



**Gambaran Histopatologik Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi  
Karsinogenesis Kolon dan Induksi Karsinogenesis Kolon plus Diet  
*Amorphophallus Onchopyllus***  
(Penelitian Observasional Laboratorik terhadap Tikus Wistar yang Diinduksi 1,2  
*DMH* Subkutan, diet tinggi lemak dan protein)

**ARTIKEL**

**Karya Tulis Ilmiah**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan  
melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

**Disusun oleh**  
Budi Irawan  
NIM : G2A 002 042

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

## PENGESAHAN

### ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Gambaran Histopatologik Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi  
Karsinogenesis Kolon dan Induksi Karsinogenesis Kolon plus Diet  
*Amorphophallus Onchopyllus*

( Penelitian observasional laboratorik pada Wistar yang diinduksi 1, 2  
*Dimethylhydrazine* subkutan, diet tinggi lemak dan protein )

Disusun oleh:  
BUDI IRAWAN  
G2A 002 042

Telah dipertahankan di depan tim penguji KTI Fakultas Kedokteran Universitas  
Diponegoro Semarang pada tanggal 02 Februari 2006 dan telah diperbaiki sesuai  
dengan saran-saran yang diberikan

Pembimbing 1

Pembimbing 2

dr. Noor Yazid AD, Sp.PA(K)  
NIP. 130 530 281

dr. Awal Prasetyo, MKes  
NIP.132 163 893

Ketua Penguji,

Penguji,

Dra. Henne Rya Sunoko, Apt MES  
NIP. 320 002 500

dr. Bambang Witjahyo, MKes  
NIP. 131 281 555

# The Histopathological Pattern of Wistar's Spleen with Carcinogenesis Colon Induction and Carcinogenesis Colon induction plus *Amorphophallus onchophyllus* Dietary

( Laboratory observational study on Wistar induced 1,2 DMH, high lipid & high protein dietary)

Budi Irawan\*, Awal Prasetyo\*\*, Noor Yazid AD\*\*

## ABSTRACT

**Background:** *Amorphophallus onchophyllus* is one of the plants which contains high fiber. Some researches proved that high fiber diet can reduce incidence of colon cancer. 1,2 Dimethylhydrazine (DMH), high lipid and protein diet in Wistar rats was assumed influence their immunity system, causing injury on their spleen. This study had purpose to examining spleen's histopathological pattern in Wistar with carcinogenesis colon induction and carcinogenesis colon induction plus *Amorphophallus onchophyllus* dietary.

**Method:** This laboratory observational study used 15 Wistars divided into 3 groups, group I ( normal ), group II ( induction ) and group III ( test ) with 5 rats in each group. At the beginning of 9<sup>th</sup> week, all of Wistars were terminated and histopathological sample of the spleens were made for furthermore examination. Data in the form of spleen's histopathological patterns were analyzed with descriptive and presented in table and graphic.

**Result:** In group I mean of spleen's volume is 0,38ml;weight 0,33gr;diameter Centrum germinativum 16µm, follicle 31,6µm and marginalize zone:1,4µm; in group II mean of spleen's volume is 0,63ml;weight 0,76gr; diameter Centrum germinativum 12,38µm, follicle 27,88µm and marginalize zone 4,38µm; in group III mean of spleen's volume is 0,55ml;weight 0,50gr; Centrum germinativum 14,5 µm, follicle 30,83µm and marginalize zone1,67µm.

**Conclusion:** Macroscopic and histopathological pattern of spleen had descriptive in normal, induction and test group.

**Keywords:** *Amorphophallus onchophyllus*, Carcinogenesis, spleen's histopathological pattern.

\* Student of Medical Faculty Diponegoro University

\*\* Lecturer of Pathological Anatomy Medical Faculty Diponegoro University

# **Gambaran Histopatologik Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi Karsinogenesis Kolon dan Induksi Karsinogenesis Kolon plus Diet *Amorphophallus Onchophyllus***

(Penelitian observasional laboratorik terhadap Wistar yang diinduksi 1,2 DMH subkutan, diet tinggi lemak dan tinggi protein)

