



**PENGARUH PEMBERIAN POLIFENOL TEH HIJAU
TERHADAP SKOR DERAJAT HISTOLOGIS
ADENOCARCINOMA MAMMAE MENCIT *C3H***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

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

Oleh :

Nenden Nursyamsi Agustina

NIM : G2A 004 124

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2008

The Effect of Polifenol Green Tea on Histological Grading Score of Adenocarcinoma Mammae in C3H Mice

Nenden Nursyamsi Agustina*, Ratna Damma Purnawati**

Abstract

Background: Breast Cancer is the second most frequent malignancy suffered by women in Indonesia after cervic uterine cancer. According to the researchs, green tea can afford to combat proliverative diseases because of polyphenol contained. Green tea polyphenol can inhibit carcinogenesis through several ways. They can be antioxidant, cell proliferation inhibition, and apoptotic induction. The objective of this research was to observe the effect of green tea polyphenol on the histological grading score of adenocarcinoma mammae in C3H mice.

Method: Experimental study with post test only control group design. Samples were 15 C3H mice and divided into 3 groups. Group K were inoculated by cancer cells and got standard diet. P1 were administered by 0,8 mg green tea polyphenol per day orally during 3 weeks before inoculated by cancer cells. P2 were inoculated by cancer cells first before administrated by 0,8 mg green tea polyphenol.

Result: There was a significant difference on histological grading score among all groups ($p=0,005$). The mean of total histological grading score was significant between K and P1 ($p=0,008$), between K and P2 ($p=0,045$), and between P1 and P2 ($p=0,016$).

Conclusion: Green tea polyphenol has an effect in declining the histological grading score of adenocarcinoma mammae in C3H mice.

Keywords: Green Tea Polyphenol, histological grading score, adenocarcinoma mammae,

* Student of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

** Lecturer of Histology Department Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

**Pengaruh Pemberian Polifenol Teh Hijau Terhadap Skor Derajat Histologis
Adenocarcinoma Mammae Mencit C3H**

Nenden Nursyamsi Agustina*, Ratna Damma Purnawati**

Abstrak

Latar Belakang : Kanker payudara merupakan jenis keganasan yang menduduki peringkat kedua yang mengenai wanita setelah kanker leher rahim di Indonesia. Berdasarkan hasil penelitian, teh hijau dapat mengatasi penyakit proliferasi karena kandungan polifenol dalam teh hijau yang memiliki aktivitas antikarsinogenik. Efek tersebut meliputi aktivitas antioksidan, penghambatan proliferasi sel, dan menginduksi apoptosis pada sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian polifenol teh hijau terhadap skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* mencit C3H.

Metoda : Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Sampel penelitian 15 ekor mencit strain C3H. Dibagi random menjadi 3 kelompok perlakuan. Kelompok K: diinokulasi sel kanker dan mendapat diet standar. P1: diinokulasi sel kanker, setelah timbul benjolan diberi Polifenol Teh Hijau 0,8 mg/hari. P2: diberi Polifenol Teh Hijau 0,8 mg/hari sampai 3 minggu, kemudian diinokulasi sel kanker. Polifenol Teh Hijau diberikan per oral dengan sonde lambung selama 3 minggu

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna dari rerata skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* antar kelompok ($p=0,005$). Rerata skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* berbeda bermakna antara kelompok K dibanding p1 ($p=0,008$), antara kelompok K dengan P2 ($p=0,045$), dan antara P1 dengan p2 ($p=0,016$).

Kesimpulan : Pemberian polifenol teh hijau berpengaruh dalam menurunkan skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* mencit C3H.

Kata Kunci: Polifenol Teh Hijau, skor derajat histologis, *adenocarcinoma mammae*.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

** Staf Pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Kanker adalah tumor ganas yang ditandai dengan pertumbuhan abnormal sel-sel tubuh.¹⁻⁵ Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2002, kanker merupakan penyebab kematian nomor tiga setelah penyakit jantung dan stroke.² Salah satu keganasan yang sering ditemukan di seluruh dunia adalah kanker payudara. Data *World Health Organization (WHO)* pada tahun 2004 menunjukkan bahwa lebih dari 1,2 juta orang wanita di dunia terdiagnosis kanker payudara.⁶ Kanker payudara merupakan jenis keganasan kedua terbanyak yang mengenai wanita setelah kanker leher rahim di Indonesia.¹⁻³

