J. K., dan Schafer, K.. 2007. Evaluation of Organ Weights for Rodent and Non-Rodent Toxicity Studies: A Review of Regulatory Guidelines and a Survey of Current Practices. *Toxicologic Pathology*. Vol. 35: 742-750.
- Middleton, E. J.R., Chittan, K., dan Theorides, T.C. 2000. The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *The American Society for Pharmacology and experimental Therapeutics*. Printed in USA. Vol 52 (4) 47/867/401. Hal 709-713.
- Moore, K. R., dan Argur, K.M. 2007. *Anatomi Klinis*. Hipocrates. Jakarta.
- Mugianton, 2010, *Akumulasi Senyawa Benzo(a)piren dan Metabolismenya dalam Tubuh*, (Online), www.scribd.com/doc/. Diakses pada 15 September 2017. Pukul 19.08 WIB.

- Murray, R. K., dan Granner, D. K. 2009. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 22. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Naguib, Y.M., Azmy, R.M., Samaka, R.M., Salem, M.F. 2014. *Pleurotus ostreatus* opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen induced hepato-renal injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:494-515
- Neary, P.M., Hallihan. P., Wang, J.H., Pfirrmann, R.W., Bouchier-Hayes, D.J., dan Redmond, H.P. 2010. The Evolving Role of Taurolidine in Cancer Therapy. *Ann Surg Oncol*. Vol 7: 1135–1143.
- 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.
- Negi, B.S., Dave, B.P., dan Agarwal, Y.K. 2012. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Bauhinia purpurea* Leaves Under In Vitro Conditions.*Indian Journal of Microbiology*. Vol 52 (3) : 60–365.
- Ningsih, W. 2007. Evaluasi Senyawa Fenolik (Asam Ferulat dan Asam p-Kumarat) Pada Biji, Kecambah, dan Tempe Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*). [Skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Nugraha, L.S.A. 2011. *Cara dan Rute Pemberian Obat Pada Hewan Percobaan Mencit*. Akademi Farmasi Theresiana. Semarang.
- Nussbaum, R.L., McInnes, R.R., dan Willard, H.F., 2001, Thompson and Thompson Genetics in Medicine 6th ed., WB Saunders Company, Philadelphia People Living with Cancer. The Genetics of Cancer. 311-332.
- O'Malley B. 2005. *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species*. Edinburgh: Elsevier Saunders. Hal 173-177.
- Playfair, J.H.L. and B.M. Chain. 2001. *Immunology at a Glance Seventh edition*. Blackwell Publishing Company. London: 8-63.
- Pearce, E.C. 2008. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Para Medis*. PT Gramedia. Jakarta.
- Pettit, G.R., A. Numata, C. Iwamoto, Y. Usami, T. Yamada, H. Ohisi dan G.M. Cragg. 2006. Antinoeplastic Agent 155 Isolation and Structure of Buhini 1-4 from *Bauhinia purpurea* L. *Journal National Prod*. Vol 69 : 323-327.
- Price, A. S., dan Lorraine Mc. C.W. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi 6 (terjemahan). Peter Anugrah. EGC. Jakarta.

- Priyambodo, S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agrikat*. Penebar Swadaya. Jakarta. Vol : 6.
- Purves, W.K., D. Sadava, G.H. Orians, dan H.C. Heller. 2004. *Life: The Science of Biology*. Sinuer ssociates, Inc & W. H. Freeman Company. Sunderland.
- Purwaningsih E., Widayanti E. and Suciati Y. 2014. Cytotoxicity assay of *Typhonium flagelliforme* Lodd. Against Breast and Cervical Cancer Cells. Vol 33 (2) 75–82.
- Puspita, E. V., G. N. Susanto², Sumardi, E.L Widiastuti. 2016. Pengaruh Taurin Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase, Malondialdehida dan Histologi pada Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan yang Diberi Herbisida Glifosat. *Jurnal Natural B*. Vol 3 (3).
- Ramadi, A. 2005. *Kamus Kedokteran : Arti dan Keterangan Istilah*. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Ramalhosa, M.J., Paula, P., Simone, M., Cristina, D. dan Beatriz, P. O, 2009, Analysis Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Fish: Evaluation Of A Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged And Safe Extraction Method, *Journal of Separation Science*. Vol 32 : 3529-3538.
- Raskin, R.E., Latimer, K.S., dan Tvedten ,H. 2004. Leucocytes Disorder. Di dalam: Williard MD, Tvedten H. *Small Animal Clinical Diagnosis By Laboratory Methods Fourth Edition*. St. Louis, Missouri, United Stated of America: Saunders. Hal: 63-90
- Raskin, R.E. 2000. Erythrocytes, leukocytes, and platelets. Di dalam: Stephen J Birchard, Robert G. Sherding, editor. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. Ed ke-2. Philadelphia: W.B. Saunders Company. Hal 165-168.
- Rendra, M., R. Yaswir, A.M. Hanif. 2013. Gambaran Laboratorium Leukemia Kronik di Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang, Artikel Penelitian.
- Rezaeizadeh, A., Zuki, A.B.Z., M. Abdollahi, Goh Y.M., Noordin M.M., Hamid M., dan Azmi T.I. 2011. determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extract of *momordica charantia*. *African Journal of Biotechnology*. Vol 10 (24) : 4932-4940. ISSN 1684–5315.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran dan V. Kumar. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. EGC. Jakarta..