Budi Irawan\*, Awal Prasetyo\*\*, Noor Yazid AD\*\*

## **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** *Amorphophallus onchophyllus* adalah salah satu tumbuhan yang mempunyai kandungan serat yang tinggi. Beberapa penelitian membuktikan bahwa serat dapat menurunkan terjadinya kanker kolon. 1,2 Dimethylhydrazine (DMH), diet tinggi lemak dan protein pada tikus wistar diduga mempengaruhi sistim imunitas dengan menimbulkan jejas pada organ limpa. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati gambaran makroskopis dan histopatologik limpa Wistar yang diinduksi karsinogenesis kolon dan induksi karsinogenesis kolon plus diet *Amorphophallus onchophyllus*.

**Metode:** Penelitian observasional laboratorik ini menggunakan 15 tikus Wistar yang dibagi tiga kelompok yaitu kelompok I ( normal ), kelompok II ( induksi ), kelompok III ( perlakuan ) dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pada awal minggu ke-9 dilakukan terminasi dan dibuat preparat histopatologi limpa tikus untuk diamati lebih lanjut. Data berupa gambaran histopatologik limpa dianalisa secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

**Hasil:** Pada kelompok I rata-rata dari volume limpa adalah 0,38ml;berat 0,33gr;diameter sentrum germinativum 16 $\mu$ m, folikel 31,6 $\mu$ m dan zona marginalis 1,4 $\mu$ m; kelompok II rata-rata dari volume limpa adalah 0,63ml;berat 0,76gr;diameter sentrum germinativum 12,38 $\mu$ m, folikel 27,88 $\mu$ m dan zona marginalis 4,38 $\mu$ m; kelompok III rata-rata dari volume limpa adalah 0,55ml;berat 0,50gr;sentrum germinativum 14,5 $\mu$ m, folikel 30,83 $\mu$ m dan zona marginalis 1,67 $\mu$ m

**Kesimpulan:** Gambaran makroskopis dan histopatologik limpa telah dideskripsikan pada kelompok normal, induksi, dan perlakuan.

**Kata Kunci:** *Amorphophallus onchophyllus*, karsinogenesis, gambaran histopatologik limpa.

\* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

\*\* Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Iles-iles atau *Amorphophallus oncophyllus* merupakan salah satu tumbuhan dengan kandungan serat (*glukomannan, lignin dan selulosa*) yang tinggi. *Amorphophallus oncophyllus* memiliki kandungan serat tinggi dan tanpa kolesterol. Menurut Robbins (1995), diet rendah serat merupakan salah satu faktor predisposisi kanker kolon.<sup>1</sup>

Kanker kolon merupakan salah satu masalah kesehatan di negara Barat karena kejadian kanker kolon menempati urutan ke-4 sebagai penyebab kanker dan menempati urutan ke-2 sebagai penyebab kematian karena kanker. Kanker kolon bisa disebabkan oleh beberapa faktor risiko yaitu mulai dari gen, diet, sistem kekebalan tubuh, sampai usia lanjut.<sup>2</sup>

Druckrey et.al (1967) merupakan orang yang pertama kali menginduksi kanker kolon pada tikus dengan menggunakan *1,2 Dimethylhydrazine (1,2 DMH)*. Mereka juga mengatakan bahwa target jaringan utama induksi adalah intestinum, khususnya kolon dan rektum. Diet tinggi lemak meningkatkan efek karsinogenik *1,2 DMH* pada intestinum tikus. Reddy et.al ( 1982 ) membuktikan bahwa kelompok tikus yang menerima diet tinggi protein dan lemak bersama induksi *1,2 DMH* mengalami insiden tumor kolon yang lebih tinggi daripada kelompok tikus yang diberi induksi *1,2 DMH* dan diet protein dan lemak normal.<sup>3</sup>

Penelitian epidemiologi yang dilakukan di Afrika membuktikan bahwa orang-orang Afrika berkulit hitam yang mengkonsumsi makanan tinggi serat dan diet rendah lemak mempunyai angka kematian yang rendah akibat kanker usus besar (kolon) dibandingkan orang Afrika yang berkulit putih dengan diet rendah

serat dan tinggi lemak. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa diet tinggi serat mempunyai efek proteksi untuk kejadian kanker kolon.<sup>4</sup>