Upaya pencegahan dan pengobatan kanker payudara terus dilakukan. Terapi yang digunakan meliputi pembedahan, radioterapi, kemoterapi, terapi hormonal, dan imunoterapi. Mahalnya biaya pengobatan dan hasil terapi yang tidak memuaskan menjadi hambatan dalam terapi.^{7,8} Penggunaan kemoterapi banyak menimbulkan efek samping. Terapi tersebut bersifat toksik dan banyak yang telah resisten. Berdasarkan hal tersebut di atas, dibutuhkan suatu obat antikanker yang lebih efektif dan bersifat nontoksik.⁸

Konsep pencegahan dan pengobatan kanker dengan menggunakan bahan-bahan alami termasuk makanan menjadi salah satu pendekatan yang dipakai dalam mengurangi insidensi kanker.^{7,8} Teh hijau merupakan minuman yang digunakan secara luas oleh masyarakat. Berdasarkan hasil penelitian, teh hijau dapat mengatasi penyakit proliferasif seperti kanker dan aterosklerosis. Hal ini disebabkan karena kandungan polifenol dalam teh hijau yang memiliki aktivitas antikarsinogenik.⁸⁻¹¹ Efek tersebut meliputi aktivitas antioksidan, penghambatan proliferasi sel, dan menginduksi apoptosis pada sel kanker.^{10,11,12}

Berdasarkan hasil penelitian, polifenol teh hijau memiliki aktivitas penghambatan terhadap karsinogenesis pada saluran pencernaan, payudara, kandung kemih, esofagus, usus halus, dan kulit.^{7,13,15}

Polifenol dapat menghambat karsinogenesis dengan cara mempengaruhi serangkaian aktivitas molekuler yang terjadi pada tahap inisiasi, promosi, dan progresi.¹³ Polifenol teh hijau dapat meningkatkan kadar interleukin 12 (IL-12) dalam aliran limfonodi pada tikus coba yang diinduksi fotokarsinogenesis ultraviolet B (UVB). IL-12 dapat memacu produksi interferon gamma (IFN- γ) oleh sel *natural killer* (NK) dan limfosit T, menstimulasi diferensiasi CD4 sel T *helper* (Th) limfosit menjadi sel Th1 yang memproduksi IFN- γ , dan menambah fungsi sitolitik sel NK yang teraktivasi dan CD8+ sel T sitolitik (CTLs).^{5,14}

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian polifenol teh hijau terhadap skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk memberikan informasi tentang potensi polifenol teh hijau dalam karsinogenesis payudara, sebagai dasar pengembangan pengelolaan alternatif *adenocarcinoma mammae*, dan sebagai dasar teori bagi penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan binatang coba sebagai objek penelitian yang dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro selama empat bulan mulai Maret sampai Juni 2008.

Sampel yang digunakan adalah mencit strain C3H berusia 2 bulan sebanyak 15 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas

Kedokteran Universitas Indonesia. Sebelum mendapat perlakuan mencit diadaptasikan selama 1 minggu dalam kandang individual dan diberi pakan standard dan minum selama 1 minggu secara ad libitum.

Mencit secara random dibagi menjadi 3 kelompok penelitian, yaitu kelompok kontrol (K): mencit diinokulasi sel kanker dan diberi diet standard kemudian dibiarkan selama 3 minggu (n=5), kelompok perlakuan 1 (P1) : diberi polifenol teh hijau 0,8 mg selama tiga minggu kemudian diinokulasi dengan sel kanker dan dibiarkan selama 3 minggu (n=5), kelompok perlakuan 2 (P2): diinokulasi dengan sel kanker, setelah timbul benjolan kemudian diberi polifenol teh hijau 0,8 mg yang setara dengan 0,5 cc selama 3 minggu (n=5).

Mencit diterminasi dengan cara pembiusan menggunakan larutan ether. Jaringan tumor diambil dengan pembedahan dan dimasukkan ke dalam buffer formalin. Selanjutnya dibuat preparat secara histoteknik menggunakan blok parafin dan pengecatan Hematoxillin Eosin (HE). Masing-masing blok dibuat dua preparat. Pemeriksaan terhadap skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* dilakukan dengan memakai kriteria *Elston and Ellis modification of the Scarf-Bloom Richardson*.¹⁶ Pemeriksaan tersebut menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x dan 400x pada lima lapangan pandang yang mencakup empat area sudut dan satu area tengah. Pembacaan preparat dilakukan dengan cara *double blinding*.

