

**POTENSI EKSTRAK METANOL DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius* L.)  
DAN LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF  
TERHADAP ONKOGENESIS PADA PARU-PARU MENCIT (*Mus musculus* L.)  
YANG DIINDUKSI SENYAWA POLISIKLIK AROMATIK  
HIDROKARBON (PAH)**

(Skripsi)

Oleh

**YONATHAN CHRISTYANTO**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## ABSTRACT

### POTENTIALS OF METHANOL EXTRACTS OF JERUJU LEAVES (*Acanthus ilicifolius* L.) AND LAMUN (*Enhalus acoroides*) AS CHEMOPREVENTIVE AGENTS ON MICE (*Mus musculus* L.) LUNGS ONCOGENESIS INDUCED BY POLYCYCLIC AROMATIC HIDROCARBON (PAH)

By

**Yonathan Christyanto**

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are carcinogenic compounds that can initiate oncogenesis, one of which is Benzo(a)pyrene or BaP. Some coastal plants such as jeruju and lamun are thought to have secondary metabolites which have the potential to prevent oncogenesis occur before the clinical symptoms, cancer. In this study, it is expected that secondary metabolites present in these two plants can have the potential to be chemopreventive agents for oncogenesis in the lungs of mice and have the same effectiveness as taurine which has the ability as an anticancer. This study was conducted using a completely randomized design with five treatment groups, each of five replications. Group I as a negative control that is not given treatment. Group II as a positive control, induced by BaP without being given test material. Group III was given taurine at a dose of 15.6 mg/mice after BaP induction. Group IV was given methanol extract of jeruju leaves at a dose of 22.4 mg/mice after BaP induction. Group V was given methanol extract of lamun at a dose of 8.7 mg/mice after BaP induction. BaP induction with a dose of 0.3 mg/mice was administered for 10 days, then the test material was administered for 15 days. Data obtained were analyzed by ANOVA and continued with LSD test at 5% level. The results obtained show that the administration of test materials can maintain the number of erythrocytes and leukocytes in the normal range and significantly reduce the lung tissue damage of mice due to BaP induction, with the order from the most effective are taurine, jeruju leaf extract, and last, seagrass extract.

**Key words** : jeruju, lamun, lungs, oncogenesis, PAH

## ABSTRAK

### **POTENSI EKSTRAK METANOL DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius* L.) DAN LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF TERHADAP ONKOGENESIS PADA PARU-PARU MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI SENYAWA POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON (PAH)**

Oleh

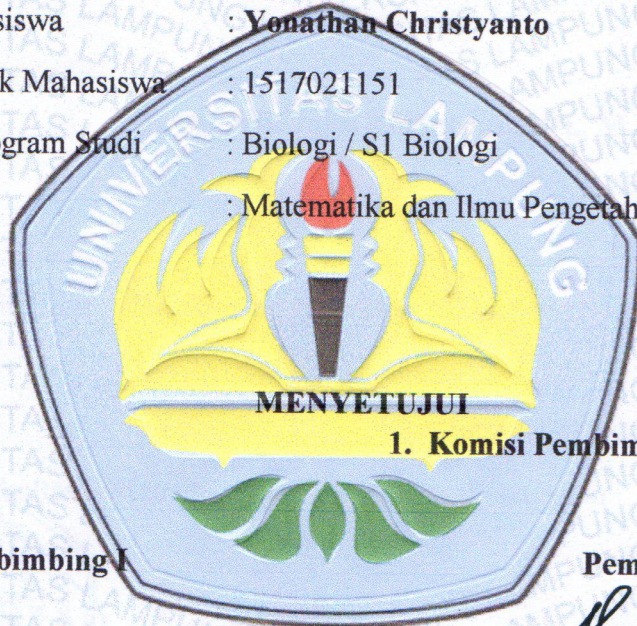
**Yonathan Christyanto**

Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) merupakan senyawa karsinogenik yang dapat memulai terjadinya onkogenesis, salah satunya yaitu Benzo(a)piren atau BaP. Beberapa tumbuhan pesisir seperti jeruju dan lamun diduga memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi untuk mencegah berlangsungnya onkogenesis sebelum timbulnya gejala klinis, yaitu kanker. Maka, dalam penelitian ini diharapkan senyawa metabolit sekunder yang ada pada kedua tanaman tersebut dapat berpotensi sebagai agen kemopreventif terhadap onkogenesis pada paru-paru mencit dan memiliki efektivitas sebaik taurin yang memiliki kemampuan sebagai antikanker. Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima kelompok perlakuan, masing-masing lima ulangan. Kelompok I sebagai kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan. Kelompok II sebagai kontrol positif, diinduksi BaP tanpa diberikan bahan uji. Kelompok III diberikan taurin dengan dosis 15,6 mg/ekor setelah diinduksi BaP. Kelompok IV diberikan ekstrak metanol daun jeruju dengan dosis 22,4 mg/ekor setelah diinduksi BaP. Kelompok V diberikan ekstrak metanol lamun dengan dosis 8,7 mg/ekor setelah diinduksi BaP. Induksi BaP dengan dosis 0,3 mg/ekor dilakukan selama 10 hari, kemudian pemberian bahan uji dilakukan selama 15 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf nyata 5%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian bahan uji dapat mempertahankan jumlah eritrosit dan leukosit pada kisaran normal dan mengurangi kerusakan jaringan paru-paru mencit secara signifikan akibat induksi BaP, dengan urutan dari yang paling efektif adalah taurin, ekstrak daun jeruju, dan terakhir, ekstrak lamun.

**Kata kunci :** Jeruju, lamun, onkogenesis, paru-paru, PAH

Judul Skripsi : **POTENSI EKSTRAK METANOL DAUN  
JERUJU (*ACANTHUS ILICIFOLIUS*)  
DAN LAMUN (*ENHALUS ACOIRIDES*)  
SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF  
TERHADAP ONKOGENESIS PADA  
PARU-PARU MENCIT (*MUS  
MUSCULUS L.*) YANG DIINDUKSI  
SENYAWA POLISIKLIK AROMATIK  
HIDROKARBON (PAH)**

Nama Mahasiswa : **Yonathan Christyanto**  
Nomor Pokok Mahasiswa : 1517021151  
Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

Endang Linirin Widiastuti, Ph.D  
NIP 196106111986032001

Henri Wijavanti M., S.Pi., M.Si.  
NIP 198101012008012004

**2. Ketua Jurusan Biologi**

M Kan  
Drs. M. Kanedi, M.Si  
NIP. 196101121991031002

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

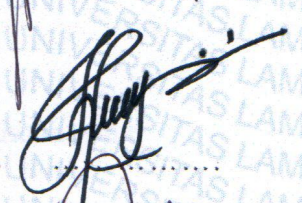
Ketua

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



Sekretaris

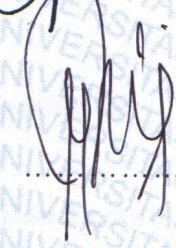
: **Henni Wijayanti Maharani, S.Pi., M.Si.**



Penguji

Bukan Pembimbing

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



2. PLT Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Prof. Sutono Hadi, M.Sc., Ph.D.**

NIP. 197104151995121001

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Februari 2019**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yonathan Christyanto  
NPM : 1517021151  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“Potensi Ekstrak Metanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dan Lamun (*Enhalus acoroides*) Sebagai Agen Kemopreventif Terhadap Onkogenesis Pada Paru-Paru Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)”**

baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah **benar** karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 12 Februari 2019

Yang menyatakan,



(Yonathan Christyanto)

NPM: 1517021151

**POTENSI EKSTRAK METANOL DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius* L.)  
DAN LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF  
TERHADAP ONKOGENESIS PADA PARU-PARU MENCIT  
(*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI SENYAWA POLISIKLIK  
AROMATIK HIDROKARBON (PAH)**

Oleh

**YONATHAN CHRISTYANTO**

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  
2019**

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 24 Agustus 1997. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara oleh pasangan Bapak Eko Prasetyanto dan Ibu Sugiarti.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Xaverius 3 Bandar Lampung pada tahun 2002. Pada tahun 2003, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Xaverius 3 Bandar Lampung. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama BPK Penabur Bandar Lampung Pada tahun 2009. Pada tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Xaverius Bandar Lampung

Pada tahun 2015, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai kepala Bidang Komunikasi, Informasi dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2017. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Labuhan Ratu IV, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur pada Januari-Februari



2017 dan Melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung pada Juli-Agustus 2018 dengan judul “**Pemeriksaan Nekropsi Ayam Pedaging (*Gallus domesticus*) Yang Terinfeksi Virus *Newcastle Disease* (ND)**”

## PERSEMBAHAN

*Puji Tuhan atas segala karunia, kelimpahan dan rahmat-Nya. Kupersembahkan karya kecilku ini kepada :*

*Orangtuaku, bapak dan ibu tercinta yang selalu memberi dukungan dalam segala hal dan tidak pernah lupa menyebut namaku dalam doanya*

*Adikku tersayang yang mewarnai hari-hariku, memotivasi dan menyemangatiku untuk terus berkarya.*

## MOTTO

*...Apa saja yang kamu minta dan doakan, percayalah bahwa kamu telah menerimanya, maka hal itu akan diberikan kepadamu (Markus 11:24)*

*Sebab hidup kami ini adalah hidup karena percaya, bukan karena melihat (2 Korintus 5:7)*

*Apa yang sedang kamu doakan, sedang Tuhan kerjakan. Percayalah semua akan indah menurut Rencana-Nya dan waktu-Nya (Merry Riana)*

## SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, karena atas berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Potensi Ekstrak Metanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan Lamun (*Enhalus acoroides*) Sebagai Agen Kemopreventif Terhadap Onkogenesis Pada Paru-Paru Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)”**. Penelitian ini didanai oleh hibah institusi Puslitbang Pesisir dan Kelautan LPPM Universitas Lampung Tahun 2018. Pada kesempatan ini penulis ingin berterima kasih kepada :

1. Kedua orangtuaku, Bapak Eko Prasetyanto dan Ibu Sugiarti, yang selalu memberi dukungan, kebutuhan finansial, nasehat, doa, semangat dan motivasi selama ini
2. 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.
3. Ibu Henni Wijayanti Maharani, S.Pi., M.Si. selaku pembimbing II yang dengan baik hati dan sabar membimbing dan berbagi ilmu untuk menyelesaikan skripsi.

4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku pembahas yang telah memberikan bimbingan, kepercayaan selama penyusunan skripsi serta kesedian untuk diskusi bahkan berbagi canda sehingga sangat berkesan
5. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi
6. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
7. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Bapak Drs. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
9. 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.
10. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan.
11. Mbak Iffa Afiqa Khairani, S.Si. yang telah membantu penulis dalam penelitian, memberikan arahan dan tuntunan serta berbagi pengalaman dalam penyusunan skripsi sehingga penulis tidak menjadi *single fighter*.
12. Adikku tersayang, Yoshua, yang selalu mau menjadi penghibur dan canda tawa bahkan hinaan yang memotivasi penulis untuk jadi lebih baik

13. Teman-teman seperjuangan Lily Utami, dan Noufallia Fikri Arra yang telah menemani selama penelitian berlangsung
14. Teman-teman kelas B 2015, Terkhusus sahabatku, Berekhya Glori Hernawati Pandiangan dan Andre Cahyo Nugroho yang selalu memberikan semangat, bantuan dan keceriaan.
15. Sri Rahmaning Tiyas, Winda Yulianingtias, Inas Fadhillah, dan Tia Annisa, serta segenap warga laboratorium biomolekuler yang telah memberikan semangat pada penulis.
16. Teman-teman Biologi Angkatan 2015 atas keakraban, canda tawa, dukungan, dan kebersamaannya selama ini yang telah kalian berikan.
17. Seluruh kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas kebersamaannya di FMIPA, Universitas Lampung.
18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan penulis dukungan, berbagai kritik dan saran,
19. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.
20. *The last but not least*, Lily partner yang selalu menemani di saat susah senang, mendukung dan melengkapi penulis yang tidaklah sempurna ini dalam segala hal.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan kebaikan pula dari Tuhan Yang Maha Esa. Demikianlah, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan kepada setiap orang.

Bandar Lampung, 12 Februari 2019

**Yonathan Christyanto**

## DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN.....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	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.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xxi
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
E. Kerangka Pikir.....	6
F. Hipotesis.....	7

<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
A. Paru-paru.....	8
1. Anatomi dan Fisiologi Paru-paru.....	8
2. Histologi Paru-paru.....	9
3. Histopatologi Paru-paru.....	11
B. Onkogenesis.....	13
C. Faktor Onkogenesis.....	16
D. Mekanisme Onkogenesis pada Paru-paru.....	18
E. Kemopreventif.....	20
F. Biologi Tumbuhan Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.).....	22
1. Klasifikasi Tumbuhan Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.).....	22
2. Deskripsi Tumbuhan Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.).....	23
3. Fitokimia Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.).....	25
G. Biologi Tumbuhan Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	27
1. Klasifikasi Tumbuhan Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	27
2. Deskripsi Tumbuhan Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	27
4. Fitokimia Pada Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	30
H. Polisiklik Aromatik Hidrokarbon.....	30
I. Taurin.....	33
J. Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....	34
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>37</b>
A. Waktu dan Tempat.....	35
B. Bahan dan Alat.....	35
C. Metode Penelitian.....	39
D. Pelaksanaan Penelitian.....	40
1. Persiapan Hewan Uji.....	40
2. Persiapan dan Pembuatan Bahan Uji.....	42
2.1. Pembuatan Ekstrak Daun Jeruju dan Lamun.....	42
2.2. Persiapan Taurin.....	43
3. Induksi PAH pada Hewan Uji.....	43
4. Pemberian Ekstrak Daun Jeruju dan Lamun.....	43
5. Pemberian Taurin.....	44
6. Pengamatan Berat Badan dan Berat Basah Paru-paru Mencit.....	44
7. Pengambilan Sampel Darah Mencit.....	44
8. Nekropsi dan Pengambilan Sampel Organ.....	45
9. Analisis Penghitungan Jumlah Total Eritrosit, Leukosit dan Diferensial Leukosit.....	45
9.1 Eritrosit.....	45
9.2 Leukosit.....	45
9.3 Diferensial Leukosit.....	46
10. Pembuatan Preparat Histopatologi Paru-paru Mencit.....	47
10.1 Fiksasi.....	47
10.2 Dehidrasi, Clearing, dan Impregnasi.....	47
10.3 Embedding.....	48
10.4 Cutting.....	48



10.5	Staining	49
10.6	Mounting	49
10.7	Pengamatan histopatologi	50
11.	Pengujian Kandungan Fitokimia Daun Jeruju dan Lamun	50
11.1	Uji Saponin	50
11.2	Uji Steroid	50
11.3	Uji Terpenoid	50
11.4	Uji Tanin	51
11.5	Uji Alkaloid	51
11.6	Uji Flavonoid	51
E.	Diagram Alir Penelitian	52
F.	Parameter Penelitian	53
1.	Rerata Berat Badan Mencit	53
2.	Rerata Berat Basah Organ Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus L.</i> )	53
3.	Rerata Nilai Indeks Organ Mencit ( <i>Mus musculus L.</i> )	53
4.	Gambaran Histologi Sel Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus L.</i> )	53
5.	Perhitungan Total Sel Darah Merah (Eritrosit)	54
6.	Perhitungan Total Sel Darah Putih (Leukosit)	55
7.	Diferensial Sel Darah Putih (Leukosit)	55
G.	Analisis Data	56

#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**.....57

A.	Kandungan Senyawa Fitokimia Bahan Uji	57
B.	Berat Badan Mencit ( <i>Mus musculus L.</i> )	58
C.	Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)	61
D.	Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit)	65
E.	Rerata Jumlah Total Diferensial Sel Darah Putih (Leukosit)	67
F.	Rerata Berat Basah Paru-Paru Mencit	72
G.	Pengamatan Histopatologi Paru-Paru Mencit	74
1.	Skor Kerusakan Sel Paru-Paru Mencit	77
2.	Komparasi Gambaran Histopatologis Paru-Paru Kelompok Perlakuan dengan Kontrol Negatif (K1) Dan Kontrol Positif (K2)	76
3.	Gambaran Histopatologis Paru-paru Tiap Kelompok	79
3.1	Kelompok Kontrol Negatif (K1)	79
3.2	Kelompok Kontrol Positif (K2)	80
3.3	Kelompok Yang Diinduksi BaP, Kemudian Dilanjutkan Pemberian Taurin (K3)	83
3.4	Kelompok Yang Diinduksi BaP, Kemudian Dilanjutkan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius L.</i> ) (K4)	85
3.5	Kelompok Yang Diinduksi BaP, Kemudian Dilanjutkan Pemberian Ekstrak Metanol Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) (K5)	87