Potensi serat dalam melindungi usus dan menjaga kadar lipid dalam darah menunjukkan langkah preventif terhadap berbagai ancaman penyakit metabolik dan degeneratif. Efek protektif dan preventif serat ternyata sangat bermanfaat untuk melindungi saluran cerna dari proses keganasan, dan berbagai penelitian menunjukkan bahwa mekanisme ini tidak hanya melibatkan proses dalam saluran cerna saja tetapi diduga juga melibatkan reaksi sistem imunitas tubuh.<sup>5</sup>

Salah satu organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh adalah limpa. Selain berfungsi sebagai pertahanan dalam melawan mikroorganisme, limpa juga merupakan tempat utama destruksi sel-sel eritrosit tua oleh makrofag dan dapat bereaksi terhadap antigen-antigen yang dibawa dan memfiltrasi darah secara imunologis.<sup>6,7</sup>

Banyak penelitian-penelitian telah dilakukan untuk membuktikan potensi serat sebagai antikanker, namun hasilnya masih jauh dari yang diharapkan. Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya yang menyelidiki potensi serat dalam mencegah kanker kolon. Efek yang ingin dilihat adalah tentang gambaran histopatologis limpa terhadap jejas karsinogen dan pengaruh pemberian diet *Amorphophallus oncophyllus* terhadap proses tersebut.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran histopatologi limpa yang meliputi diameter sentrum germinativum, diameter folikel, zona marginalis, jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag terhadap efek dari induksi karsinogenesis dan induksi karsinogenesis plus diet *Amorphophallus oncophyllus*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian observasional laboratorik ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Undip selama 9 minggu. Populasi yang diteliti adalah lima belas ekor tikus wistar yang berusia antara 12 – 18 minggu dengan berat 180 – 200 gram, sehat, tingkah laku normal, tidak sakit ataupun mati selama penelitian. Induksi karsinogenesis diperankan oleh *1,2 DMH*, dengan dosis subkutan 1 mg/tikus dan diberikan seminggu sekali ( Dukrey, 1967 ) ditambah dengan pemberian diet tinggi lemak dan protein secara *ad libitum* tiap hari dimulai dari awal minggu kelima hingga akhir minggu ke delapan pada kelompok ketiga.

Tikus diaklimatisasi selama 1 minggu dengan diberi pakan standard dan minum *ad libitum* lalu dibagi dalam 3 kelompok dimana setiap kelompoknya terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok pertama tidak diberi perlakuan apa-apa, hanya diberi pakan standar ( kelompok normal ), kelompok kedua yaitu tikus yang diinduksi karsinogenesis sebagai kelompok kedua ( kelompok induksi ) dan kelompok ke tiga adalah tikus yang diberi diet *Amorphophallus oncophyllus* 0,378gr/KgBB yang telah diencerkan dengan air sebanyak 10ml dan diberikan 1cc pada setiap tikus selama 8 minggu ( kelompok perlakuan ) , sesuai teknik konversi dosis menurut Laurence Bacharach (1964) dan dilakukan induksi karsinogenesis kolon mulai awal minggu kelima hingga akhir minggu kedelapan. Pada akhir minggu kesembilan seluruh tikus diterminasi lalu diambil organ limpanya. Setiap limpa dibuat satu preparat dari tiap blok parafin , lalu dari masing-masing preparat dilihat 3 folikel, kemudian tiap folikel dideskripsikan gambaran histopatologisnya.

Pemeriksaan limpa dilakukan dengan 2 cara dibawah bimbingan ahli Patologi Anatomi yaitu secara makroskopis dengan mengukur berat dan volume dari masing-masing limpa, dan secara mikroskopis dengan mengukur diameter rerata pulpa putih, sentrum geminativum, dan zona marginalis. Serta menghitung jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag.

Pada pemeriksaan mikroskopis, rerata diameter diukur dengan menggunakan mikrometer yang dilihat pada mikroskop dengan pembesaran 10x. Sedangkan pada penghitungan jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag digunakan bilik hitung 5x5, dilihat dengan mikroskop pada jaringan yang longgar dengan pembesaran 40x dan dihitung pada 4 kotak dipojok dan 1 kotak ditengah.