Skor derajat histologis kanker payudara menurut Elston dan Ellis adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Skor derajat Histologis kanker payudara menurut Elston dan Ellis:

<i>Feature</i>	<i>Score</i>
<i>Tubule and gland formation</i>	
<i>Majority of tumour (>75%)</i>	<i>1</i>
<i>Moderate degree (10-75%)</i>	<i>2</i>
<i>Little or none (<10%)</i>	<i>3</i>
<i>Nuclear pleomorphism</i>	
<i>Small, regular uniform cells</i>	<i>1</i>
<i>Moderate increase in size and variability</i>	<i>2</i>
<i>Marked variation</i>	<i>3</i>
<i>Mitotic counts</i>	
<i>Dependent on microscope field area</i>	<i>1-3</i>

Skor total

Derajat I (<i>well differentiated</i>)	:	3-5
Derajat II (<i>moderate differentiated</i>)	:	6-7
Derajat III (<i>poorly differentiated</i>)	:	8-9

Uji hipotesis dilakukan menggunakan statistik non-parametrik *Kruskal Wallis*. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* karena terdapat perbedaan bermakna antar 3 kelompok yang diujikan ($P \leq 0,05$). Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS 15.0 for Windows.

HASIL PENELITIAN

Hasil pembacaan skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* mencit C3H ditampilkan dalam tabel berikut ini:

Tabel 2. Rerata Skor Derajat Histologis *Adenocarcinoma Mammae* Mencit C3H

Kelompok	Rerata	(SB)	Median	Min	Maks
K	6,8	0,35	6,60	6,60	7,40
P1	4,9	0,26	4,80	4,60	5,30
P2	5,8	0,57	5,70	5,20	6,70

Uji *Kruskal Wallis*; $p=0,005$

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai rerata skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* kelompok yang diberi polifenol teh hijau (P1 dan P2) lebih rendah daripada kelompok yang tidak diberi polifenol (K). Rerata skor derajat histologis kelompok Kontrol (K) berada pada derajat II (*moderate differentiated*) dengan nilai 6,8. Rerata skor derajat histologis P1 berada pada derajat I (*well differentiated*) dengan nilai 4,9. Kelompok P2 memiliki rerata skor derajat histologis 5,8 yang dikategorikan derajat II (*moderate differentiated*). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna.

Tabel 3. Nilai p antar kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*

Nilai P	K	P1	P2
K	-	0,008*	0,045*
P1	0,008*	-	0,016*
P2	0,045*	0,016*	-

Keterangan: * = berbeda bermakna

Rerata skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* pada kelompok P1 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol ($p=0,008$) dan rerata skor kelompok P2 juga lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol ($p=0,04$). Rerata skor P1 lebih rendah secara bermakna daripada P2 ($p=0,02$).

PEMBAHASAN

Rerata skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* pada kelompok yang diberi polifenol teh hijau (P1 dan P2) lebih rendah daripada kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan (K). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian polifenol teh hijau dengan dosis 0,8 mg selama tiga minggu memiliki peranan dalam menurunkan skor derajat histologis sel kanker payudara.

Penurunan skor derajat histopatologis *adenocarcinoma mammae* mencit *C3H* dapat terjadi karena kandungan polifenol yang terdapat dalam teh hijau memiliki aktivitas antikarsinogenik.⁸⁻¹² Polifenol dapat menginduksi apoptosis dan menghentikan siklus sel kanker,^{11,14} mencegah kerusakan imun akibat stress oksidatif, dan mencegah penyebaran tumor.¹⁴ Polifenol dapat menghambat karsinogenesis dengan cara mempengaruhi serangkaian aktivitas molekuler yang terjadi pada tahap inisiasi, promosi, dan progresi.¹³ Polifenol teh hijau mengandung unsur *EGCG* yang merupakan konstituen antikarsinogenik utama dan paling efektif dalam teh hijau.^{7,8,13,17,18,19}