#### **V. SIMPULAN DAN SARAN**.....90

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>91</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>100</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Anatomi Paru-paru anterior.....	9
Gambar 2. Histologi Alveolus Paru-paru.....	10
Gambar 3. Histologi Parenkim Paru-paru.....	11
Gambar 4. Histopatologi Sel Karsinoma Kecil.....	13
Gambar 5. Tahapan Onkogenesis .....	16
Gambar 6. Tumbuhan Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.).....	23
Gambar 7. Tumbuhan Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	28
Gambar 8. Padang Lamun ( <i>Seagrass bed</i> ).....	29
Gambar 9. Struktur Kimia BaP.....	32
Gambar 10. BaP berikatan dengan DNA.....	32
Gambar 11. Struktur Kimia Taurin.....	34
Gambar 12. Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....	35
Gambar 13. Lokasi Pengambilan Bahan Uji.....	38
Gambar 14. Lini Masa Pemberian Bahan Uji.....	40
Gambar 15. Proses Ekstraksi Daun Jeruju Dan Lamun.....	42
Gambar 16. Kamar Hitung Hemositometer.....	46
Gambar 17. Diagram Alir .....	52
Gambar 18. Rerata Berat Badan Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah	

Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor.....	59
Gambar 19. Rerata Jumlah Eritrosit Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Sebelum dan Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor...	61
Gambar 20. Persentase Besar Penurunan Rerata Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit) Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor.....	62
Gambar 21. Indeks Limpa Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor (Berat Basah Organ Limpa/Berat Badan).....	64
Gambar 22. Rerata Jumlah Leukosit Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Sebelum dan Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor...	65
Gambar 23. Selisih Rerata Jumlah Diferensial Leukosit Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) yang diberikan Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor dengan Kelompok Normal.....	69
Gambar 24. Rerata Berat Basah Organ Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor.....	72
Gambar 25. Skor Kerusakan Sel Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor...	74
Gambar 26. Komparasi Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Normal, Hanya Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor, dan Dengan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor serta Taurin 15,6 mg/ekor (H&E 40X).....	77

Gambar 27. Komparasi Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Normal, Hanya Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor, dan Dengan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor serta Taurin 15,6 mg/ekor (H&E 400X).....	78
Gambar 28. Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Normal. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), Mag. 400x.....	79
Gambar 29. Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) yang Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), Mag. 400x.....	81
Gambar 30. Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) yang Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor, dan Diberikan Taurin 15,6 mg/ekor. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), Mag. 400X.....	83
Gambar 31. Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) yang Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor, dan Diberikan Ekstrak Metanol daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), Mag. 400x.....	85
Gambar 32. Gambaran Histopatologi Paru-Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) yang Diinduksi BaP 0,3 mg/ekor, dan Diberikan Ekstrak Metanol Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) 24,5 mg/ekor , Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), Mag. 400x.....	87
Gambar 33. BaP.....	115
Gambar 34. Maserasi.....	115
Gambar 35. Cardiac Puncture.....	116
Gambar 36. Kandang Mencit.....	116
Gambar 37. Pasta Ekstrak Bahan Uji.....	117
Gambar 38. CMC dan Bahan Uji.....	117
Gambar 39. Nekropsi.....	118
Gambar 40. Fiksasi Organ.....	118
Gambar 41. Administrasi Oral Bahan Uji.....	119
Gambar 42. Pengambilan Darah Melalui Vena Ekor.....	119

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Senyawa Pada Beberapa Bagian Tumbuhan Jeruju.....	26
Tabel 2. Uji Spesifik Pada Daun Jeruju.....	26
Tabel 3. Pengelompokkan Kandang Mencit.....	39
Tabel 4. Skor Tingkat Kerusakan Sel Paru-paru.....	39
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) dan Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ).....	57
Tabel 6. Rerata Jumlah Total Diferensial Leukosit Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) Setelah Induksi BaP 0,3 mg/ekor dan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> L.) 24,5 mg/ekor, Lamun ( <i>Enhalus Acoroides</i> ) 8,7 mg/ekor dan Taurin 15,6 mg/ekor.....	68
Tabel 7. Data Rata-rata Berat Badan.....	101
Tabel 8. Rerata Diferensial Leukosit.....	101
Tabel 9. Data Jumlah Eritrosit dan Leukosit.....	101
Tabel 10. Rerata Berat Basah Paru-paru dan Limpa.....	101
Tabel 11. Hasil Analisis Statistik Data Berat Badan.....	102
Tabel 12. Hasil Analisis Statistik Eritrosit.....	106
Tabel 13. Hasil Analisis Statistik Jumlah Leukosit.....	108
Tabel 14. Hasil Analisis Statistik Diferensial Leukosit.....	110
Tabel 15. Hasil Analisis Statistik Data Berat Organ.....	114

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Sel merupakan struktur unit terkecil makhluk hidup, termasuk hewan. Setiap makhluk hidup memiliki triliunan sel yang bekerja sama secara struktural, metabolisme, dan fungsional untuk membentuk jaringan dan organ. Selain itu, ciri sel yang paling mendasar adalah kemampuannya dalam bereproduksi dan membelah menghasilkan dua sel anak (Campbell dkk, 2008). Pembelahan normal pada sel yang sehat terjadi secara teratur dan sistematis. Sel normal secara terus-menerus membelah membentuk sel anak yang baru untuk memenuhi kebutuhan pada pertumbuhan dan menggantikan sel yang terluka, termutasi atau sel mati. Semua fungsi sel yang berguna hanya dapat dilakukan oleh sel normal yang bekerjasama secara metabolisme dan struktural dengan sel tetangganya untuk membentuk jaringan dan organ (Warhowsky, 2006). Beberapa sel dapat berhenti bekerjasama dengan sel tetangganya dan menjadi autonom pada pertumbuhannya, alhasil sel-sel tersebut menjadi sel tumor yang kemudian akan menjadi sel kanker (Yuspa, 2000).

Kanker menjadi salah satu penyebab kematian urutan kedua di dunia setelah CVD dan terus meningkat. Hal ini dibuktikan oleh World Cancer Research Fund pada tahun 2012, terdapat 14,1 juta kasus baru penyakit kanker, dimana lebih dari setengahnya berasal dari negara yang kurang berkembang secara ekonomi. Di

tahun 2015, sebanyak 8,8 juta kematian terjadi, dimana lebih dari duapertiganya terjadi di negara yang kurang berkembang (WHO, 2018). Badan kesehatan Dunia memperkirakan pada tahun 2030, akan ada 23,6 juta kasus kanker baru yang terjadi tiap tahunnya dengan didominasi peningkatannya oleh negara yang kurang berkembang ekonominya (Forman dan Bray, 2014).

Berdasarkan investigasi epidemiologis yang dilakukan, menunjukkan bukti kuat bahwa lingkungan dan kebiasaan makanan menjadi faktor yang mempengaruhi timbulnya beberapa macam jenis kanker pada manusia (Zuo dkk, 2015). Kanker dapat terjadi pada semua jaringan tubuh, termasuk paru-paru yang menjadi penyakit kanker paling banyak terjadi pada pria. Meskipun demikian, kanker paru-paru menjadi penyebab utama kematian akibat kanker pada pria dan wanita yang mencapai 20% dari semua jenis penyakit kanker dan harapan hidup akibat kanker paru-paru lebih rendah dibandingkan kanker payudara, prostat, pankreas dan pencernaan (Kasala dkk, 2015).

Kanker paru-paru dicirikan dengan adanya pertumbuhan sel yang tidak terkendali pada paru-paru. Terjadinya penyakit kanker paru-paru terus semakin meningkat seiring terus meningkatnya konsumsi rokok dan ditambah lagi sulitnya menghindari secara total makanan yang dapat memicu kanker (Kasala dkk, 2015). Telah kita ketahui bahwa rokok memberikan efek jangka panjang bagi perokok dibandingkan bukan perokok. Rokok mengandung senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang memegang peranan penting dalam proses onkogenesis pada paru-paru. Selain pada rokok, senyawa PAH dapat ditemukan di lingkungan sekitar yang menjadi polutan bagi lingkungan dalam bentuk hasil pembakaran



bahan organik yang tidak sempurna seperti asap kendaraan bermotor dan kegiatan industri.

Salah satu senyawa PAH yang dapat menginduksi onkogenesis pada paru-paru yaitu Benzo( $\alpha$ )piren atau dikenal pula sebagai BaP. Senyawa BaP ini bersifat sebagai genotoksik karsinogen yang menginduksi mutasi pada gen tumor supressor melalui berbagai jalur yang semuanya dapat mengubah sel-sel normal menjadi sel tumor. BaP memerlukan aktivasi metabolisme sehingga dapat memulai onkogenesis dengan mengaktifasi protoonkogen (Kasala, 2015). Ketika protoonkogen menjadi aktif, maka akan menjadi onkogen yang menyebabkan regulasi pertumbuhan sel menjadi rusak, kemudian mekanisme kematian sel yang tidak normal (apoptosis) tidak terjadi sehingga sel bertumbuh dan membelah secara terus-menerus tidak terkendali.

Beberapa usaha penanganan keganasan kanker termasuk kanker paru-paru selama beberapa dekade terakhir ini masih menggunakan kemoterapi, pembedahan, dan terapi radiasi (Baldy, 2006). Usaha-usaha pengobatan kanker selama ini masih dinilai kurang efisien. Timbulnya resistensi terhadap obat-obatan, kurang spesifiknya penyebaran obat anti tumor, konsentrasi obat yang kurang untuk mencapai target tumor, timbulnya sitotoksik yang sangat berat dan terbatasnya respon pengobatan membuat penyakit kanker semakin sulit untuk disembuhkan (Misra dkk, 2010). Untuk mengatasi hal tersebut, diperlukan pengembangan dan perancangan strategi baru untuk mendapatkan obat yang mampu menyembuhkan bahkan mencegah kanker mulai dari awal pembentukannya.

Di negara berkembang seperti Indonesia, penggunaan obat-obatan herbal untuk kebutuhan medis sudah dilakukan sejak dahulu karena bahan alaminya yang

tidak berbahaya bagi tubuh. Oleh karena itu, berbagai penelitian untuk mencari potensi berbagai tanaman terus dikembangkan untuk penyakit kanker. Indonesia merupakan negara maritim dengan keragaman tumbuhan laut yang besar dan dapat di eksplorasi sebagai obat-obatan. Jeruju dan lamun merupakan salah satu tanaman laut yang berpotensi memberikan efek kemopreventif terhadap proses onkogenesis karena habitatnya yang ekstim diduga banyak mengandung metabolit sekunder yang memiliki potensi untuk dilakukan eksplorasi.

Kandungan polifenol alami yang terkandung pada daun jeruju dan lamun diharapkan dapat menjadi strategi untuk menghambat dan menghentikan serta memulihkan efek yang ditimbulkan oleh BaP (menginduksi terjadinya proses onkogenesis pada paru-paru. Kandungan senyawa metabolit sekunder lain yang didapat dari ekstraksi menggunakan pelarut non-polar, seperti metanol, dapat berpotensi menjadi agen kemopreventif yang berkombinasi secara efektif melawan proses onkogenesis di semua tahapnya.

Untuk mengetahui seberapa efektif sifat kemopreventif dari ekstrak metanol daun jeruju dan lamun, senyawa lain yang sudah terbukti dapat menghambat proses onkogenesis pada berbagai organ dan jalur pembentukan kanker juga digunakan. Taurin diketahui memiliki sifat antikarsinogenik dengan melindungi dan mengontrol proses biokimia sel-sel tubuh dari kerusakan yang dapat menimbulkan proses onkogenesis pada jaringan (Redmon dkk, 1983). Belum adanya penelitian tentang potensi kemopreventif dari ekstrak daun jeruju dan lamun, maka penelitian ini dilakukan pada paru-paru mencit jantan yang diinduksi BaP.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah penelitian ini adalah, apakah ekstrak metanol daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan lamun (*Enhalus acoroides*) memiliki potensi sebaik taurin sebagai agen kemopreventif terhadap proses onkogenesis pada paru-paru mencit (*Mus musculus* L.) jantan yang diinduksi senyawa PAH.

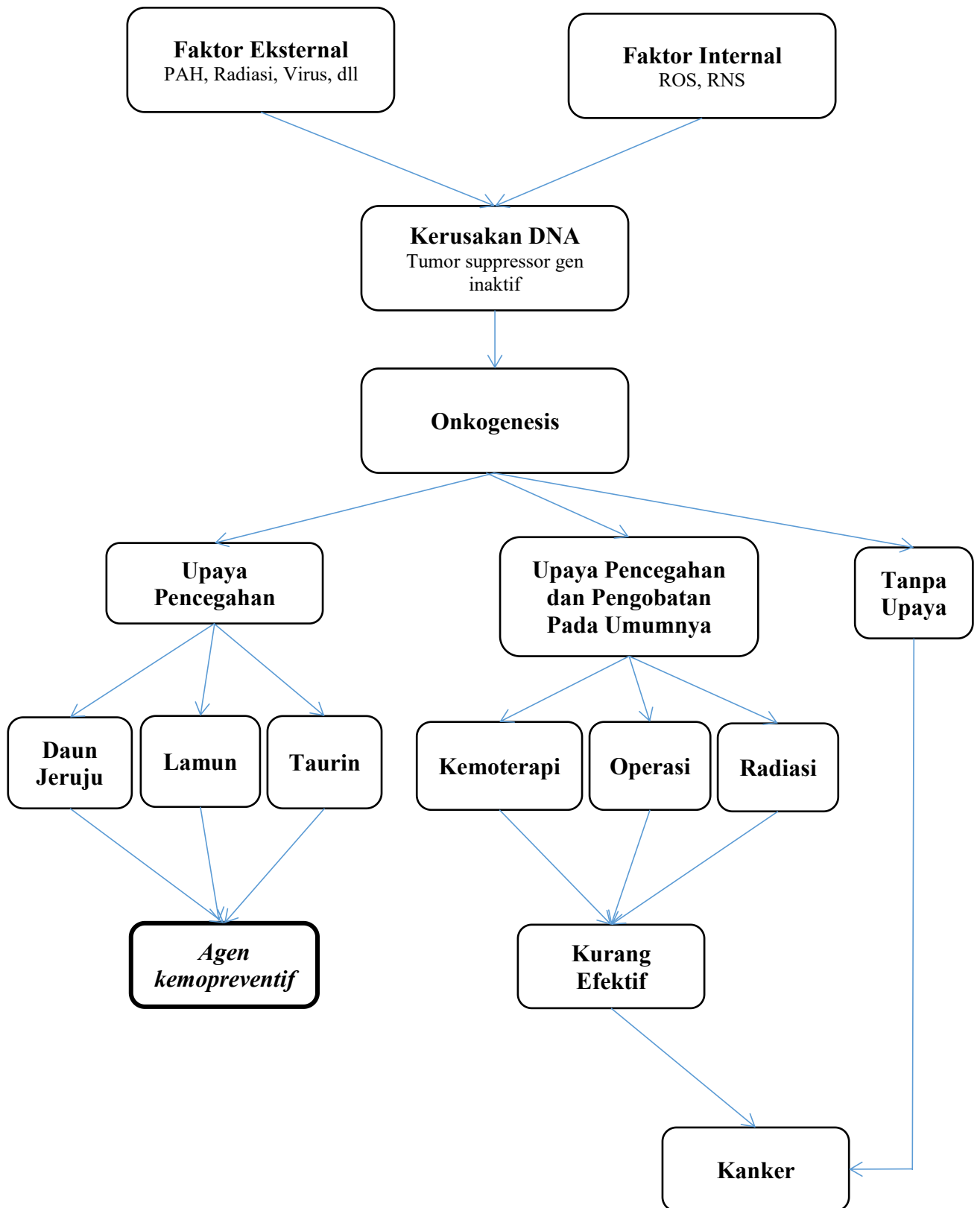
## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan potensi ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan lamun (*Enhalus acoroides*) serta taurin sebagai agen kemopreventif terhadap proses onkogenesis pada paru-paru mencit (*Mus musculus* L.) jantan yang terpapar senyawa PAH.

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan lamun (*Enhalus acoroides*) sebagai agen kemopreventif terhadap proses onkogenesis pada paru-paru mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar senyawa PAH.