Data yang telah terkumpul dianalisa dengan program komputer *SPSS 12.0 for Windows*. Tiap variabel dianalisa secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menurut kelompok perlakuannya.

## **HASIL PENELITIAN**

Selama penelitian berlangsung terdapat satu ekor tikus yang dieksklusikan karena mati, namun tikus tersebut diganti dengan sampel cadangan.

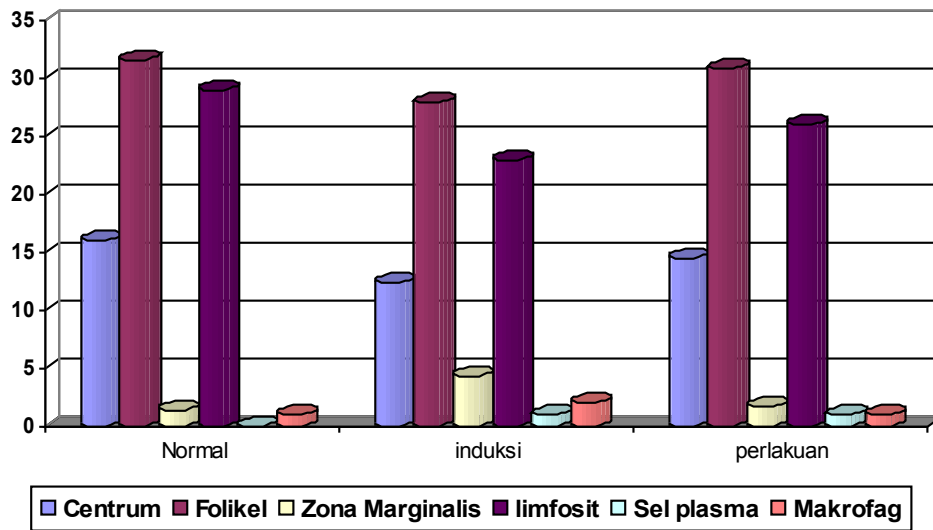
Secara deskriptif gambaran makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada tabel dan grafik di bawah ini

**Tabel 1.** Mean & standar deviasi variabel pengukuran makroskopis limpa pada ketiga kelompok

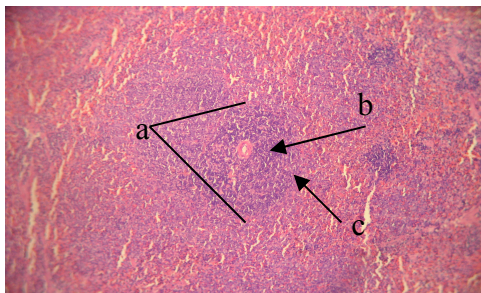
<b>Kelompok</b>	<b>Variabel Pengukuran</b>	<b>Mean±SD</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maksimum</b>
I	Volume ( ml )	0,38±0,04	0,30	0,40
	Berat ( gr )	0,33±0,04	0,28	0,40
II	Volume ( ml )	0,62±0,13	0,40	0,80
	Berat ( gr )	0,76±0,18	0,58	1,14
III	Volume ( ml )	0,55±0,15	0,40	0,80
	Berat ( gr )	0,50±0,13	0,36	0,68