Pemberian *EGCG* dengan *dose dependent* 5-80 µg/ml dan *time dependent* 24-72 jam pada penelitian yang dilakukan menggunakan sel kanker payudara manusia *MDA-MB-468* secara invitro dengan kanker payudara ER(-) menunjukkan penghambatan proliferasi sel (15%-100%) dan viabilitas sel (3%-78%). Penurunan viabilitas sel disebabkan adanya induksi apoptosis (18%-66%) yang dianalisis menggunakan pemeriksaan *DNA*, pengecatan *fluorescence*, dan flowsitometri. Induksi apoptosis oleh *EGCG* bersamaan dengan meningkatnya ekspresi protein supresor tumor *p53* dan fosforilasinya pada residu *Ser 15*. *EGCG* mengurangi ekspresi protein antiapoptosis *Bcl-2* dan meningkatkan protein proapoptosis *Bax*. Peningkatan rasio protein *Bax/Bcl-2* setelah pemberian *EGCG*

menyebabkan naiknya pengeluaran sitokrom c dari mitokondria ke dalam sitosol, meningkatnya ekspresi *Apaf-1*, dan aktivasi *caspase-3* dan *poly(ADP-ribose) polymerase*, yang dapat memacu apoptosis pada sel *MDA-MB-468*.⁸

EGCG menghambat angiogenesis dengan cara menghambat proliferasi sel endotel.^{9,12} Hasil penelitian Swiercz et al menunjukkan bahwa *EGCG* mengurangi angiogenesis membran korioalantois embrio ayam. Teh hijau juga dapat meningkatkan frekuensi apoptosis dari sel endotel tikus model yang diinduksi limfoma non-Hodgkin manusia.⁹

Berdasarkan penelitian, *EGCG* dapat meningkatkan kadar IL-12 dalam aliran limfonodi pada tikus coba yang diinduksi fotokarsinogenesis UVB. IL-12 akan menginduksi sel limfosit *Th CD4* untuk menghasilkan IL-2 dan IL-3. IL-2 akan menginduksi sel *NK* untuk berdiferensiasi menjadi *lympokine activated killer (LAK)* yang memiliki kemampuan membunuh sel yang mengalami transformasi keganasan.^{5,14,20} IL-3 dapat merangsang sel *NK* untuk menghasilkan IFN- γ yang dapat meningkatkan aktivitas sel.¹⁴

KESIMPULAN

Pemberian polifenol teh hijau berpengaruh dalam menurunkan skor derajat histologis *adenocarcinoma mammae* mencit C3H.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian dengan sampel yang lebih homogen menggunakan jenis kelamin hewan coba yang seragam mengingat faktor

hormonal merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap mekanisme terjadinya kanker payudara.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. A. Zulfa Juniarto, M.Si.Med, Sp.And dan dr. Siti Amarwati, Sp.PA selaku penguji, seluruh dosen dan staf laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes dan dr. Hardian selaku konsultan, dr. Dayat dan staf bagian laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Bagian Patologi Anatomi FKUI yang telah membantu dalam penyediaan mencit, serta pihak-pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Azamris. Analisis Faktor Risiko pada Pasien Kanker Payudara di Rumah Sakit Dr. M. Djamil Padang. *Cermin Dunia Kedokteran* 2006;152: 53.