### E. Kerangka Pikir



## **F. Hipotesis**

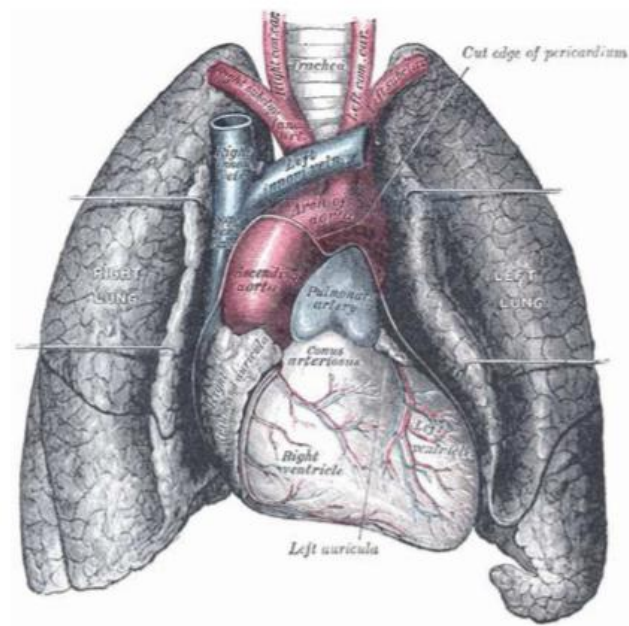
Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan lamun (*Enhalus acoroides*) dapat memperbaiki kerusakan paru-paru mencit (*Mus musculus* L.) akibat senyawa PAH sama baiknya dengan pemberian taurin.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Paru-Paru

#### 1. Anatomi dan Fisiologi Paru

Paru-paru merupakan organ respirasi yang terletak di dada bersebelahan dengan jantung (Gambar 1), memiliki bentuk mengerucut dengan sisi atas bulat menyempit dan sisi dasarnya cekung melebar yang berada pada permukaan diafragma (Drake, 2014). Paru-paru kiri memiliki dua lobus yang berbagi tempat dengan jantung dan memiliki cekungan yang disebut cardiac notch, sedangkan paru-paru kanan memiliki tiga lobus (Betts, 2013). Sisi depan terluar paru-paru menghadap ke tulang rusuk, sehingga mudah mengidentifikasi dari permukaannya. Paru-paru dikelilingi oleh selaput pleura. Pleura merupakan membran mesotelium yang terdiri dari dua bagian, di bagian luar, pleura parietal membatasi dinding dalam tulang rusuk dan di bagian dalam, pleura visceral berbatasan langsung dengan permukaan paru-paru. Diantara kedua lapisan pleura ini terdapat rongga pleura yang berisi lapisan tipis cairan pleura. Tiap paru-paru terbagi menjadi lobus-lobus yang dapat terlihat dari pelipatan pleura ke arah dalam (Gambar 1). Lipatan ini berguna untuk paru-paru agar dapat mengembang (Hacking, 2016).



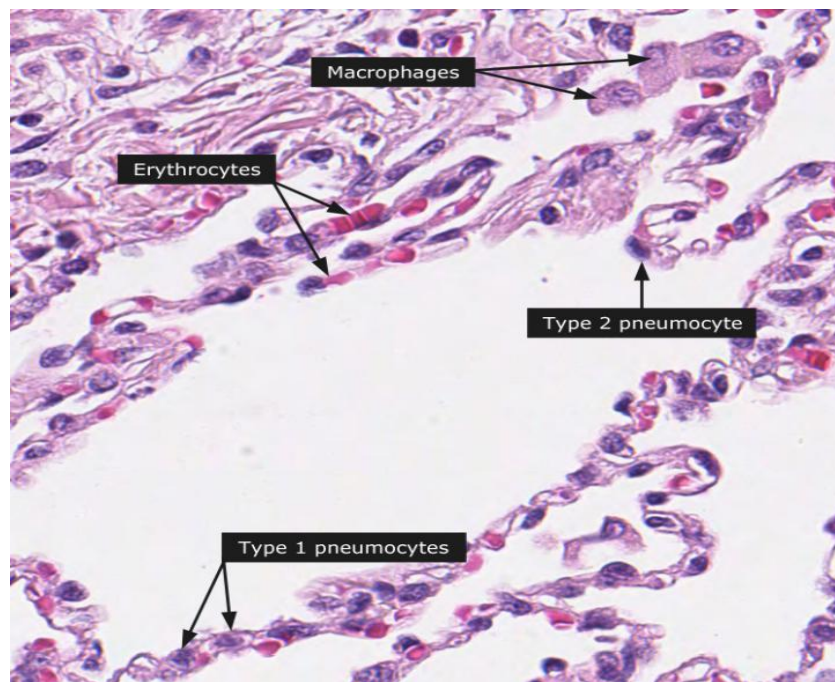
Gambar 1. Anatomi Paru-paru anterior (Gray, 1995).

Bronkus primer masuk ke dalam paru-paru melalui hilum dan bercabang menjadi bronkus sekunder yang mensuplai udara ke tiap lobus paru-paru. Bronkus sekunder bercabang menjadi bronkus tersier yang disebut juga lobus segmental yang mengalirkan udara ke segmen-segmen dari lobus. Tiap segmen memiliki pembuluh arterinya masing-masing (Arakawa, 2000). Semua saluran pernapasan bawah termasuk trakea, bronkus, dan bronkeolus dilapisi dengan epitelium bersilia. Epitelium ini memiliki sel goblet yang memproduksi mukus dan sel club yang bertindak seperti makrofag (Hall, 2011).

## 2. Histologi Paru-paru

Saluran pernapasan berakhir pada lobus. Tiap lobus terdiri dari bronkiolus yang bercabang menjadi saluran alveoli dan kantong-kantong alveoli (Susan, 2008). Alveoli terdiri dari dua tipe sel pneumosit dan sebuah makrofag

alveolus. Dua tipe sel tersebut membuat sekat pada alveolus. Sel tipe I merupakan sel epitel squamosa yang menyusun struktur dinding alveolus, dinding ini sangat tipis yang memungkinkan terjadinya pertukaran gas (Stanton, 2008). Sel tipe I juga merupakan penyusun sekat alveolus yang memisahkan tiap alveolus. Sekat ini tersusun oleh lapisan epitelium (Pawlina, 2015). Sel tipe II memiliki ukuran lebih besar dan melapisi alveoli serta menghasilkan cairan sekresi dan surfaktan. Makrofag alveolus memiliki peran penting dalam sistem imun. Makrofag menghilangkan substansi yang mengendap di alveoli termasuk sel darah merah yang keluar dari pembuluh darah (Pawlina, 2015).

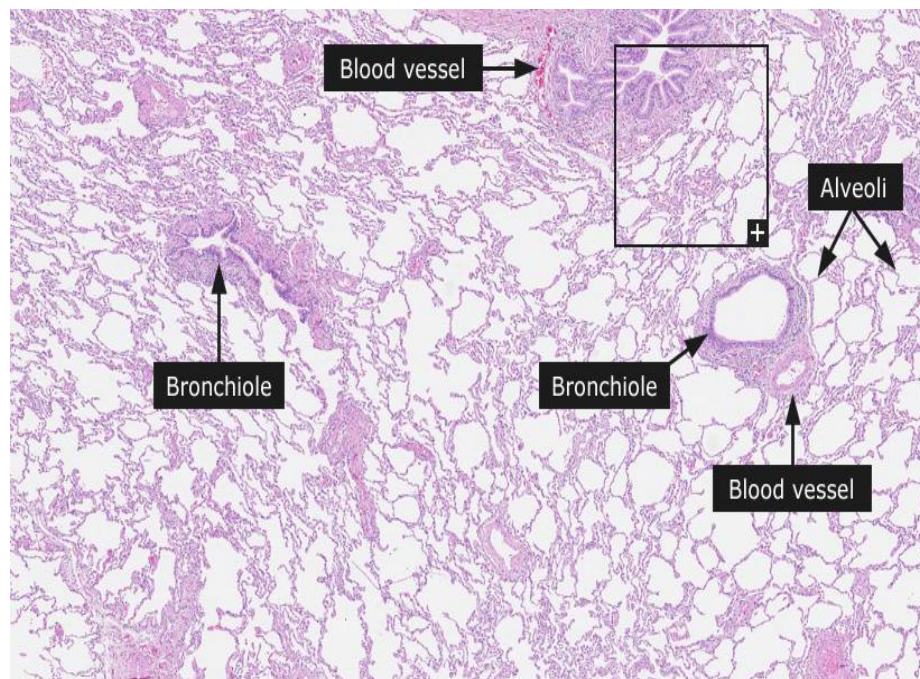


Gambar 2. Histologi Alveolus Paru-paru (Uhlén, 2015)

Pembatas antara udara dan darah pada kapiler pulmonari memiliki ukuran yang sangat tipis yaitu  $0.2 \mu\text{m}$ . Oksigen dan karbon dioksida berdifusi dan melakukan pertukaran gas membutuhkan waktu sekitar 0,25 detik. Permukaan



tempat terjadinya pertukaran gas sangat lebar karena banyaknya jumlah alveoli pada paru-paru yang memiliki rata-rata luas total sebesar 80 m<sup>2</sup>. Pertukaran gas ini diperlukan untuk menjaga homeostasis pH. Selain itu, sel-sel tubuh memerlukan oksigen untuk menghasilkan sumber energi melalui pelepasan fosfat ketiga dari adenosin trifosfat (ATP) dan membentuk adenosin difosfat (ADP), kemudian dapat beregenerasi kembali menjadi ATP melalui fosforilasi.



Gambar 3. Histologi Parenkim Paru-paru (Uhlén, 2015)

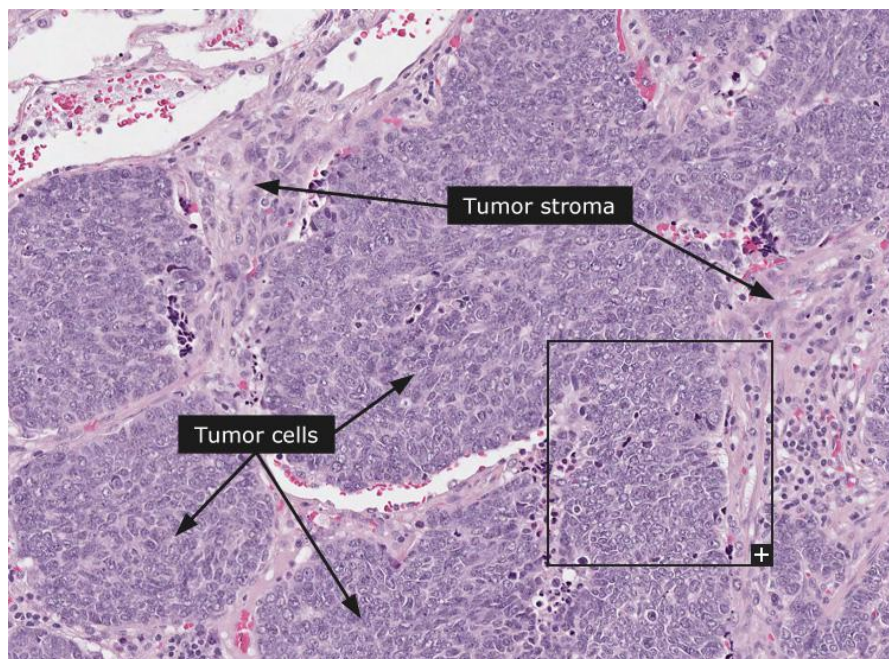
### 3. Histopatologi Paru-paru

Pada kasus kanker paru-paru umumnya penderita sudah didiagnosa pada kanker tahap akhir yang sudah terlanjur parah dan tidak dapat ditangani hanya dengan tindakan operasi. Gejala kanker paru-paru tidaklah spesifik, namun melalui analisis histopatologi, hal ini dapat diketahui secara dini. Menurut

Hanahan (2011), kanker paru-paru secara prinsipnya dapat dilihat dan dibedakan menjadi:

1. Adenokarsinoma, dicirikan dengan adanya pertumbuhan sel-sel tumor disepanjang lapisan dinding alveolus. Pada bagian dari adenokarsinoma menunjukkan produksi mukus yang berlebih dan meluas. Jenis-jenis adenokarsinoma pada paru-paru ditunjukkan dengan adanya perbedaan tingkat pleomorfisme, atypia (struktur sel yang tidak normal), laju pembelahan mitosis dan pembentukan struktur glandular. Semua perbedaan tersebut digunakan untuk menentukan tingkat diferensiasidari adenokarsinoma mulai dari kurang, sedang dan sudah berdiferensiasi.
2. *Squamous Cell Carcinoma* (Sel Karsinoma skuamosa), berasal dari metaplasia epitelium skuamosa pada bronkus yang dicirikan adanya keratinasi dan pembentukan struktur penghubung antar sel. Tingkatan diferensiasi sel skuamosa menunjukkan apakah karsinoma telah berdiferensiasi, sedang atau kurang terdiferensiasi.
3. *Non-Small Carcinoma Cell* (Sel Karsinoma besar), merupakan sel yang belum berdiferensiasi secara morfologi dan dicirikan dengan adanya pertumbuhan tumor dan adanya pleomorfisme sel (beragamnya ukuran, bentuk dan pewarnaan sel), serta kurang jelas arah diferensiasinya baik menuju adenokarsinoma maupun sel karsinoma skuamosa. Nekrosis, hemorrhage dan pembelahan mitosis banyak ditemukan pada jenis ini.
4. *Small Cell Carcinoma* (Sel karsinoma kecil), pada jenis ini sering ditunjukkan dengan terdapatnya nekrosis sel yang luas. Selain itu, adanya tumor neuroendokrin yang sangat agresif dengan diagnosa klinis yang

sangat sulit. Tanda-tanda dari diferensiasi neuroendokrin sulit untuk dilihat dan diagnosa umumnya berdasarkan penampakan morfologinya. Tumor ini dicirikan dengan adanya proliferasi dari sel-sel tumor primitif yang memiliki ukuran relatif kecil sebesar dua atau tiga kalinya ukuran limfosit. Tumor ini tumbuh dengan susunan yang acak pada populasi dan dipisahkan oleh septa serabut tipis.



Gambar 4. Histopatologi Sel Karsinoma Kecil (Uhlen, 2015).

## B. Onkogenesis

Sel-sel normal pada tubuh tanpa disadari sering terpapar oleh senyawa kimia karsinogenik, virus dan sinar UV (pada sel kulit). Terpaparnya sel oleh karsinogen, akan mengakibatkan kerusakan DNA pada sel. Sel yang rusak dapat memperbaiki DNA dan kembali menjadi sel normal yang sehat. Namun, sel yang rusak dapat juga melakukan apoptosis, yang merupakan program

kematian sel. Kerusakan pada rantai tunggal DNA akan mengaktifkan jalur p53 yang memicu apoptosis atau anti apoptosis. Apoptosis berperan penghapusan sel rusak yang tidak dapat diperbaiki dengan kematian sel yang telah terprogram. Kemudian di sisi lain, peningkatan p21 dapat memungkinkan sel untuk tetap hidup dan melakukan perbaikan DNA. Ketika terlalu sedikit terjadi apoptosis, dapat menyebabkan kanker atau penyakit autoimun. Sedangkan ketika terlalu banyak terjadi apoptosis, penyakit stroke atau penyakit degeneratif syaraf seperti Alzheimer dapat terjadi (Warhowsky, 2006)

Sel normal yang mengalami kerusakan DNA dapat “melarikan diri” dari apoptosis dan kemudian berubah menjadi sel yang sudah terinisiasi. Pembelahan sel yang telah terinisiasi dapat menghasilkan pembentukan lesi preneoplastik, yang dapat menjadi tumor ganas dengan ditambahkan paparan karsinogen atau promotor tumor. Proses perubahan sel normal menjadi sel kanker inilah yang dinamakan sebagai onkogenesis, atau disebut juga karsinogenesis atau tumorigenesis. Proses ini dapat dicirikan dengan adanya perubahan pada tingkat sel, genetik dan pembelahan sel yang abnormal (Warhowsky, 2006).

Untuk memulai proses onkogenesis, gen yang mengatur pertumbuhan sel dan diferensiasi harus berubah (Croce, 2008). Perubahan genetik dapat terjadi mulai dari peningkatan atau pengurangan keseluruhan kromosom, mutasi yang terjadi pada nukleotida tunggal DNA, hingga silencing atau mengaktifkan microRNA yang mengontrol ekspresi dari 100 sampai 500 gen

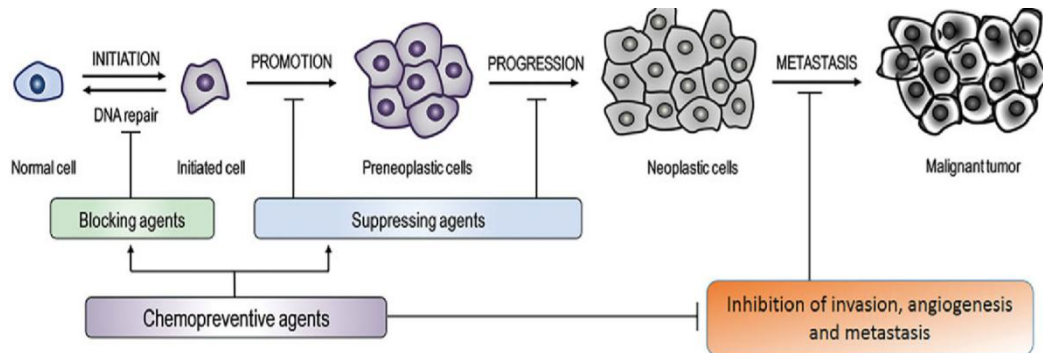
(Balaguer dkk, 2010). Ada dua kategori gen yang terpengaruh dari perubahan tersebut, yaitu :

1. Onkogen, merupakan gen normal yang ekspresinya tidak baik jika dalam level yang tinggi, atau gen tersebut berubah dan memiliki sifat baru. Di sisi lain, ekspresi dari gen ini memicu pertumbuhan sel kanker dengan fenotip yang ganas.
2. Gen supressor tumor, merupakan gen yang menghambat pembelahan, kelangsungan hidup, atau sifat lain dari sel kanker. Gen ini akan non-aktif jika terjadi perubahan genetik yang memicu kanker.