**Tabel 2.** Mean & standar deviasi variabel pengukuran histopatologik limpa pada ketiga kelompok

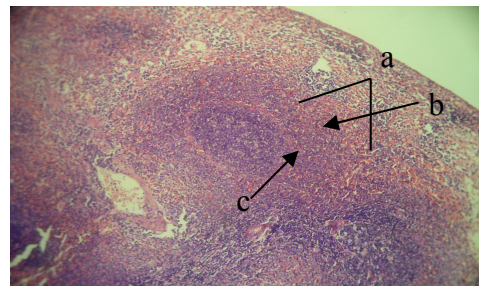
<b>Kelompok</b>	<b>Variabel Pengukuran</b>	<b>Mean±SD (µm)</b>	<b>Minimum (µm)</b>	<b>Maksimum (µm)</b>	<b>Juml (sel)</b>
I	Ø Sentrum germinativum	16,00±3,94	12	21	-
	Ø folikel	31,60±4,22	26	37	-
	Zona maginalis	1,40±0,55	1	2	-
	Limfosit	-	-	-	29
	Sel plasma	-	-	-	0
	Makrofag	-	-	-	1
	II	Ø Sentrum germinativum	12,38±3,54	9	19
Ø folikel		27,88±5,25	20	35	-
Zona maginalis		4,38±1,69	2	7	-
Limfosit		-	-	-	23
Sel plasma		-	-	-	1
Makrofag		-	-	-	2
III		Ø Sentrum germinativum	14,5±2,22	11	18
	Ø folikel	30,83±1,58	29	33	-
	Zona maginalis	1,67±0,47	1	3	-
	Limfosit	-	-	-	26
	Sel plasma	-	-	-	1
	Makrofag	-	-	-	1



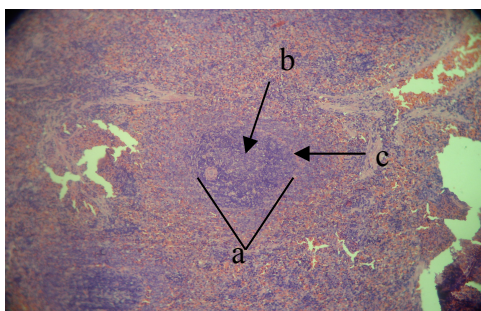
**Gambar 1.** Histogram perbandingan variabel pengukuran histopatologik limpa pada ketiga kelompok



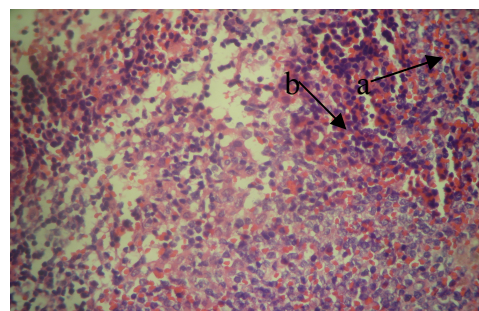
Gambar 1. Gambaran histopatologi limpa kelompok normal (a.folikel, b.sentrum germinativum, c.zona marginalis )



Gambar 2. Gambaran histopatologi limpa kelompok induksi (a.folikel, b.sentrum germinativum, c.zona marginalis )



Gambar 3. Gambaran histopatologi limpa kelompok perlakuan (a.folikel, b.sentrum germinativum, c.zona marginalis )



Gambar 4. Gambaran histopatologi limpa kelompok induksi (a.sel limfosit, b.makrofag )

**Gambar 2.** Gambaran mikroskopis histopatologik limpa pada ketiga kelompok

## **PEMBAHASAN**

Induksi 1,2 *DMH* secara subkutan dan derivatnya secara selektif menyebabkan displasia kolon dan rektum. Displasia yang terjadi meliputi adenoma hingga bermacam-macam jenis adenokarsinoma. Pada hewan pengerat, induksi subkutan merupakan metode paling konsisten dalam menginduksi kanker kolon.<sup>3,8</sup>

Pada induksi 1,2 *DMH* secara subkutan, antigen tersebut dapat lewat melalui kelenjar limfe regional untuk mencapai sirkulasi darah untuk menuju limpa. Dengan masuknya antigen tersebut kedalam permukaan mukosa maka akan dapat merangsang jaringan limfoid yang berhubungan dan dapat mengalir ke pembuluh limfe regional ( kemotaksis ). Ketika antigen masuk maka akan merangsang makrofag untuk mengambil benda antigenic tersebut, selain itu antigen juga akan merangsang limfosit-limfosit untuk bereaksi dengannya. Hasil interaksi semacam ini adalah kenaikan jumlah limfosit dari jenis tertentu, dan modulasi dari limfosit B menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi. Akibat dari meningkatnya jumlah limfosit-limfosit tersebut akan menyebabkan limpa menjadi membesar. Dengan membesarnya organ tersebut menunjukkan terjadinya reaksi akut hiperplasi.<sup>9,10</sup>