2. Pemerintah Provinsi Jawa Tengah. Profil Kesehatan provinsi Jawa Tengah. 2003
3. Tjindarbumi D, Mangunkusumo R. Cancer in Indonesia, Present and Future. *Journal of Clinical Oncology* 2002;32 (1):17-21.
4. Nurlaila I, Hadi M. Kanker: Pertumbuhan, Terapi dan Nanomedis. Available at: <http://www.nalo.lipi.go.id>. taken: 25 September 2007.
5. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2005. 391-410
6. WHO. Guidelines for the Early Detection and Screening of Breast Cancer. Egipt: Fikra advertising Agency. 2006.
7. Demeule M, Levesque JM, Annabi B, Gingras D, Boivin D, Jodoin J, et al. Green tea Catechins as Novel Antitumor and antiangiogenic Compounds. *Curr.Med.Chem-Anticancer Agents* 2002;2:441-463
8. Roy AM, Manjeshwar SB, and Santosh KK. Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis in estrogen receptor-negatif human breast carcinoma cells via modulation in protein expression of p53 and bax and caspase activation
9. Sartippour MR, Shao ZM, Heber D, Beatty P, Zang L, Liu C, et al. Green Tea Inhibits Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Induction in Human Breast Cancer Cells. *The Journal of Nutrition*:2307-2311.
10. Tsubono Y, Nishino Y, Komatsu S, Hsieh C, Kanemura S, Tsuji I, et al. Green Tea and the Risk of Gastric Cancer in Japan. *New England Journal Medicine* 2001 (Maret 1);344(9):632-6361.
11. Aktas O, Prozorovski T, Smorodchenko A, Savanskan NE, Lauster R, Kloetzel PM, et al. Green tea Epigallocatechin-3-Gallate mediates I cellular NF-kB Inhibition and Exerts Neuroprotection in Autoimmune Encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*.
12. Yang CS, Prabhu S, Landau J. Prevention of carcinogenesis by Tea Polyphenol. *Drug Metabolism review* 2001;33(3&4):237-253.
13. Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of Carcinogenesis by Dietary Polyphenolic Compound. *Annu.Rev.Nutr* 2001. 21:381-406.
14. Yunarti. Pengaruh *Polyphenols* Teh Hijau terhadap kapasitas produksi TNF- α oleh Sel Mononuklear Darah Tepi pada Penderita Karsinoma nasofaring yang Mendapat Radioterapi. Semarang: Program Pasca Sarjana. 2007.
15. Chen L, Lee MJ, Li H, Yang CS. Absorption, Distribution, and Elimination of Tea Polyphenols in Rat. *The American society for Pharmacology and Experimental therapeutics*. 25(9).
16. Tavassoli FA, Devilee P (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of tumours of Breast and Female Genital Organs. IARC Press: Lyon. 2003.
17. Fassina G, Vene R, Morini M, Minghelli S, Benelli R, Noonan DM, et al. Mechanisms of Inhibition of Tumor Angiogenesis and Vascular Tumor Growth by Epigallocatechin-3-Gallate. *Clinical Cancer Research*. 15 Juli 2004;10: 4865-4873.

18. Mukhtar H, Ahmad N. Green Tea in Chemopreventive of Cancer. *Toxicological Science* 1999;52:111-117.
19. Tachibana H, Koga K, Fujimura Y, Yamada K. A receptor for Green Tea Polyphenol EGCG. *Nature Structural & Molecular Biology* 2004 4 April.14(3&4).
20. Kresno SB. *IMUNOLOGI: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta: Balai penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2001: p208-229

LAMPIRAN 1

METODE INOKULASI SEL ADENOKARSINOMA MAMMAE

PADA MENCIT *C3H*

Alat dan Bahan

- mencit *C3H* (donor dan resipien)
- spuit insulin + jarum ukuran 18
- gunting bedah 10 cm
- gunting bengkok 10 cm
- pinset anatomis dan *chirurgis*
- botol jaringan
- sterofoam atau papan lilin
- cawan arloji
- cawan petri
- buffer formalin 10%
- es batu
- baskom
- alkohol 70%
- kapas
- hand scun
- ringer laktat / NaCl 0,9%

Cara Inokulasi

- a. Siapkan mencit donor, diterminasi lalu diambil jaringan tumornya.
- b. Bersihkan jaringan tumor tersebut dalam cawan petri yang sudah diisi dengan NaCl 0,9% dari jaringan ikat, pembuluh darah dan jaringan lain yang melekat.
- c. Buat bubur tumor di cawan arloji yang diletakkan di atas baskom es dengan menggunakan gunting bengkok sampai lembut (bubur tumor bisa masuk ke dalam jarum spuit).
- d. Encerkan bubur tumor dengan NaCl 0,9% (bubur tumor : NaCl 0,9% = 1:1), lalu campur rata kemudian masukkan ke dalam spuit insulin sampai batas 0,2 ml dan suntikkan subcutan ke mencit *C3H* resipien.

LAMPIRAN 2

METODE BAKU PEMBUATAN SEDIAAN PENELITIAN

UNTUK PEMERIKSAAN HISTOPATOLOGI RUTIN

A. Fiksasi

1. Potongan jaringan dimasukkan dalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam buffer Natrium asetat sampai mencapai pH 7,0) selama 18-24 jam.
2. Kemudian dilakukan pemotongan jaringan menjadi 2 potongan sama besar.
3. Semua potongan dimasukkan dalam larutan aquades selama 1 jam untuk proses penghilangan larutan fiksasi.