Menurut Correa dkk (2010), terdapat tiga tahapan pada proses onkogenesis yaitu :

1. Inisiasi, tahapan ini ditandai dengan adanya kerusakan DNA yang terjadi akibat dari karsinogen. Proses ini mengakibatkan mutasi genetik yang irreversible dan sel berpotensi menjadi ganas.
2. Promosi, tahapan ini merupakan perubahan tambahan pada genetik yang menyebabkan sel bertumbuh secara abnormal, ditandai dengan adanya ekspansi dari sel yang telah terinisiasi. Keberadaan promotor akan memicu pertumbuhan tumor dari sel tersebut. Pada tahapan ini proses promosi terjadi secara terus-menerus dan berulang-ulang, namun apabila keberadaan promotor dihilangkan, proses promosi akan berhenti dan bersifat reversibel.
3. Progresi, merupakan tahapan akhir dimana perubahan genetik terjadi dan proliferasi sel berlangsung. Tahap ini terjadi peningkatan ukuran tumor

dengan cepat dan sel-sel mengalami mutasi lebih parah lagi sehingga berpotensi invasif kepada jaringan lain dan melakukan metastasis.



Gambar 5. Tahapan Onkogenesis (Siddiqui dkk, 2015).

### C. Faktor Onkogenesis

Terdapat dua faktor yang menjadi penyebab terjadinya proses onkogenesis yaitu, faktor endogen seperti hormon dan faktor eksogen seperti paparan karsinogen. Ditemukan perbedaan rata-rata penderita kanker di seluruh dunia dan akan berubah ketika orang berpindah dari suatu negara ke negara lain. Hal ini akan memberikan petunjuk asal mula kanker tersebut. Sebagai contoh, orang Asia, Jepang misalnya, memiliki kasus kanker prostat dan payudara yang sedikit namun kasus kanker lambung yang banyak ditemukan pada negara itu (Henderson dkk, 1991). Ketika orang-orang Asia bermigrasi ke Amerika, kasus kanker prostat dan payudara mereka terus meningkat hingga menyamai di Amerika. Diketahui bahwa bahan makanan yang mungkin mempengaruhi perbedaan ini (Henderson dkk, 1991). Pola yang sama juga terjadi pada kanker lambung imigran Asia ke Amerika mengalami penurunan kasus hingga menyamai tingkat kasus yang ada pada masyarakat Amerika (Henderson dkk, 1991). Kurangnya aktivitas fisik, makanan yang banyak

mengandung daging merah, kuang sayur hijau dan kelebihan berat badan memiliki peran penting pada penyakit kanker prostat dan payudara (Henderson dkk, 1991). Infeksi bakteri *Helicobacter pylori*, makanan tinggi kandungan garam, dan makanan yang mengandung zat karsinogen merupakan faktor yang menginduksi terjadinya kanker lambung (Henderson dkk, 1991). Menariknya, peningkatan kasus kanker usus di Tiongkok dan Jepang menunjukkan adanya keterkaitan antara faktor lingkungan dengan jenis kanker ini.

Infeksi virus onkogenik juga menjadi salah satu faktor eksogen bagi proses onkogenesis (Butel, 2000). Infeksi virus hepatitis B, dengan maupun tidak dengan paparan aflatoksin B1 yang menyebabkan hepatokarsinoma di Afrika, RRT dan Mozambique (Butel, 2000). Infeksi virus papilloma spesifik menyebabkan karsinoma serviks. infeksi virus Epstein Barr menyebabkan limfoma dan juga karsinoma nasopharyngeal (Henderson dkk, 1991). Infeksi virus Human T Cell Leukimia Virus (HTLV) menyebabkan leukimia. Virus-virus onkogenik tersebut bertindak secara sinergis dengan karsinogen kimiawi untuk memulai proses onkogenesis pada organ tertentu (Butel, 2000).

Iatrogenik atau kanker yang disebabkan oleh usaha pengobatan seperti penggunaan sinar-X dan obat-obatan tertentu. Hal tersebut menjadi salah satu faktor eksogen bagi proses onkogenesis. Beberapa usaha pengobatan secara kimiawi dapat membasmi tumor primer, namun dapat menimbulkan tumor sekunder. Bleomycin, adriamycin, cyclophosphamide dan senyawa arsenik, semuanya itu merupakan obat kimiawi untuk kanker yang juga bersifat

karsinogenik. Namun, faktor iatrogenik (obat dan sinar-x) dan sinar UV ini pengaruhnya cukup kecil dalam menginduksi kanker, selain itu saat ini semakin hari mesin sinar-x lebih canggih dibandingkan yang dahulu dan penggunaan obat kimia yang baru, saat ini dengan efek samping yang lebih sedikit dan lebih tidak bersifat karsinogenik atau bahkan tidak sama sekali (Landolph dkk, 1996).

Faktor endogen atau faktor yang berasal dari dalam tubuh, juga menjadi penyebab dimulainya onkogenesis. Hormon Estrogen merupakan penyebab kanker payudara, testosterone dan metabolitnya menjadi penyebab kanker prostat. Selain itu, beberapa orang memiliki gen yang berubah dan diturunkan pada tubuh seperti gen retinoblastoma yang termutasi, yang dapat menginduksi kanker pada mata. Kanker diketahui juga sebagai penyakit yang disebabkan oleh metabolisme oksigen yang merubah jalur pembentukan energi (fosforilasi oksidatif) menjadi jalur pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Hal ini mengakibatkan perubahan energi dari fosforilasi oksidatif menjadi glikolisis anaerob dan akumulasi ROS yang dihasilkan menyebabkan stress oksidatif (Lopez, 2010). Stress oksidatif ini menyebabkan kerusakan DNA yang akan memulai proses pembentukan kanker atau onkogenesis.

#### **D. Mekanisme Onkogenesis pada Paru-paru**

Paparan asap rokok atau karsinogen lain, bersatu dengan faktor genetik, memulai proses terjadinya onkogenesis pada paru-paru. Tumor paru-paru



mengandung banyak perubahan dan sudah diketahui bahwa setiap 20 sampai 30 kejadian mutasi, hilangnya kromosom, amplifikasi gen, hipermetilasi promotor akan terjadi mengawali proses onkogenesis (Zochbauer, 2002). Mutasi yang terjadi pada kelompok gen RAS (HRAS, KRAS2 dan NRAS) merupakan mutasi yang paling sering ditemukan pada kanker. Sebesar 90% mutasi RAS pada kanker paru-paru terjadi di gen KRAS2, dengan 85% mutasi KRAS pada adenokarsinoma paru-paru terjadi secara spesifik pada kodon 12. Gen KRAS2 bermutasi sebanyak 30 hingga 50% dari adenokarsinoma paru-paru (Mills dkk, 1995). Namun, KRAS2 tidak sering bermutasi pada jenis kanker paru paru lain (Rodenhuis dan Slebos, 1992). Secara In vitro sel epitelium bronkus menunjukkan bahwa polisiklik aromatik hidrokarbon seperti Benzo(a)piren (BaP) yang ditemukan pada rokok memicu pembentukan penempelan DNA pada kodon 12 dan kerusakan pada kodon 12 di KRAS2 tersebut diperbaiki dengan tidak efektif dibandingkan kerusakan di tempat lain (Hu dkk, 2003).

Tumor supressor p53 dalam regulasi siklus sel, kendali apoptosis dan respon sel terhadap kerusakan DNA dan lainnya memainkan peran penting pada onkogenesis. Protein p53 merupakan faktor transkripsi yang dapat menginduksi transkripsi beberapa gen target dan menonaktifkan mutasi terjadi paling sering pada pengikatan DNA, menghilangkan kemampuan protein untuk mengikat DNA dan mengaktifkan transkripsi. p53 mengatur beberapa jalur yang secara normal fungsinya melindungi sel dari kerusakan DNA. Aktivasi p53 dapat disebabkan oleh beberapa sinyal termasuk kerusakan DNA, hiperploidi, dan hipoksia. Sebagai respon terhadap kerusakan DNA

seperti yang disebabkan karsinogen rokok, p53 diaktifkan secara langsung oleh *ataxia telangiectasia mutated* (ATM) kinase. Jalur yang terkait pada kontrol siklus sel dan apoptosis pada saat proses onkogenesis pada paru-paru, baik jalur TP53 maupun jalur Rb keduanya dapat menghambat aktivitas *cyclin dependent kinase* (CDK) yang berperan dalam kontrol siklus sel. Pengurangan ekspresi atau mutasi pada protein ini dapat memberikan efek negatif terhadap siklus sel dan menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali. TP53 juga berperan sebagai mediator pada apoptosis sel untuk merespon adanya kerusakan DNA, namun mutasi pada TP53 mengakibatkan sel yang rusak untuk tidak mengalami apoptosis.

#### **E. Kemopreventif**

kemopreventif kanker didefinisikan sebagai pencegahan kanker dengan cara administrasi salah satu atau lebih bahan kimia, baik sebagai obat-obatan maupun sebagai suplemen makanan. Pencegahan kanker primer yaitu mencegah terjadinya penyakit, yang umumnya dengan melindungi dari paparan agen penyebabnya. Hal ini dapat dilakukan dengan menghilangkan secara fisik dari sumber paparan atau pembuatan pelindung dan pembatas lainnya dari sumber penyebab. Kemopreventif ini yang menjadi pencegahan primer yang dapat menghalangi paparan penyebab kanker secara *in vivo*. Pencegahan kanker sekunder membutuhkan deteksi awal dan intervensi pada proses karsinogenik, idealnyaya, mengembalikan atau menghentikan proses penyakit lebih dulu pada gejala klinis yang ditimbulkan (De Flora dkk, 2001). kemopreventif juga menawarkan cara alternatif untuk mencegah kanker

sekunder. Berbagai agen kemopreventif sudah diketahui menjadi sebagai cara alternatif untuk pencegahan primer dan sekunder pada kanker.

Menurut Surh (2003), kemopreventif merupakan penggunaan obat, vitamin dan agen lainnya untuk mengurangi resiko, atau menunda perkembangan atau kambuhnya kanker. Perlu diketahui bahwa kemopreventif berbeda dengan kemoterapi, meskipun keduanya saling melengkapi satu sama lain dan definisi dari kemopreventif dapat diperluas yang termasuk pencegahan atau penghambatan munculnya resiko tumor. Untuk mendefinisikan kemopreventif dapat memperlambat proses onkogenesis nampaknya menjadi konsep yang valid bagi kebanyakan kanker ganas. Harapan dari kemopreventif pada tingkat sel adalah kendali pertumbuhan dan diferensiasi, pada tingkat jaringan adalah perbaikan lesi dan pada tingkat klinis adalah mengurangi pertumbuhan kanker dan akibat yang ditimbulkannya (Siddiqui dkk, 2015). Selain itu, kemopreventif menarik perhatian dari masyarakat karena harga yang lebih terjangkau dan langkah alternatif yang paling ulung dari kemoterapi.

Berdasarkan klasifikasi konvensional yang dikemukakan oleh Lee Wattenberg (Surh, 2003), agen kemopreventif dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu: agen penghalang dan agen penekan. Agen penghalang mencegah karsinogen mencapai sel target, melangsungkan aktivasi metabolik, atau berinteraksi dengan makromolekul penting pada sel seperti asam nukleat dan protein sinyal sel. Mereka dapat bertindak menonaktifkan atau memetabolisme karsinogen secara langsung, bersifat radikal bebas, atau

mengatur aktivitas enzim antioksidan sebaik memicu mekanisme perbaikan DNA (Surh, 2004). Di sisi lain, agen penekan menghambat perubahan sel yang terinisiasi, dengan berpotensi mempengaruhi tahap karsinogenesis yang akan datang, baik pada tahap promosi maupun progresi. Agen penekan ini akan menghalangi proliferasi sel dengan mengambil alih kendali beberapa jalur persinyalan transduksi. Mereka cenderung mengurangi atau menunda kemampuan sel kanker untuk bermetastasis dengan memicu apoptosis dan menghambat angiogenesis, invasi dan mekanisme penyebaran (Landis-Piwowar, 2014).

Kemajuan terhadap pemahaman proses onkogenesis memungkinkan identifikasi banyak molekul dan peristiwa yang mungkin dapat dijadikan sebagai target yang berpotensi bagi agen kemopreventif (Surh, 2004). Mekanisme kerja agen yang diduga bersifat kemopreventif yaitu senyawa fitokimia, kemampuan dari setiap senyawa fitokimia untuk mencegah perkembangan tumor harus dikenali sebagai hasil kombinasi dari efek kompleks intraseluler yang berbeda, dibandingkan respon biologis tunggal (Dorai, 2004).

## **F. Biologi Tumbuhan Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.)**

### **1. Klasifikasi Tumbuhan Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.)**

Klasifikasi tumbuhan Jeruju berdasarkan sistem klasifikasi Angiosperm Phylogeny Group II (2003) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Lamiales  
Suku : Acanthaceae  
Marga : *Acanthus*  
Jenis : *Acanthus ilicifolius* L.

## 2. Deskripsi Tumbuhan Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.)

Jeruju merupakan tanaman vegetasi mangrove yang dapat ditemukan tumbuh pada semua jenis tanah, terutama pada daerah berlumpur sepanjang tepi sungai atau pantai dan toleran terhadap naungan (Kovendan dan Murugan, 2011). Tumbuhan ini membentuk komunitas di daerah pasang surut (Gambar 6). Jeruju akan tumbuh baik jika berada di dekat komunitas mangrove dengan habitat tumbuh hutan bakau yang tersebar luas di berbagai wilayah pantai Indonesia (Aspan, 2010).



Gambar 6. Tumbuhan Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.)  
(dokumentasi pribadi, 2018)

Tumbuhan jeruju terdistribusi luas pada estuaria di Benua Asia, mulai dari India hingga Polinesia dan bagian utara Australia. Tumbuhan jeruju tumbuh berkelompok dan banyak ditemukan di sepanjang tepi muara dan laguna, di tanah berawa, serta hutan mangrove pesisir pantai (Valkenberg dan Bunyaphatsara, 2002). Daerah yang memiliki kadar air tawar yang tinggi, dan jarang terendam air pasang menjadi daerah habitat bagi jeruju. Selain itu, tumbuhan ini mampu tumbuh pada semua jenis tanah, terutama daerah berlumpur di sepanjang tepi sungai (Kovendan dan Murugan, 2011). Menurut Tomlinson (1986), perkembangbiakan jeruju cukup mudah dan meluas karena bereproduksi secara vegetatif dan akarnya yang menyebar secara horizontal. Oleh karena itu Jeruju termasuk ke dalam golongan tumbuhan mangrove sejati. Selain vegetatif, Jeruju dapat juga reproduksi secara generatif melalui pembentukan biji dari penyerbukan bunga yang dilakukan oleh burung ataupun serangga.

*Acanthus ilicifolius* merupakan tumbuhan herba rendah, terjurai di permukaan tanah, agak berkayu, ketinggian mencapai 2 m. Jeruju memiliki daun yang berduri dan terletak di bagian tangkai dengan permukaan daun halus, tepi daun bervariasi: zigzag/bergerigi besar-besar seperti gergaji atau agak rata dan secara gradual menyempit menuju pangkal. Letak daun berselang-seling, bentuk daun lanset serta lebar dengan ujung meruncing. Buah jeruju berwarna hijau saat masih muda dan berwarna kuning kecoklatan saat tua. Permukaan buah licin mengkilap dan berbentuk lonjong

seperti buah melinjo. Bunga jeruju memiliki warna mahkota bunga biru muda hingga lembayung (Noor dkk., 2006).