Reaksi akut hiperplasi ditandai dengan bertambah besarnya pulpa merah. Secara kasar potongan permukaan berwarna merah keabuan dan folikel-folikelnya menonjol. Secara mikroskopis jumlah neutrophil bertambah dan beberapa dalam keadaan matang. Warna keabuan dari permukaan limpa disebabkan oleh polimorfonuklear leukosit. Terdapat juga peningkatan sel fagosit, dimana mengandung hasil penghancuran dari leukosit dan eritrosit yang telah mati, serta

kadang-kadang dari bakteri dan organisme lain. Sejumlah sel plasma juga dapat ditemukan.<sup>10</sup>

Berdasarkan teori tersebut diatas, secara makroskopis penelitian ini telah mendapatkan gambaran yang sesuai, terlihat pada kelompok induksi yang memiliki limpa lebih berat dan volume yang lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok normal ( Tabel I ). Selain itu jarak zona marginalis pada pemeriksaan mikroskopis juga menunjukkan gambaran yang lebih besar (  $4,38\mu\text{m}$  ) bila dibanding dengan kelompok normal (  $1,40\mu\text{m}$  ). Hal ini dimungkinkan karena didaerah ini banyak terdapat antigen-antigen, sehingga merangsang sel-sel fagosit untuk berinteraksi dengan antigen tersebut yang dapat menyebabkan limpa menjadi membesar ( hiperplasi ).<sup>9,10</sup>

Pada pemeriksaan mikroskopis lainnya (diameter sentrum germinativum, diameter folikel, jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag ), kelompok induksi mempunyai gambaran yang lebih kecil dibandingkan kelompok normal ( Tabel 2 ). Hasil penelitian ini tidak sesuai terhadap teori yang menyatakan bahwa seharusnya jika terdapat antigen akan terjadi peningkatan sel-sel fagosit yang dapat menyebabkan limpa membesar ( hiperplasi ).<sup>9,10</sup> Penyebab mengapa hal ini bisa terjadi belum dapat dijelaskan secara memuaskan oleh karena tidak ada referensi yang menjelaskan.

Kandungan serat ( *Glukomannan*, *lignin* dan *selulosa* ) yang terdapat di dalam *Amorphophallus oncophyllus* mempunyai potensi untuk mencegah insiden kanker kolon. Kandungan serat tersebut akan difermentasi bakteri anaerob membentuk *Natrium butirat* yang akan menghambat *enzim histone deacetylase*.

Enzim ini mengatur gen *SRC* dalam tubuh, di mana ekspresi gen ini akan menimbulkan proliferasi sel berlebih pada kolon. Butirat terbukti memiliki efek langsung dalam mencegah kanker kolon secara *invivo*. Butirat juga dapat berperan meningkatkan kekuatan sistem imun karena perannya sebagai sumber energi bagi sel kolonosit sehingga menstimuli sel epitel dan pembebasan sejumlah sitokin dan mediator pengaturan fungsi sel imunitas seperti IL-8 yang mampu mengaktifkan sel T sitotoksik sehingga mampu mengeliminasi secara dini sel-sel yang mengalami perubahan. Cumming dan Mac Farlan mengatakan bahwa butirat juga berperan dalam menstabilkan kromatin selama pembelahan sel.<sup>11</sup> Serat makanan dalam hal ini *Amorphophallus oncophyllus*, diduga dapat mengontrol reaksi inflamasi pada proses karsinogenesis kolon, sehingga efeknya ke limpa dapat berkurang.

Secara makroskopis limpa pada kelompok perlakuan menunjukkan berat dan volume yang lebih besar bila dibandingkan kelompok normal ( Tabel I ). Sedangkan secara mikroskopis jarak zona marginalis mempunyai gambaran yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok normal, tetapi pada pengukuran diameter pulpa putih dan sentrum germinativum mempunyai gambaran yang lebih kecil dibanding normal, begitu juga pada penghitungan jumlah sel limfosit ( Tabel II ). Hal ini dimungkinkan karena pengaruh pemberian diet *Amorphophallus oncophyllus* yang dilakukan sebelum dan selama induksi karsinogenesis kolon. Pada kelompok perlakuan juga ditemukan adanya sel plasma, secara teoritis sel plasma timbul akibat adanya interaksi antara sel-sel limfosit dengan antigen untuk menghasilkan antibodi.<sup>9</sup>