- Satria., A. 2011. Angka Harapan Hidup Dua Tahun Penderita Low Grade dan High Grade Glioma yang Mendapatkan Terapi Radiasi. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Diponegoro.
- Setijono, M.M. 1985. Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Percobaan. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.
- Sellers, R. S., Morton, D., Michael, B., Roome, N., Johnson, J. K., Yano, B. R., Perry, R., dan Schaffer, K.. 2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendation for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*. Vol. 35: 751-755.
- Shama, K.P dan C.S Shastri. 2012. Evaluation of Antidiabetic Activity of *Bauhinia purpurea* L in streptozotocin Induced Diabetic Rat. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*. Vol.1 (4) 536 – 539.
- Shao, A., dan J.N., Hathcock. 2008. Risk assessment for the amino acids taurine, lglutamine and l-arginine. *Regul Toxicol Pharmacol* 50(3) : 376-399.
- Sheeler, P. dan D.E. Bianchi. 1982. *Cell Biology Structure, Biochemistry, and Function, 2nd ed.*. John Wiley & Sons Inc.. New York
- 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.
- Siahaan, R. 2005. Terapi biologi kanker. www.humanmedicine.net. Diakses tanggal 22 Januari 2018
- Smeltzer, S.C., dan B. G., Brenda. 2008. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Smayda, R. 2002. Contemporary Review Of Therapeutic Benefits Of The Amino Acid Taurine. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 257 (6) : 2802-2805.
- Snell, R. S. 2012. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Dialih bahasakan oleh Sugarto, L. EGC. Jakarta.
- Stiphanuk MH. 2000. *Biochemical and Physiological Aspects Of Human Nutrition*. New York
- Stapleton, P. Philip, O., Lean, Redmond, Paul, Boucher Hayes, dan David J. 1998. Neuroprotective Mechanisms of Taurine against Ischemic Stroke. *brain sciences* ISSN 2076-3425.

- Sudiono, J. B. K., Andhyhendrawan, dan B. Djimantoro. 2003. *Ilmu Patologi*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Sukaradja. 2000. *Onkologi Klinik* Edisi 2. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sunariah, N.S. 2008. <http://apakah-anda-pernah-melihat-bentuk-sel.html>. Diakses pada 29 September 2017.
- Sunaryati, S.S. 2011. *14 Penyakit Paling Sering Menyerang dan Sangat Mematikan*. Flashbooks. Yogyakarta.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas*. Ilmu Kedokteran Molekuler. Kapita Selekta. Jakarta.
- Tambur, Z. 2006. White Blood Cell Differential Count in Rabbits Artificially Infected with Intestinal Coccidia. *J. Protozool. Res* 16, 42-50.
- Teske, E. 2010. Leucocytes. Di dalam: Douglas J Weiss, K Jane Wardrop, editor. *Schalm's Veterinary Hematology Sixth Edition*. United States of America: Wiley-Blackwell. hal: 263-298.
- Themi, H., H. Diem, dan Haferlach, T. 2004. *Color Atlas of Hematology*. Edisi ke 2. Stuttgart, New York: Thieme. hal 45.
- Theodorus, E. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Gambaran Histopatologi Otak Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Monosodium glutamate (MSG). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Thomas, C. 1988. *Histopatologi : Buku Teks dan Atlas Untuk Pelajaran Patologi Umum dan Khusus*. Edisi 10. Alih Bahasa Tonang, dkk. EGC. Jakarta.
- Thrall, M.A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Maryland: Lippincott Williams dan Wilkins. hal 3-11; 20; 69-77; 212-217.
- Tina, H. W. 2011. Informasi Singkat Benih *Bauhinia purpurea* L. *Jurnal Direktorat Perbenihan Tanaman Hutan*. No. 131 : 1 – 2.
- Utami, P. 2003. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Melitus*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Wahjoepramono, E. J. 2006. Tumor Otak 1-5. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Pelita Harapan. Lippo Karawaci.
- Weiss, D.J., and K.J. Wardrop. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*, 6nd edition. United State of America: Blackwell Publishing Ltd. hal 263-305.

- Wellman, M.L. 2010. *Hematopoiesis*. Di dalam: Douglas J weiss, K Jane Wardrop, editor. Schalm's Veterinary Hematology.
- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid Biosynthesis: A colourful model for genetics, Biochemistry, Cell Biology and Biotechnology. Plant Physiology. Vol 126 (2) : 485-493.
- Yayasan Kanker Indonesia. 2008. Informasi Dasar Tentang Kanker: Pedoman Bagi Penyuluh Kanker. <http://kankerindo.org/unduh/>. Diakses pada 18 September 2017. Pukul 19.45.
- Yayasan Pita Kuning Anak Indonesia. 2011. Kanker Pada Anak. <http://ypkai.or.id/kanker-pada-anak>. Diakses pada 20 September 2017. Pukul 16.17 WIB.
- Yu J.S., Kim A.K. 2010. Effect of Combination of Taurine and Azelaic Acid on Antimelanogenesis in Murine Melanoma Cells.. J. Biomed Science. 17: S45.
- Yuliangga, S . 2008. Penyakit Leukemia Kanker Darah. <http://www.infopenyakit.com/2008/01/penyakit-leukemia-kankerdarah.html>. 13 September 2017. Pukul 20.25 WIB.
- Yuwono. 2009. *Mencit strain CBR Swiss Derived*. Pusat Penelitian Penyakit Menular Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Zakaria, Z.A., Rofiee M.S., Teh, L.K., Salleh, M.Z., Sulaiman, M.R. dan Somchit, M.N. 2011. *Bauhinia purpurea* leaves' Extracts Exhibited In Vitro Antiproliferative and Antioxidant Activities. *African Journal of Biotechnology*. Vol 10 (1) : 65– 74.
- Zhang, X., Tu S., Wang, Y., Xu B., danWan, F. 2014. Mechanism Of Taurine-Induced Apoptosis in Human Colon Cancer Cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. Vol 46 : 261–272.