Secara etnobotani tumbuhan yang memiliki nama lokal jeruju, daruju, daruyu, darulu ini telah dimanfaatkan oleh penduduk pesisir pantai sejak lama sebagai obat, baik kulit, buah maupun daunnya (Kordi dan Gufron, 2012). Selain sebagai tumbuhan obat, *Acanthus ilicifolius* juga dapat dimanfaatkan sebagai bioindikator pencemaran lingkungan dengan menunjukkan kawasan mangrove yang rusak didominasi oleh jenis *Acanthus*. Tingkat kerusakan mangrove memiliki kaitan terhadap kelimpahan, kerapatan dan hadirnya *Acanthus ilicifolius* di suatu lokasi (Agoramoorthy dkk, 2009).

### **3. Fitokimia Daun Jeruju**

Berdasarkan berbagai uji spesifik fitokimia diketahui bahwa tumbuhan Jeruju mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada bagian organ tumbuhan terutama daun, akar, batang dan biji. Kanchanapoom dkk, (2001) menyatakan bahwa Jeruju mengandung senyawa glukosida, alkaloid, flavonoid, asam lemak, steroid, senyawa terpenoid dan fenolik/polifenolik,, yang mana beberapa senyawa ini merupakan golongan flavonoid.

Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Giorgio, 2000). Singh dan Aeri (2013) melaporkan bahwa senyawa kimia yang terkandung pada

berbagai bagian tanaman jeruju dengan berbagai metode ekstraksi dan penggunaan pelarut adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Senyawa pada beberapa bagian tumbuhan jeruju

Bagian Tumbuhan	Jenis Ekstrak	Senyawa
Bentuk Serbuk	Etanol	Alkaloid-Acanthicifoline
Akar	Etanol	Triterpenoid saponin
Daun	Metanol Aqueous	2-benzoxazolinone
Daun	Chloroform	Pentacyclic Triterpenoid sterol
Daun	Etanol	Methylaigenin 7-o-B-D-glucuronate- Flavone Glikosida
Daun	Metanol	Bisoxazolinone
Aerial (Bagian yang tidak tenggelam)	Metanol	Lignan Cyclolignan Glikosida
Kulit Biji	Metanol	1,4-benzoxazinone
Aerial Kering	Metanol	Benzoxazinoid Glukosida
Aerial Kering	Etanol	Alkohol Alifatik Glikosida (ilicifoliosida) Z-4-coumaric acid glikosida
Aerial Kering	Etanol	Feniletanoid Glikosida (ilicifoliosida) Alkohol alifatik
Batang	Hexane	Asam Lemak
Daun	Metanol	Asam Kumarat

Uji fitokimia tumbuhan jeruju juga dilakukan pada penelitian yang dilakukan oleh Avjit dkk (2012), menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia tumbuhan jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) menggunakan berbagai uji spesifik yang berbeda menunjukkan hasil sebagai berikut.



Tabel 2. Uji spesifik pada daun jeruju.

Uji Fitokimia	Uji Spesifik	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	A) Uji Mayer	+	Adanya Alkaloid
	B) Uji Dragendroff	+	
	C) Uji Wagner	+	
	D) Uji Hager	+	
Flavonoid	-	+	Adanya Flavonoid
Saponin	-	-	Tidak ada Saponin
Tanin	A) Uji besi klorida	+	Adanya Tanin
	B) Uji Potassium Dikromat	+	

## G. Biologi Tumbuhan Lamun

### 1. Klasifikasi Tumbuhan Lamun

Menurut Angiosperm Phylogeny Group III (2009) klasifikasi tumbuhan

Lamun adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Bangsa : Alismatales

Suku : Hydrocharitaceae

Marga : *Enhalus*

Jenis : *Enhalus acoroides*

### 2. Deskripsi Tumbuhan Lamun

Lamun merupakan termasuk ke dalam kelompok tumbuhan Angiospermae dan Monokotil. Tumbuhan ini mampu hidup secara permanen di bawah permukaan air laut. Lamun merupakan satu-satunya tumbuhan berbunga

(Angiospermae) yang memiliki rhizoma, daun, dan akar sejati yang hidup terendam di dalam laut beradaptasi secara penuh di perairan yang salinitasnya cukup tinggi atau hidup terbenam di dalam air, beberapa ahli juga mendefinisikan lamun sebagai tumbuhan air berbunga, hidup di dalam air laut, berpembuluh, berdaun, berimpang, berakar, serta berbiak dengan biji dan tunas (Fitriana, 2007).



Gambar 7. Tumbuhan Lamun (*Enhalus acoroides*)  
(dokumentasi pribadi, 2018)

Lamun memiliki sistem perakaran yang nyata, dedaunan, sistem transportasi internal untuk gas dan nutrient, serta stomata yang berfungsi dalam pertukaran gas. Tumbuhan ini memiliki akar yang tidak berfungsi utama dalam pengambilan air karena daun dapat menyerap air secara langsung dari dalam air laut. Sistem perakaran lamun dapat menyerap nutrient dan melakukan fiksasi nitrogen melalui tudung akar. Untuk menjaga supaya lamun dapat melayang di dalam air, jaringan tumbuhan ini dilengkapi oleh rongga udara (Dahuri, 2003).

Pada ekosistem yang tersusun oleh lamun, rantai makanan terdiri dari tingkat-tingkat trofik yang mencakup proses dan pengangkutan bahan organik dari ekosistem lamun ke konsumen tingkat selanjutnya. Sumber bahan organik dihasilkan oleh lamun itu sendiri, selain tambahan dari epifit dan alga makrobentos, fitoplankton dan tanaman darat. Bahan organik tersebut dikonsumsi oleh fauna melalui perumputan (*grazing*) atau pemanfaatan detritus (Romimohtarto dan Juwana, 2009). Pola hidup lamun yang sering hidup berkelompok membentuk hamparan maka dikenal juga istilah padang lamun (*Seagrass bed*), yaitu hamparan vegetasi lamun yang menutup suatu area pesisir/laut dangkal (Gambar 8), terbentuk dari satu jenis atau lebih dengan kerapatan yang padat maupun jarang.



Gambar 8. Padang Lamun (*Seagrass bed*) (McKenzie dan Yoshida, 2009)

Lamun umumnya membentuk padang lamun yang luas di dasar laut yang masih mendapat pencahayaan cukup baik dari matahari untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhannya. Selain itu, Lamun tumbuh pada perairan yang memiliki sirkulasi air yang baik dan jernih. Air yang bersirkulasi diperlukan

untuk menghantarkan zat-zat hara dan oksigen, serta mengangkut hasil metabolisme lamun ke luar daerah padang lamun (Denhartog, 1970).

### 3. Fitokimia Pada Lamun

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pada lamun ditemukan beberapa senyawa aktif yang memiliki struktur kimia yang unik dan bersifat antimikroba, diantaranya ialah tannin, saponin, terpena, alkaloida, dan glikosida (El-Haddy dkk., 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Qi dkk (2008), menemukan kandungan senyawa aktif utama yang terdapat pada lamun jenis *Enhalus acoroides* ialah berupa senyawa flavonoid dan steroid. Rumiantin (2010) juga menemukan bahwa *Enhalus acoroides* mengandung senyawa fenol hidrokuinon, tanin, dan saponin.

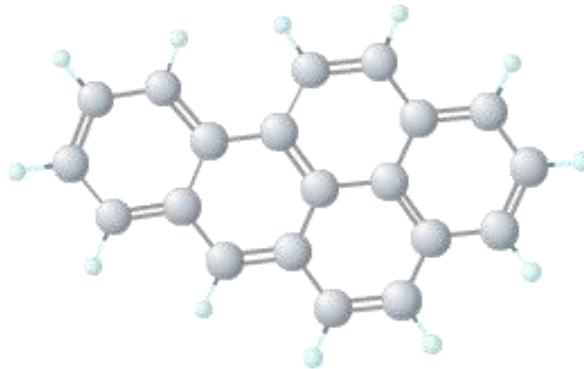
### H. Polisiklik Aromatik Hidrokarbon

Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) merupakan senyawa organik yang terbentuk selama proses pembakaran yang tidak sempurna. PAH dapat juga dihasilkan secara geologis ketika endapan organik diubah secara kimiawi menjadi bahan bakar fosil seperti minyak bumi dan batu bara (Ravindra dkk, 2008). PAH dapat ditemukan pada lingkungan dan dapat terbentuk dari sumber alami atau pembakaran (Abdel-Shafy, 2016). Kebanyakan PAH tidak larut dalam air, yang membuat pergerakan di lingkungan menjadi terbatas.

Struktur PAH mempengaruhi senyawa tersebut bersifat karsinogenik Baird dkk 2015. Beberapa PAH karsinogenik merupakan genotoksik dan

menginduksi mutasi yang memulai kanker, namun beberapa tidak bersifat genotoksik dan malah memicu tahap promosi atau progresi. (Baird dkk, 2015). PAH yang dapat mempengaruhi proses inisiasi umumnya secara kimia diubah oleh enzim menjadi metabolit yang dapat bereaksi dengan DNA, untuk mengakibatkan mutasi. Ketika sekuens DNA di dalam gen yang mengatur pembelahan sel berubah, akan menghasilkan kanker. Senyawa mutagen dari PAH seperti benzo(a)pyrene, biasanya memiliki empat atau lebih cincin aromatik yang disebut sebagai “*bay region*”, sebuah struktur yang meningkatkan reaktivitas molekul terhadap enzim metabolisme (Xue dan Warhowsky, 2005).

Hasil metabolisme PAH yang bersifat mutagen yaitu diol epoksida, quinon, dan kation radikal PAH. Metabolit ini dapat berikatan dengan DNA di tempat yang spesifik, membentuk kompleks besar bernama DNA *adduct* yang dapat stabil atau tidak stabil (Henkler, 2012). DNA *adduct* yang stabil menyebabkan replikasi DNA menjadi gagal, sedangkan DNA *adduct* yang tidak stabil akan bereaksi dengan rantai DNA menghilangkan basa purin baik adenin maupun guanin (Henkler, 2012). Sama halnya dengan mutasi, jika tidak diperbaiki, maka dapat mengubah kode gen dari protein persinyalan sel normal menjadi onkogen penyebab kanker (Baird dkk, 2015). Quinon juga dapat terus menerus menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang secara langsung merusak DNA (Xue dan Warhowsky, 2005).



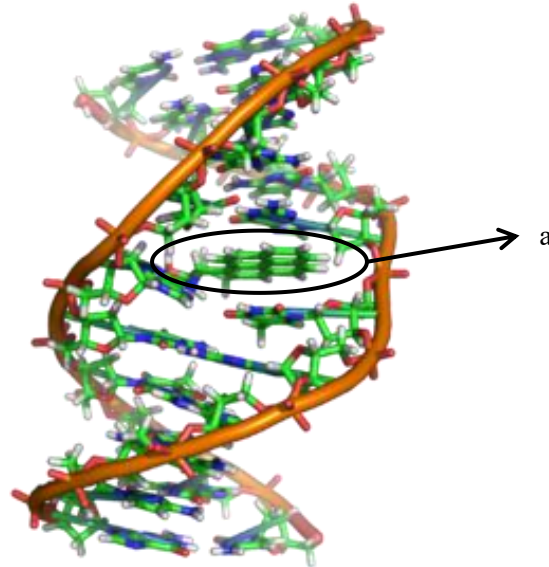
Gambar 9. Struktur Kimia BaP (PubChem, 2019)

Benzo( $\alpha$ )piren merupakan senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yang dihasilkan dari proses pembakaran tidak sempurna pada temperatur antara 300°C dan 600°C. Senyawa yang memiliki rumus kimia  $C_{20}H_{12}$  ini terbentuk dari cincin benzene yang berfusi dengan pyrene. Senyawa metabolit BaP ini yang biasa disebut BPDE dapat bereaksi dan berikatan dengan DNA, kemudian menyebabkan mutasi dan kanker. Dengan demikian metabolit dari BaP ini yang sangat bersifat mutagenik

Proses metabolisme dan distribusi benzo( $\alpha$ )piren dalam tubuh terjadi secara bertahap dan dalam waktu yang relatif berbeda untuk tiap jenis makhluk hidup. Penelitian pada tikus, benzo( $\alpha$ )piren dapat menginduksi kanker dan menunjukkan proses distribusi benzo( $\alpha$ )piren bertahap yang berlangsung cepat. Benzo( $\alpha$ )piren masuk melalui proses inhalasi, dan secara berurutan ditemukan dalam kadar yang tinggi pada hati, esophagus, usus kecil, dan mencapai darah 30 menit setelah pemaparan (Faust dan Reno, 1994).

Metabolisme enzimatik BaP (diol epoksida), dapat berikatan dengan DNA secara kovalen pada basa guanin (G) (Volk, 2003). Penelitian dengan sinar-X

kristalografi dan resonansi magnetik nuklir menunjukkan struktur DNA yang berikatan dengan BaP. Struktur ini dapat dilihat pada Gambar 9.



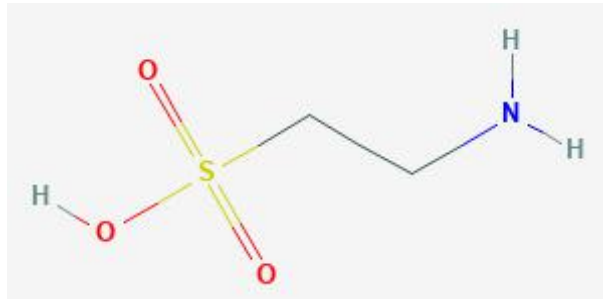
Gambar 10. a : Sisi DNA yang berikatan dengan BaP (Pradhan, 2001)

Ikatan BaP dengan DNA merusak struktur *double helix* DNA, hal ini mengganggu proses replikasi DNA sehingga menyebabkan mutasi yang memulai berjalannya proses onkogenesis.

## I. Taurin

Taurin (Tau; *2-aminoethanesulfonic acid*) pertama kali diketahui sebagai nutrisi esensial bagi kucing pada tahun 1975 (Hayes dkk, 1975). Saat ini, taurin telah digunakan sebagai agen antipiretik dan anti-inflamasi, untuk mengobati penyakit hepar dan empedu, cardiovascular, diabetes, katarak dan lainnya (Zhang dkk, 2014). Taurin dapat melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oksidan kuat dan agen sitotoksik (Mates dkk. 2012). Oleh karena itu, taurin memiliki sifat antioksidan yang menghambat peningkatan reactive

oxygen species (ROS) pada tumor, dengan menunda perkembangan kanker (Mates dkk, 2012).



Gambar 11. Struktur Kimia Taurin (PubChem, 2019)

Taurin menghambat pertumbuhan kanker secara *in vivo* dengan meningkatkan aktivitas dari enzim *superoxide dismutase* (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase, serta mengurangi konsentrasi ROS pada sel yang kemudian dapat menghambat pertumbuhan kanker (Yu dan Kim, 2009). Eksplorasi lebih lanjut mekanisme molekuler taurin dalam menginduksi apoptosis sel kanker menunjukkan bahwa taurin meningkatkan ekspresi gen supresor tumor (Bax, PUMA) dan menghambat ekspresi onkogen (Bcl-2) sehingga aktivitas caspase-3/9 meningkat. Selain itu, taurin juga telah diketahui tidak menghambat aktivitas sel embrionik manusia. Hal ini menunjukkan bahwa taurin dapat menjadi agen kemopreventif yang ideal, karena dapat membunuh sel kanker tanpa menimbulkan efek toksik pada sel normal.

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

Berikut ini merupakan klasifikasi mencit menurut Penn (1999) :

Kerajaan : Animalia



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



Gambar 9. Mencit (*Mus musculus* L.) (dokumentasi pribadi, 2018)

Mencit (*Mus musculus*) adalah anggota Muridae (tikus-tikusan) yang berukuran kecil (Gambar 9). Panjang tubuh mencit berkisar 7,5-10 cm dengan luas permukaan tubuh 36 cm<sup>2</sup>. Lama hidupnya 1-3 tahun, dimana pada usia 35 hari mencit sudah termasuk kategori dewasa. Mencit jantan dewasa memiliki berat badan 20-40 gram dan mencit betina dewasa 18-35 g. Waktu dewasa seksual mencit kurang lebih 60 hari, dan usia maksimum mencit adalah 1-2 tahun. Masa kebuntingan mencit adalah 19-21 hari dan jumlah anak yang dilahirkan berkisar antara 6-15 ekor. Mencit jantan dan betina dapat dibedakan dengan mudah, yaitu dengan mengamati alat kelaminnya. Mencit

betina memiliki jarak yang pendek antara anus dan lubang genital eksternalnya (Armitage, 2004). Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari daripada siang hari (Rugh, 1990).

Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencit adalah hewan yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004). Mencit dipilih sebagai subyek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Meskipun mencit mempunyai struktur fisik dan anatomi yang jelas berbeda dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia terutama dalam mekanisme selulernya.