Pada pemberian diet *Amorphophallus oncophyllus*, gambaran histopatologis limpa diharapkan dapat membaik, baik ukuran struktur maupun jumlah sel didalamnya. Mekanisme pasti bagaimana *Amorphophallus oncophyllus* dapat mempengaruhi reaksi limpa akibat pemberian karsinogen belum diketahui walaupun pada penelitian ini didapatkan gambaran histopatologis limpa mengalami hiperplasi.

Oleh karena penelitian ini hanya mengamati deskripsi histopatologis limpa maka tidak bisa dilakukan perbandingan antara kelompok normal, kelompok induksi dan kelompok perlakuan, Disamping adanya perbedaan waktu dan lamanya perlakuan pada kelompok ke-3.

#### **KESIMPULAN**

Penelitian ini telah dapat memberikan gambaran makroskopis ( berat dan volume ) dan histopatologi limpa ( diameter sentrum germinativum, diameter folikel, zona marginalis, jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag ) pada kondisi normal ( tanpa perlakuan ) maupun terhadap efek dari induksi karsinogen dan induksi karsinogen plus diet *Amorphophallus oncophyllus* ( Tabel 1 dan Tabel 2 ).

#### **SARAN**

Perlu adanya penelitian lanjutan mengingat penelitian semacam ini belum dapat dilakukan serta eksplorasi lebih lanjut mengenai dosis *Amorphophallus oncophyllus* untuk dapat mengoptimalkan respon imun terhadap karsinogenesis, namun tetap layak diujicobakan pada manusia. Disarankan juga melakukan

penelitian sejenis dengan durasi penelitian yang lebih lama dan proporsional dengan desain penelitian *randomized control double blind*.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Saya mengucapkan terima kasih kepada dr. Awal Presetyo, Mkes ; dr. Noor Yazid AD, SpPA ; Dra. Henna Rya Sunoko, Apt, MES ; dr. Bambang Witjahyo, MKes ; semua staff dari bagian Patologi Anatomi dan Biokimia FK UNDIP serta teman-teman mahasiswa FK UNDIP yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Sufiani S. Iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) jenis, syarat tumbuh, budidaya dan standar mutu eksporanya. Bogor : Balitro, 1993, Mar.
2. James W.P.T and O Theander. *The Analysis of Dietary Fiber in Food*. Marcel Dekker Inc., New York 1981
3. Arcos JC, Woo YT, Argus MF. *Chemical induction of cancer*. London : Academic Press; 1982. 339,50-93.
4. Joseph Godlief. *Manfaat Serat Makanan Bagi Kesehatan*. Institut Pertanian Bogor :2002
5. No author. Serat benteng terhadap aneka penyakit. Available from URL: [http://www.indonesia.com/intisari/press/2001/Juli/warna\\_serat.htm](http://www.indonesia.com/intisari/press/2001/Juli/warna_serat.htm)
6. Junqueira LC, et al. *Histologi Dasar*. edisi 8. Jakarta :EGC, 1997 : 270-276
7. Leeson, Leeson, Paparo. *Buku Ajar Histologi*, edisi 5, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1996 : 292-293.
8. Melen-Mucha G, Niewiadomska H. Frequency of proliferation and their ratio during rat colon carcinogenesis and their characteristic pattern in the Dimethylhydrazine-induced colon adenoma and carcinoma. *Journal Cancer Invest* ; 2002. 20(5-6) : 700-12. Available from URL : [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=12197226&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12197226&dopt=Abstract)
9. Price Sylvia A, Wilson Lorraine M. *Patofisiologi*, edisi 4 Jakarta : EGC,1994:67-68

10. Anderson W.A.D. Pathology. vol 2. The C.V Mosby Company, 1985 : 1277
11. Erhadrdt, George Juergen, et al. A Diet Rich in Fat and Poor in Dietary Fiber Increase The Oxygen Formation Species in Human Feces. The Journal of Nutrition vol. 127: 1997.