### **III. METODE PENELITIAN**

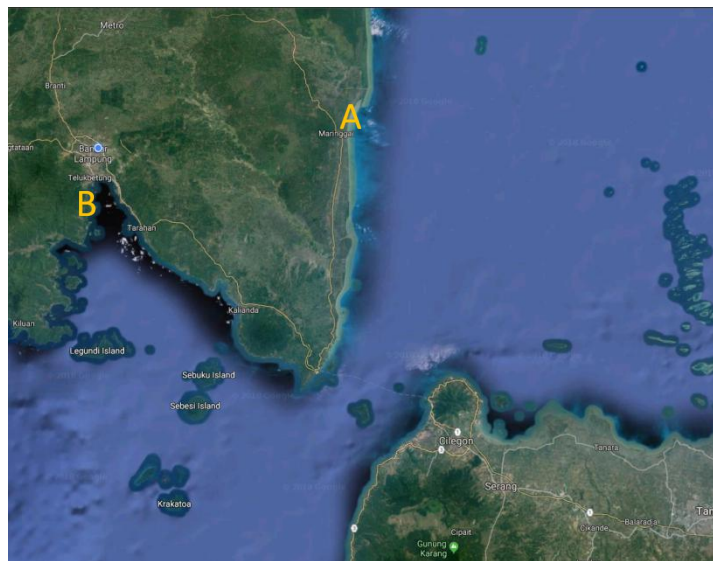
#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember hingga Januari 2018. Dimulai dengan tahapan preparasi, yaitu proses maserasi daun Jeruju dan Lamun yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Tahapan selanjutnya yaitu, proses aklimatisasi, penginduksian BaP dan pemberian ekstrak lamun dan jeruju serta tahapan intermediet, yaitu pengambilan sampel darah, penghitungan jumlah eritrosit dan leukosit, diferensial leukosit serta nekropsi dilakukan di Laboratorium Biomolekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Tahapan akhir berupa pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

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

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 ekor mencit jantan usia 3 bulan dengan berat badan  $\pm$  30 - 40 gram (diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III, Lampung), pakan mencit berupa pur

BR-II, air minum, BaP (Sigma-Aldrich, Singapura), minyak jagung (untuk melarutkan BaP), taurin, larutan CMC 1% (untuk melarutkan taurin, pasta daun jeruju dan lamun), metanol *pro-analys* (Merck) dan kloroform (sebelum proses nekropsis daun jeruju yang diperoleh dari Mangrove Center, Kab. Lampung Timur, lamun yang diperoleh dari Pantai Sari Ringgung, Kab. Pesawaran. Pada gambar di bawah ini lokasi pengambilan daun jeruju (A) dan lamun (B) adalah sebagai berikut.



Gambar 13. Lokasi Pengambilan Bahan Uji

Bahan untuk penghitungan eritrosit, leukosit dan differensial leukosit, berupa larutan Hayem, larutan Turk, metanol dan giemsa serta bahan untuk pembuatan preparat histopatologi berupa garam fisiologis, formaldehida, alkohol bertingkat (70%, 96 % dan alkohol absolut), xylol, paraffin, pewarna Hematoxylin - Eosin dan entelan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set pembuatan ekstrak (ember plastik, mesin penggiling atau *grinder*, corong plastik, corong buchner, kertas saring, erlenmeyer, evaporator, cawan petri, gelas ukur dan aluminium

foil), oven (untuk memastakan ekstrak), satu set pemeliharaan mencit (bak plastik, penutup kawat, wadah minuman, wadah pakan), neraca analitik, jarum suntik atau *syringe* (untuk administrasi BaP), sonde lambung (untuk administrasi oral ekstrak daun jeruju dan lamun), set pengambilan sampel darah (jarum suntik, kapas, mikropipet, mikrotip, tabung EDTA, tissue), set alat nekropsi (pinset, gunting, pins, papan bedah, tabung sampel, gelas arloji), set pengecekan profil darah (mikrotube, haemositometer, gelas penutup, chamber sebagai wadah metanol dan giemsa dan mikroskop), set pembuatan prepatat histopatologi (*embedding cassette*, *waterbath*, mikrotom, gelas objek, gelas penutup) serta kamera untuk mengambil data.

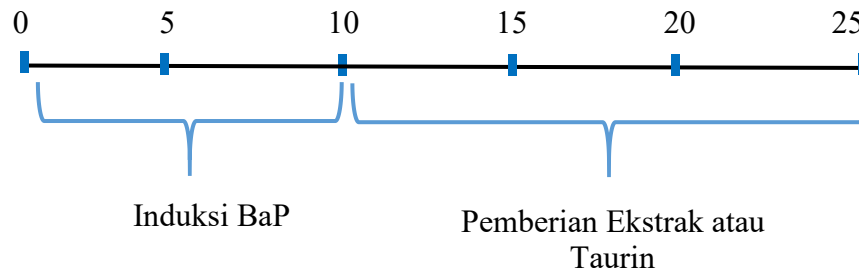
### C. Metode Penelitian

Adapun kelompok percobaan tersebut adalah sebagai berikut :

- K1 : Kelompok yang digunakan sebagai kontrol negatif, hanya diberikan makan dan minum hingga akhir penelitian.
- K2 : Kelompok yang digunakan sebagai kontrol positif, diinduksi BaP dengan dosis 0,3 mg/ekor selama 10 hari dan tidak diberikan ekstrak daun jeruju dan lamun serta taurin.
- K3 : Kelompok yang diinduksi BaP selama 10 hari kemudian diberikan taurin dengan dosis 15,6 mg/ekor selama 15 hari
- K4 : Kelompok perlakuan yang diinduksi BaP selama 10 hari kemudian diberikan ekstrak daun jeruju dengan dosis 24,5 mg/ekor selama 15 hari

K5 : Kelompok perlakuan yang diinduksi BaP selama 10 hari kemudian diberikan ekstrak lamun dengan dosis 8,7 mg/ekor selama 15 hari

Rancangan ekperimental pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar lini masa berikut ini.



Gambar 14. Lini Masa Pemberian Bahan Uji

## D. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini berupa mencit (*Mus musculus L.*) jantan sebanyak 25 ekor, berumur 3 bulan dengan berat rata-rata 25 hingga 30 gram yang diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III (BPPV), Bandar Lampung. Mencit dipelihara secara individu dalam kandang bak plastik berukuran 20x30 cm dengan penutup berbahan kawat yang dilengkapi dengan tempat air minum dan wadah pakan. Pakan mencit diukur sebanyak 14 mg/hari.

Sebelum perlakuan dimulai, dilakukan proses aklimatisasi selama 10 hari. Hal ini bertujuan agar mencit sudah beradaptasi dengan lingkungan baru dan tidak mengalami stress. Setiap lima hari berat badan mencit ditimbang, dimulai dari berat badan awal. Selanjutnya mencit dikelompokkan dalam

lima kelompok dan diberikan perlakuan sesuai dengan rancangan percobaan.

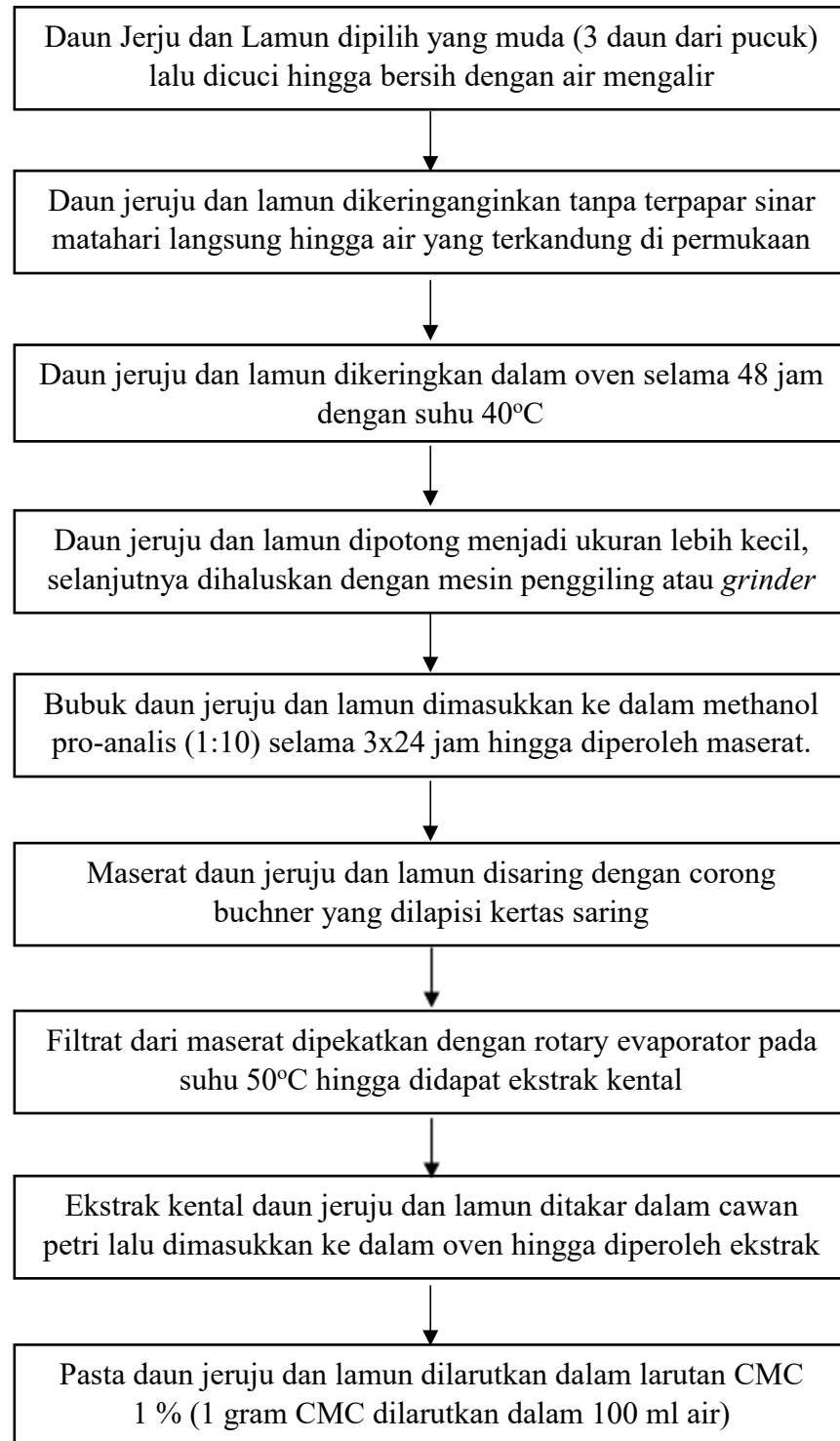
Kandang mencit kelompok percobaan diatur secara berkelompok. Tiap kelompok kandang terdiri dari setiap satu ekor mencit kelompok percobaan. Pengelompokan kandang ini bertujuan untuk memudahkan jadwal kegiatan penelitian yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Pengelompokkan Kandang Mencit

<b>Kelompok Kandang</b>	<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Jumlah</b>
Set 1	K1 <sub>1</sub> , K2 <sub>1</sub> , K3 <sub>1</sub> , K4 <sub>1</sub> , K5 <sub>1</sub> ,	5 Ekor
Set 2	K1 <sub>2</sub> , K2 <sub>2</sub> , K3 <sub>2</sub> , K4 <sub>2</sub> , K5 <sub>2</sub> ,	5 Ekor
Set 3	K1 <sub>3</sub> , K2 <sub>3</sub> , K3 <sub>3</sub> , K4 <sub>3</sub> , K5 <sub>3</sub> ,	5 Ekor
Set 4	K1 <sub>4</sub> , K2 <sub>4</sub> , K3 <sub>4</sub> , K4 <sub>4</sub> , K5 <sub>4</sub> ,	5 Ekor
Set 5	K1 <sub>5</sub> , K2 <sub>5</sub> , K3 <sub>5</sub> , K4 <sub>5</sub> , K5 <sub>5</sub> ,	5 Ekor

## 2. Persiapan dan Pembuatan Bahan Uji

### 2.1. Pembuatan Ekstrak Daun Jeruju dan Lamun



Gambar 15 Proses Ekstraksi Daun Jeruju Dan Lamun



## 2.2. Persiapan Taurin

Dalam penelitian ini, dosis taurin per hari yang digunakan dua kali dosis normal, yaitu 15,6 mg/ekor. Dosis ini diperoleh dari hasil konversi dosis manusia ke mencit menggunakan nilai 0,0026 (Nugraha, 2011). Menurut Shao dan Hathcock (2008), dosis taurin untuk manusia yaitu sebesar 3g/kg berat badan (BB) Dengan demikian perhitungan konversi dosis manusia ke mencit yaitu sebagai berikut.

$$2 \times \text{Dosis Taurin} = 2 \left[ \frac{3000\text{g}}{1000\text{gBB}} \right] \times 0,0026 = 15,6\text{g/ekor}$$

## 3. Induksi PAH pada Hewan Uji

Jenis PAH yang digunakan pada penelitian ini yaitu benzo(a)piren. Senyawa ini diinduksikan ke mencit dengan administrasi injeksi subkutan (menyuntikkannya pada bagian tengkuk mencit). Dosis benzo(a)piren yang digunakan adalah 0,3 mg/ekor/hari dilarutkan dalam 0,2 ml minyak jagung. Semua kelompok percobaan diinduksi benzo(a)piren kecuali kontrol negatif [K1] dan kelompok C(2) selama 10 hari dan dilanjutkan dengan pemberian bahan uji selama 15 hari.

## 4. Pemberian Ekstrak Daun Jeruju dan Lamun

Pemberian kedua ekstrak ini dilakukan selama 15 hari, dimulai dari hari penelitian ke-11 setelah aklimatisasi. Sebelum dilakukan administrasi oral, penentuan dosis harus dilakukan terlebih dahulu. Dosis Jeruju yang digunakan pada penelitian ini yaitu 22,4 mg/ekor sedangkan untuk Lamun

yaitu 8,4 mg/ekor. Selanjutnya, pasta ekstrak tersebut dilarutkan dalam larutan CMC 1%. Jadi dapat dikatakan bahwa, di setiap kali pencekohan, sebanyak 0,2 ml ekstrak bahan uji di dalamnya.

## **5. Pemberian Taurin**

Pemberian taurin dilakukan selama 15 hari, dimulai dari hari penelitian ke-sebelas. Setelah dilakukan perhitungan dosis yang sesuai, 15,6 mg/ekor/hari, taurin dilarutkan dalam akuades (Agata, 2017).

## **6. Pengamatan Berat Badan dan Berat Basah Paru-paru Mencit**

Pengamatan berat badan mencit dilakukan setiap lima hari sejak satu hari setelah aklimatisasi, yaitu hari ke-1, ke-5, ke-10, ke-15, ke-20 dan ke-25. Pengamatan berat basah paru-paru dilaksanakan di hari terakhir perlakuan, yaitu setelah hewan uji dilakukan euthanasia dengan *cardiac puncture*

## **7. Pengambilan Sampel Darah Mencit**

Pengambilan sampel darah dilakukan sebanyak dua kali, yaitu di awal sebelum administrasi BaP dan akhir penelitian sebelum nekropsis.

Pengambilan sampel darah awal diambil melalui vena ekor sedangkan pengambilan sampel darah akhir diambil melalui proses *cardiac puncture*, menggunakan jarum suntik. Setelah itu, darah yang didapat langsung dimasukkan ke dalam tabung EDTA dan dibuat apusan darah pada *object glass* untuk perhitungan diferensial leukosit.

## 8. Nekropsi dan Pengambilan Sampel Organ

Nekropsi dilakukan setelah mencit dieuthanasia dengan cara *cardiac puncture*. Saat mencit dinekropsi, organ paru-paru langsung diambil dan dicuci dengan larutan ringer laktat, kemudian dimasukkan ke botol sampel berisi formalin 10% supaya organ dapat terfiksasi.

## 9. Analisis Penghitungan Jumlah Total Eritrosit, Leukosit dan Differensial Leukosit

### 9.1. Eritrosit

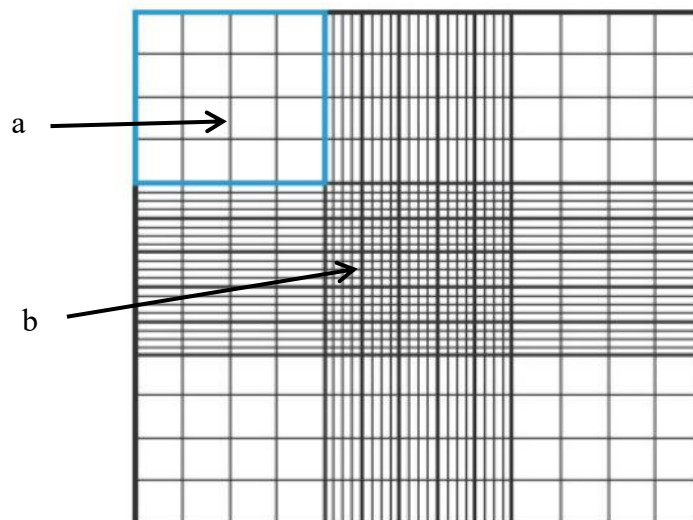
Pengamatan eritrosit menggunakan haemositometer. Larutan yang digunakan adalah *Hayem* sebagai larutan fisiologis yang terdiri dari NaCl 1 g, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 g, HgCl<sub>2</sub> 0,5 g dan akuades 200 ml. Larutan fisiologis ini digunakan untuk mengencerkan darah sehingga darah bisa dihitung karena harus bersifat isotonis dan fiksatif terhadap eritrosit.. Tetes darah pertama dibuang, tetes darah berikutnya dihisap dengan haemositometer sampai batas 0,5 atau 1. Hisap larutan pengencer sampai angka 11, suspensi dikocok sampai larutan menjadi berwarna merah di dalam tabung). Tetes pertama suspensi darah dibuang terlebih dahulu, setelah itu tetes darah berikutnya diteteskan pada bagian pinggir gelas penutup. Dihitung jumlah eritrosit 5 kotak kecil pada kotak besar di tengah (Gambar 16, b).

### 9.2. Leukosit

Penghitungan jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan pipet Thoma leukosit. Sampel darah yang diberi anti koagulan EDTA

dihisap dengan pipet sampai tanda “0,5”. Pipet kemudian dicelupkan ke dalam larutan *Turk* dihisap sampai tanda “11” sehingga diperoleh pengenceran 1 : 20. Pipet dibolak-balik selama kurang lebih 3 menit dengan membentuk seperempat lingkaran, kemudian 2-3 tetes darah yang pertama dibuang.

Selanjutnya darah diteteskan dipinggir kamar hitung. Kamar hitung dibiarkan satu menit yang bertujuan untuk melisiskan eritrosit dan memberi kesempatan kepada leukosit untuk menempati kamar hitung. Penghitungan leukosit dilakukan dengan bantuan mikroskop perbesaran 40x pada empat kotak besar dari kamar hitung (Gambar 16, a). Jumlah leukosit tiap milimeter kubik ( $\text{mm}^3$ ) adalah jumlah sel terhitung dikalikan dengan 50 (Tambur, 2006).



Gambar 16. Kamar Hitung Hemositometer

### 9.3. Differensial Leukosit

Darah yang diambil menggunakan mikropipet dibuat apusan dengan cara menggosokkan darah yang telah diletakkan pada gelas objek

dengan gelas objek lainnya perlahan. Selanjutnya dilakukan proses fiksasi, menggunakan methanol selama lima menit, kemudian dilakukan pewarnaan giemsa selama 30 menit. Preparat apusan darah ini dapat diamati jelas pada perbesaran 400x dan 1000x (menggunakan minyak imersi).

## **10. Pembuatan Preparat Histopatologi Paru-paru Mencit**

Proses pembuatan preparat histopatologi dilakukan menggunakan acuan (Yunadir, 2008). Proses pembuatan preparat terdiri dari beberapa langkah, yaitu tahap fiksasi, tahap dehidrasi, tahap embedding, tahap cutting, tahap staining dan tahap mounting

### **10.1 Fiksasi**

Fiksasi jaringan bertujuan untuk mematikan sel dan mengeraskan jaringan secara cepat, sehingga jaringan tidak mengalami autolisis atau membusuk. Potongan organ paru-paru yang telah dipilih dimasukkan ke dalam larutan fiksatif yaitu formalin 10% dengan volume 20 kali volume organ. Setelah dilakukan fiksasi, organ paru-paru dicuci dengan air mengalir.

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

Dehidrasi diawali dengan memotong paru-paru menjadi ukuran lebih kecil yaitu  $\pm 3$  mm, kemudian dimasukkan kedalam embedding cassette. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam organ paru-paru 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.

### **10.3 Embedding**

Parafin cair disiapkan dan dimasukkan ke dalam cangkir logam, lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu di atas 58°C dan dituangkan ke dalam pan. Setelah itu, pan dimasukkan ke dalam air. Kemudian parafin yang berisi potongan organ paru-paru 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.

### **10.4 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 atau lipatan 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.

### **10.5 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 ke dalam xylol IV dan V masing-masing selama 5 menit.

### **10.6 Mounting**

Setelah pewarnaan selesai slide jaringan ditempatkan di atas kertas tisu ada tempat datar, dan ditetesi dengan bahan mounting yaitu

entelan kemudian ditutup dengan *cover glass*. Dalam proses ini jangan sampai terbentuk gelembung udara pada preparat histopatologi paru-paru.

### **10.7 Pengamatan histopatologi**

Preparat histopatologi paru-paru diperiksa di bawah mikroskop cahaya (Nikon Eclipse-E100) dengan perbesaran 400x. Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah prosedur *double blinded* (Ali, 2007).

## **11. Pengujian Kandungan Fitokimia Daun Jeruju dan Lamun**

### **11.1. Uji Saponin**

Sebanyak 0,5 ml sampel + 5 ml akuades, kemudian dikocok selama 30 detik. Hasil Uji positif menunjukkan adanya busa.

### **11.2 Uji Steroid**

Sebanyak 0,5 ml sampel + 0,5 ml Asam asetat glasial + 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hasil uji positif menunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi biru atau ungu

### **11.3 Uji Terpenoid**

Sebanyak 0,5 ml sampel + 0,5 asam asetat glasial + 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hasil uji positif menunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi merah atau kuning



**11.4 Uji Tanin**

Sebanyak 1 ml sampel + 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$ . Hasil uji positif menunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi hitam kebiruan

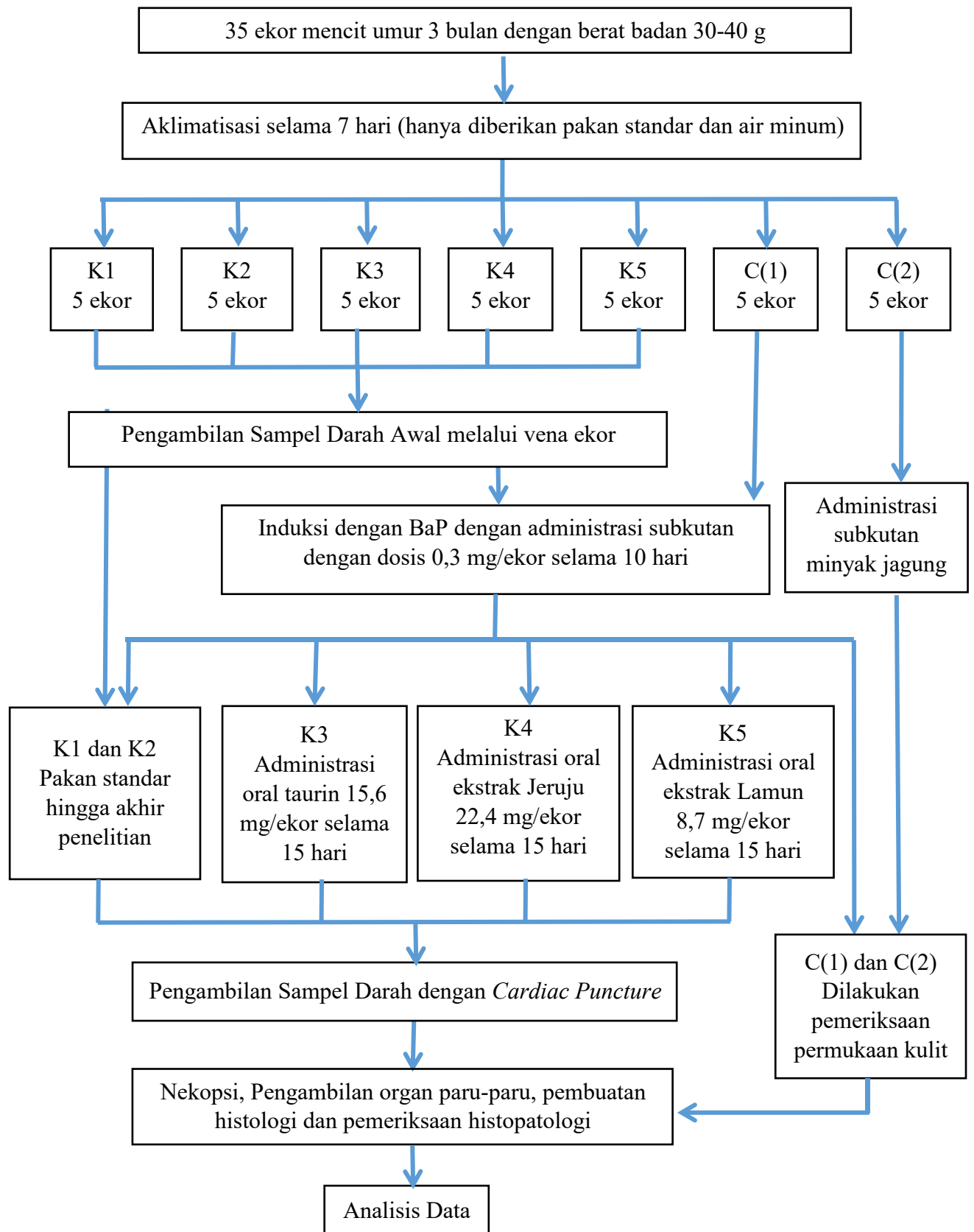
**11.5 Uji Alkaloid**

Sebanyak 0,5 ml sampel + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer (1g KI dilarutkan dalam 20 ml akuades dan ditambahkan 0,271 g  $\text{HgCl}_2$  hingga larut) Hasil uji positif menunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi putih kecoklatan

**11.6 Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,5 ml sampel + 0,5 g serbuk Mg + 5 ml HCl pekat yang ditambahkan setetes demi tetes. Hasil uji positif menunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi merah atau kuning dan terbentuk busa.

### E. Diagram Alir Penelitian



Gambar 17. Diagram Alir

## F. Parameter Penelitian

Parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu :

### 1. Rerata Berat Badan Mencit (*Mus musculus L.*)

Pengukuran rerata berat badan mencit dilakukan sebanyak enam kali, yaitu pengukuran berat badan mencit hari ke-1, hari ke-5, hari ke-10 (berat badan mencit setelah 10 hari diinduksi benzo( $\alpha$ )piren, hari ke-15, hari ke-20, dan hari ke-25 (berat badan mencit setelah 15 hari pemberian ekstrak daun jeruju, lamun dan taurin).

### 2. Rerata Berat Basah Organ Paru-Paru Mencit (*Mus musculus L.*)

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

### 3. Rerata Nilai Indeks Organ Mencit (*Mus musculus L.*)

Perhitungan nilai indeks paru-paru mencit dilakukan dengan rumus berikut :

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

### 4. Gambaran Histologi Sel Paru-Paru Mencit (*Mus musculus L.*)

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

Tabel 4. Skor Tingkat Kerusakan Sel Paru-paru

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

### 5. Perhitungan 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 Thoma. Larutan Hayem digunakan sebagai larutan fisiologis. Larutan ini terdiri dari NaCl 1 g, NaSO<sub>4</sub> 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:

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

Keterangan : Ne = Jumlah eritrosit dalam satu kotak menengah  
P = Pengenceran (Tambur, 2006)

## 6. Perhitungan 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<sup>3</sup> adalah jumlah sel yang terhitung dikalikan dengan 50 (Tambur, 2006).

## 7. Diferensial 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 Giemsa 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 Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf nyata 5% ( $p \leq 0,05$ ) untuk melihat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan maka, dilanjutkan dengan uji LSD (*least significant difference*) pada taraf nyata 5%.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut.

1. Pemberian bahan uji yang paling efektif dalam menghambat proses onkogenesis dengan mencegah kerusakan jaringan paru-paru akibat induksi BaP secara berturut-turut adalah taurin, ekstrak metanol daun jeruju, dan ekstrak metanol lamun.
2. Pemberian ekstrak metanol daun jeruju memiliki potensi sebagai agen kemopreventif terhadap onkogenesis pada paru-paru mencit yang terpapar PAH dengan mempertahankan jumlah eritrosit dan leukosit dalam kisaran normal, serta meminimalisir kerusakan jaringan paru-paru.

### B. Saran

Bahan uji yang akan digunakan perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut kandungan senyawa metabolit sekunder pada bahan uji dengan HPLC serta penggunaan berbagai pelarut lain agar eksplorasi senyawa bioaktif yang didapat lebih luas. Selain itu perlu pengembangan terhadap analisis histopatologi dengan metode imunohistokimia supaya antigen tumor dapat terdeteksi meski pada tahapan dini onkogenesis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Shafy, Hussein I. 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*. 25 (1): 107–123.
- Agata, A., E.L. Widiastuti, dan G.N. Susanto. 2017. Respon Histopatologi Hepar Mecit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia*. Vol 16 : 54-63.
- Agoramoorthy G., F.A. Chen, V. Venkatesalu, dan P.C. Shea. 2009. Bioconcentration of heavy metals in selected medicinal plants of India. *Journal Environ Biology*. Vol 30 (2): 175-178.
- Ali, H.T. 2007. *Beneficial Efects Of Nigella sativa On The Testis Tissues Of Mice Exposed to UV Irradiation*. Biology Departement/ Education College/ Mosul University.
- Anandakumar, P., Kamaraj, S., Jagan, S., Ramakrishnan, G., Asokkumar, S., Naveenkumar, C., Raghunandhakumar, S. and Devaki, T., 2012. Capsaicin inhibits benzo (a) pyrene-induced lung carcinogenesis in an in vivo mouse model. *Inflammation Research*, 61(11), pp.1169-1175.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical journal of the Linnean Society*, 141(4), pp.399-436.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), pp.105-121.
- Arakawa, H., Niimi, H., Kurihara, Y., Nakajima, Y., Webb, WR. 2000. Expiratory high-resolution CT: diagnostic value in diffuse lung diseases. *American Journal of Roentgenology*. 175 (6): 1537–43. PMID 11090370.
- Aspan, S.L. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*, Volume 5 Edisi Pertama. Badan POM RI. Jakarta.



- Baird, W. M., Hooven, L. A., Mahadevan, B. 2015. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 45 (2–3): 106–114. ISSN 1098-2280.
- Balaguer F., Link A., Lozano JJ, Cuatrecasas M, Nagasaka T, Boland CR, Goel A. 2010. Epigenetic silencing of miR-137 is an early event in colorectal carcinogenesis. *Cancer Research*. 70 (16): 6609–18.
- Baldy, Catherine M. 2006. *Gangguan Sel Darah Merah dalam Price, Sylvia A. Wilson, Lorraine M. Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta: EGC
- Balkwill, F. and Mantovani, A., 2001. *Inflammation and cancer: back to Virchow?*. *The lancet*, 357(9255), pp.539-545.
- Betts, J. Gordon. 2013. *Anatomy & physiology*. pp. 787–846. ISBN 978-1-938168-13-0.
- Bodduluru, L.N., Kasala, E.R., Madhana, R.M.R. and Sriram, C.S., 2015. *Natural killer cells: the journey from puzzles in biology to treatment of cancer*. *Cancer letters*, 357(2), pp.454-467.
- Booker, C.D. and White Jr, K.L., 2005. Benzo (a) pyrene-induced anemia and splenomegaly in NZB/WF1 mice. *Food and chemical toxicology*, 43(9), pp.1423-1431.
- Boorman, G.A., dan Eustis, S.L. 1990. Neoplasms of the testis. *Atlas of Tumor Pathology of the Fischer Rat (SF Stinson, HM Schuller, and GK Reznik, eds.)*, pp.409-14.
- Butel, J.S. 2000. Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis*, 21: 405–426
- Campbell, N.A., J.B. Reece, L.A. Urry, M.L. Cain, S.A. Wasserman, P.V. Minorsky, dan R.B. Jackson. 2008. *Biologi*. Edisi Kedepalan. Jilid 3. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Correa, Jose J. dan Julio Pow-Sang. 2010. *Mechanisms of Oncogenesis, Cancer Growth and Progression*. Springer Science Business Media. New York.
- Corwin, E.J. and Pajer, K., 2008. The psychoneuroimmunology of postpartum depression. *Journal of women's health*, 17(9), pp.1529-1534.
- Croce CM. 2008. Oncogenes and cancer. *The New England Journal of Medicine*. 358 (5): 502–11. doi:10.1056/NEJMra072367. PMID 18234754.
- Dahuri, R. 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut, Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Dapas, B., Grassi, M. and Grassi, G., 2014. Can TIE-2 expressing monocytes represent a novel marker for hepatocellular carcinoma?. *Hepatobiliary surgery and nutrition*, 3(4), p.175.
- De Flora, S., Alberto Izzotti, Francesco D'Agostini, Roumen M. Balansky. 2001. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. *Journal Carcinogenesis*, Volume 22, Issue 7, 1 July 2001, Pages 999–1013,
- Den Hartog, C., 1970. *The sea-grasses of the world*. North-Holland, Amsterdam.
- Dewi, C, Soedharma, D,Kawaroe, M. 2002. Kmponen Fitokimia Dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun Enhalus Acoroides Dan Thalassia Hemprichii Dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*. Vol. 3.: 23-27 ISSN 2087-4871
- Dharya,S., dan Vidhu, A., 2013. Phytochemical Potential of *Acanthus ilicifolius*. *J. Pharmacy Bioallied Science*. 5(1) p. 17-20 4
- Dorai, T. & B.B. Aggarwal. 2004. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer Lett*. 215: 129–140
- Doughari, J.H., dan Manzara, S. 2008. In vitro Antibacterial Activity of Crude Leaf Extracts of *Mangifera indica* Linn. *African Journal of Microbiology Research*. 2:067-072.
- Drake, Richard L., Vogl, Wayne, Mitchell, Adam W.M. 2014. *Gray's anatomy for students (3rd ed.)*. Churchill Livingstone/Elsevier. Edinburgh
- El-Hady, H.H.A., S.M. Daboor, & A.E. Ghoniemy. 2007. Nutritive and antimicrobial profiles of some seagrass from bardawil lake. *Egyptian Journal Aquatic Research* 33: 103-110.
- Faust, R. A., dan P. Reno. 1994. Toxicity summary for benzo[a]pyrene. Tennessee, *Oak Ridge Reservation Environmental Restoration Program*.
- Fitriana, P. 2007. *Hewan Laut; Buku Pengayaan Seri Flora dan Fauna*. Ganeca Exact. Jakarta.
- Forman, D., Bray, F., Brewster, D.H., Mbalawa, C.G., Kohler, B. and Piñeros, M., 2014. Cancer Incidence in Five Continents Vol. X. IARC Cientific Publication No 164; Lyon: *International Agency for Research on Cancer*.
- Gangar, S.C., Sandhir, R. and Koul, A., 2010. Effects of *Azadirachta indica* on certain hematological parameters during benzo (a) pyrene induced murine forestomach tumorigenesis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 14(12), pp.1055-1072.
- Giorgio.P. 2000. Flavonoid an Antioxidant. *Journal National Product*. 63. 10351045.

- Godschalk, R., Nair, J., Van Schooten, F.J., Risch, A., Drings, P., Kayser, K., Dienemann, H. and Bartsch, H., 2002. Comparison of multiple DNA adduct types in tumor adjacent human lung tissue: effect of cigarette smoking. *Carcinogenesis*, 23(12), pp.2081-2086.
- Gray H. 1995. *Gray's anatomy: anatomy descriptive and surgical*. Barnes and Noble. New York
- Guyton, A.C. and Arthur, J.E., 2007. *Buku ajar fisiologi kedokteran edisi 11*. Jakarta: EGC, pp.81-85.
- Hacking, Craig; Knipe, Henry. 2016. Lung fissures. *Radiopaedia*. Retrieved 8 February 2016.
- Hall, John. 2011. *Guyton and Hall textbook of medical physiology (12th ed.)*. Saunders/Elsevier.
- Hanahan, D. dan Weinberg, R.A. 2011. The hallmarks of cancer. *Journal of Cell*, 100: 57–70
- Hanani, E., A. Mun'im, R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Calispongia sp Dari Kepulauan Seribu. *Majalah ilmu kefarmasian* Vol. 2 No. 3 127133
- Hayes KC, Carey RE and Schmidt SY. 1975. *Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat*. *Science*, 188: 949–951.
- Henderson, B.E., Ross, R.K., and Pike, M.C. 1991. Toward the primary prevention of cancer. *Journal of Science*, 254: 1131–1138
- Henkler, F.; Stolpmann, K.; Luch, Andreas. 2012. Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Bulky DNA Adducts and Cellular Responses. In Luch, A. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Experientia Supplementum. Springer Basel. pp. 107–131. ISBN 978-3-7643-8340-4.
- Hockel, M. and Vaupel, P., 2001. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(4), pp.266-276.
- Hu, W., Feng, Z., and Tang, M.S. 2003. Preferential carcinogen-DNA adduct formation at codons 12 and 14 in the human K-ras gene and their possible mechanisms. *Biochemistry*. 42: 10012–10023
- Kale, A., Gawande, S. and Kotwal, S., 2008. Cancer phytotherapeutics: role for flavonoids at the cellular level. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(5), pp.567-577.

- Kanchanapoom, T., Kamel, M.S., Kasai, R., Yamasaki, K., Picheansoonthon, C., and Hiraga, Y. 2001. Lignan glucosides from *Acanthus ilicifolius*. *Journal of Phytochemistry* 56:369-372.
- Kasala, E.R., Bodduluru, L.N., Madana, R.M., Gogoi, R. dan Barua, C.C., 2015. Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: mechanistic perspectives. *Toxicology letters*, 233(2), pp.214-225.
- Kordi, K.M dan H. Gufron. 2012. *Ekosistem Mangrove Potensi Fungsi dan Pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Kovendan, K. dan K. Murugan. 2011. Effect of Medicinal Plant on The mosquito vectors from The different Agroclimatic Regions of Tanul Madu, India. *Advan Environmental Biology*. Vol 5(2) 335-344.
- Kusumawati D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- LaDou, J. 2004. The asbestos cancer epidemic. *Environmental Health Perspect.*, 112: 285–290
- Lambrecht, B.N., 2006. Alveolar macrophage in the driver's seat. *Immunity*, 24(4), pp.366-368.
- Landis-Piwowar, K.R. & N.R. Iyer. 2014. Cancer chemoprevention: current state of the art. *Cancer Growth Metastasis* 7: 19–25.
- Landolph, J.R., Dews, M., Ozbun, L., dan Evans, D.P. 1996. *Metal-induced gene expression and neoplastic transformation*. In *Toxicology of Metals*, Chang, L.W., Ed., CRC Lewis Publishers. Boca Raton
- Loomis, J.M., 1978. *Lateral masking in foveal and eccentric vision*. Vision research.
- López-Lázaro M. 2010. A new view of carcinogenesis and an alternative approach to cancer therapy. *Molecular Medicine*. 16 (3–4): 144–53.
- Mates JM, Segura JA, Alonso FJ and Marquez J. 2012. Sulphur-containing non enzymatic antioxidants: therapeutic tools against cancer. *Front Biosci*, 4: 722–748
- Maysa, A, Widiastuti, E. L. , Nurcahyani, N, Busman H. 2016. 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 . *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 16 (2): 68-75 ISSN 1410-5020
- McGarry, M.P, Protheroe, C.A, Lee, J.J. 2010. *Mouse Hematology: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York

- McKenzie, L.J dan Yoshida, R.L. 2009. *Seagrass-Watch News. Issue 38, September 2009*. Seagrass-Watch HQ. Cairns.
- Mills, N.E., Fishman, C.L., Rom, W.N., Dubin, N., and Jacobson, D.R. 1995. Increased prevalence of K-ras oncogene mutations in lung adenocarcinoma. *Cancer Res.*, 55: 1444–1447
- Misra, R., Acharya, S. dan Sahoo, S.K., 2010. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug discovery today*, 15(19-20), pp.842-850.
- Mitsuuchi, Y. and Testa, J.R. Cytogenetics and molecular genetics of lung cancer. *Am. J. Med. Genet.*, 115: 183–188, 2002.
- Noor, Y.R., M. Khazali, dan I.N.N Suryadiputra. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International Indonesia Programme. Bogor.
- Pawlina, W (2015). *Histology a Text & Atlas (7th ed.)*. pp. 670–678. ISBN 978-1-4511-8742-7.
- Penn, I. and First, M.R., 1999. Merkel'S Cell Carcinoma In Organ Recipients: Report of 41 Cases1. *Transplantation*, 68(11), pp.1717-1721.
- Persky, A.M., Brazeau, G.A. and Hochhaus, G., 2003. Pharmacokinetics of the dietary supplement creatine. *Clinical pharmacokinetics*, 42(6), pp.557-574.
- Pradhan, A.D., Manson, J.E., Rifai, N., Buring, J.E. and Ridker, P.M., 2001. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama*, 286(3), pp.327-334.
- Pratiwi R. 2010. Asosiasi Krustasea di ekosistem padang lamun Perairan Teluk Lampung. *Ilmu Kelautan*, Vol. 15(2); 66- 76.
- Purnomo, LH, 2002, Manfaat Beberapa Jenis Tumbuhan Mangrove Sebagai Bahan Obat Tradisional, *Warta Oseanografi*, Vol. XVI, No. 4, hal 10-12
- Qamar, A. and Rader, D.J., 2012. Effect of interleukin 1 $\beta$  inhibition in cardiovascular disease. *Current opinion in lipidology*, 23(6), pp.548-553.
- Qi Shi-Hua, Si Zhang, Pei-Yuan Qian, Bin-Gui Wang. 2008. Antifeedant, antibacterial, and antilarval compounds from the South China Seagrass *Enhalus acoroides*. In Press. *Botanica Marina*, Vol 51.
- Qi, S.-H., S. Zhang and P.-Y. Qian., 2008. Antifeedant, antibacterial, and antilarval compounds from the south china seagrass *enhalus acoroides*. *Botanica Marina* 51. Berlin. New York.
- Raja-Kannan RR, Arumugam R, Meenakhshi S, Anantharaman P. 2010. Thin layer chromatography analysis of antioxidant constituents from seagrasses

- of Gulf of mannar biosphere reserve, South India. *IJCRGG*. Vol (2)3; 1526 – 1530.
- Ravindra, K.; Sokhi, R.; Van Grieken, R. 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*. 42 (13): 2895–2921. ISSN 1352-2310.
- Redmon, D., Boyle, W.C. and Ewing, L., 1983. Oxygen transfer efficiency measurements in mixed liquor using off-gas techniques. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, pp.1338-1347.
- Renne RA, Dungworth DL, Keenan CM, Morgan KT, Hahn FF, Schwartz LW. 2003. Non-proliferative lesions of the respiratory tract in rats. In: *Guides for Toxicologic Pathology*. STP/ARP/AFIP, Washington, DC.
- Rodenhuis S dan Slebos R.J. 1992. *Clinical Significance of ras Oncogene Activation in Human Lung Cancer*. *Cancer Res* 52: 1564-1576
- Romimohtarto, K. dan S. Juwana. 2009. *Biologi Laut*. Djambatan. Jakarta.
- Roselyn, AP., E.L. Widiastuti, G.N Susanto, Sutyarso. 2015. Pengaruh Pemberian Taurin terhadap Gambaran Histopatologi Paru Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Karsinogen Benzo(a)Piren secara In Vivo. *Jurnal Natur Indonesia* 17(1), Oktober 2016: 22–32 ISSN 1410-9379
- Rugh, R. 1990. *The Mouse: It's reproduction and Development*. Oxford University Press. New York.
- Rumiantin R.O. 2010. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun Enhalus acoroides [*Skripsi*]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rundle, A., Tang, D., Liu, J.J., Neslund-Dudas, C., Savera, A.T., Bock, C.H., Nock, N.L., Yang, J.J. and Rybicki, B.A., 2007. Grilled meat consumption and PhIP-DNA adducts in prostate carcinogenesis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 16(4), pp.803-808.
- Sells DM, Brix AE, Nyska A, Jokinen MP, Orzech DP, Walker NJ. 2007. Respiratory tract lesions in noninhalation studies. *Toxicol Pathol* 35:170-177.
- Shukla, R.K., Sharma, V., Pandey, A.K., Singh, S., Sultana, S. and Dhawan, A., 2011. ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology in vitro*, 25(1), pp.231-241.
- Siddiqui, I., Vanna Sanna, Nihal Ahmad, Mario Sechi, dan Hasan Mukhtar. 2015. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. *Annals Of The New York Academy Of Sciences Issue* . 69: 1712–1716.

- Singh, D. dan Aeri, V., 2013. Phytochemical and pharmacological potential of *Acanthus ilicifolius*. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 5(1), p.17.
- Sitdikova, S.M., Amandzholov, B.S., Sel'chuk, V.Y. and Donenko, F.V., 2003. Tumor-specific changes in mouse serum during Ehrlich carcinoma growth. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 135(6), pp.576-579.
- Solano-Lopez C, Zeidler-Erdely PC, Hubbs AF, Reynolds SH, Roberts JR, Taylor MD, Young SH, Castranova V, Antonini JM. 2006. Welding fume exposure and associated inflammatory and hyperplastic changes in the lungs of tumor susceptible a/j mice. *Toxicol Pathol* 34:364-372.
- Susan, Stranding (2008). Borley, Neil R., ed. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (40 ed.). Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier. pp. 992–1000. ISBN 978-0-443-06684-9. Archived from the original on 10 March 2014.
- Stanton, Bruce M. Koeppen, Bruce A. 2008. *Berne & Levy physiology* (6th ed.). Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier. pp. 418–422. ISBN 978-0-323-04582-7.
- Surh, Y.J. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* 3: 768–780.
- Surh, Y.J. 2004. Transcription factors in the cellular signaling network as prime targets of chemopreventive phytochemicals. *Cancer Res. Treat.* 36: 275–286.
- Tambur, Z. 2006. White Blood Cell Differential Count in Rabbits Artificially Infected with Intestinal Coccidia. *J. Protozool. Res* 16, 42-50.
- Thiriet, Mark. 2014. *Anatomy and Physiology of the Circulatory and Ventilatory Systems*. Springer Science+Business Media. New York ISBN 978-1-4614-9468-3
- Thomson, B.M., Saklatvala, J. and Chambers, T.J., 1986. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *Journal of Experimental Medicine*, 164(1), pp.104-112.
- Tomlinson, P.B. 1986. *The Biology of Mangroves*. Cambridge University press, Cambridge, UK.
- Ugochukwu, N.H. and Babady, N.E., 2002. Antioxidant effects of *Gongronema latifolium* in hepatocytes of rat models of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Fitoterapia*, 73(7-8), pp.612-618.
- Uhlén M, Linn Fagerberg, Björn M. Hallström, Cecilia Lindskog, Per Oksvold, Adil Mardinoglu, Åsa Sivertsson, Caroline Kampf. 2015. *Tissue-based map of the human proteome*. Science PubMed.

- Valkenberg, J.L.C.H. dan N Bunyapraphatsara. 2002. Plant Resources of SouthEast Asia No. 20 (2): *Medical and Poisoning Plant 2*. PROSEA Foundation. Bogor.
- Volk, H.D., Asadullah, K., dan Sterry, W. 2003. Interleukin-10 therapy—review of a new approach. *Pharmacological reviews*, 55(2), pp.241-269.
- Wahlstrom, J., Dvorak, C.C., Cowan, M.J., Facchino, J. and Horn, B.N., 2013. Risk Factors For Relapse In Children Undergoing Preemptive Immunomodulatory Therapy After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell (HSCT) For Acute Leukemia. *Blood*, 122(21), 2082.
- Walker NJ, Yoshizawa K, Miller RA, Brix AE, Sells DM, Jokinen MP, Wyde ME, Easterling M, Nyska A. 2007. Pulmonary lesions in female Harlan Sprague-Dawley rats following two-year oral treatment with dioxin-like compounds. *Toxicol Pathol* 35:880-889
- Warhowsky, David dan Joseph L. 2006. *Molecular Carcinogenesis And The Molecular Biology Of Human Cancer*. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton.
- World Health Organization. 2018. Cancer Fact Sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Diakses pada Agustus 2018
- Xue, W.; Warshawsky, D. (2005). Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 206 (1): 73–93.
- Yu J dan Kim AK. 2009. Effect of taurine on antioxidant enzyme system in B16F10 melanoma cells. *Adv Exp Med Biol*, 643: 491–499.
- Yuspa, S.H. Commentary overview of carcinogenesis: Past, present, and future. *Carcinogenesis*, 21: 341–344, 2000
- Zhang X, Bi C, Fan Y, Cui Q, Chen D, Xiao Y and Dou QP. 2008. Induction of tumor cell apoptosis by taurine Schiff base copper complex is associated with the inhibition of proteasomal activity. *Int J Mol Med* , 22: 677–682.
- Zöchbauer-Müller, S., Gazdar, A.F. dan Minna, J.D., 2002. Molecular pathogenesis of lung cancer. *Annual Review of Physiology*, 64(1), pp.681-708.
- Zuo, W., Zhang, T., Wu, D.Z.A., Guan, S.P., Liew, A.A., Yamamoto, Y., Wang, X., Lim, S.J., Vincent, M., Lessard, M. dan Crum, C.P., 2015. p63+ Krt5+ distal airway stem cells are essential for lung regeneration. *Nature*, 517(7536), p.616.