B. Dehidrasi

1. Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat hingga jaringan menjadi lebih jernih dan transparan.
2. Kemudian jaringan dimasukkan dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam.
3. Kemudian jaringan dimasukkan dalam larutan xylol murni selama 2x2 jam.

C. Impregnasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2x2 jam.

D. *Embedding* (pengeraman)

1. Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58 °C, ditunggu sampai parafin padat.
2. Jaringan di dalam parafin dipotong setebal 4 mikron dengan mikrotom.
3. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat.
4. Jaringan pada kaca objek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58 °C sampai parafin mencair.

E. Pewarnaan jaringan dengan H&E

Secara berurutan jaringan pada kaca objek dimasukkan dalam :

1. xylol I 5 menit
2. xylol II 5 menit
3. alkohol absolut 3x2 menit
4. air mengalir 2 menit
5. HE Lillie-Mayer 5 menit
6. air mengalir 2 menit
7. alkohol asam 0,4% 3 celup
8. air mengalir 2 menit
9. lithium carbonat jenuh 3 celup
10. air mengalir 2 menit
11. alkohol 3x2 menit
12. xylol 3x5 menit. Kemudian ditutup dengan kaca penutup, maka jadilah preparat.

LAMPIRAN 3

**HASIL PEMBACAAN PREPARAT
SKOR DERAJAT HISTOPATOLOGIK ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT C3H
(Pembacaan Pertama)**

Kelompok Perlakuan	Preparat	Skor Derajat Histopatologik															
		LP 1			LP 2			LP 3			LP 4			LP 5			Rata-rata
		T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	
Kontrol (K)	1	3	2	2	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	7
	2	3	2	2	3	2	2	3	3	1	3	2	1	2	2	1	6,4
	3	3	3	2	3	3	2	3	2	2	3	2	1	3	2	1	7
	4	3	2	1	2	3	1	3	3	1	2	3	1	3	3	1	6,4
	5	2	3	2	2	3	2	3	3	3	2	3	3	3	3	1	7,6
P1	1	3	2	1	1	2	1	3	3	1	2	2	1	2	2	1	5,4
	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	4,4
	3	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	5
	4	2	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	4,6
	5	2	2	1	3	2	1	2	2	1	3	2	2	2	2	1	5,6
P2	1	2	3	1	2	3	1	1	3	1	2	3	1	2	3	1	5,8
	2	3	2	1	2	2	1	2	3	1	2	2	1	2	3	1	5,6
	3	3	3	1	3	3	1	2	3	2	3	3	2	2	2	2	6,8
	4	3	2	1	3	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	5,6
	5	2	2	1	1	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	4,8

HASIL PEMBACAAN PREPARAT
SKOR DERAJAT HISTOPATOLOGIK ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT C3H
(Pembacaan Kedua)

Kelompok Perlakuan	Preparat	Skor Derajat Histopatologik															
		LP 1			LP 2			LP 3			LP 4			LP 5			Rata-rata
		T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	T	NP	MC	
Kontrol (K)	1	3	2	1	3	2	1	3	3	1	3	2	1	3	2	1	6,2
	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2	3	3	2	1	6,8
	3	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	1	3	3	1	6,6
	4	3	3	1	3	3	1	3	2	1	3	3	1	3	3	1	6,8
	5	3	2	2	3	3	1	3	3	2	2	3	2	2	3	2	7,2
P1	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	3	2	1	5,2
	2	3	1	1	2	1	2	2	1	1	1	2	1	3	2	1	4,8
	3	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	4,6
	4	3	3	1	2	2	1	3	2	1	2	2	1	2	2	1	5,2
	5	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1	4
P2	1	2	3	1	2	3	1	2	2	1	3	2	1	3	3	1	6
	2	2	2	1	2	2	1	3	3	1	2	2	1	2	2	1	5,4
	3	3	3	1	3	3	1	2	2	1	3	3	1	2	3	1	6,6
	4	3	3	1	3	2	1	2	2	1	2	2	1	2	3	1	5,8
	5	3	2	1	2	2	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	5,6

LAMPIRAN 4

Explore

Hasil pemeriksaan

Descriptives

Hasil pemeriksaan

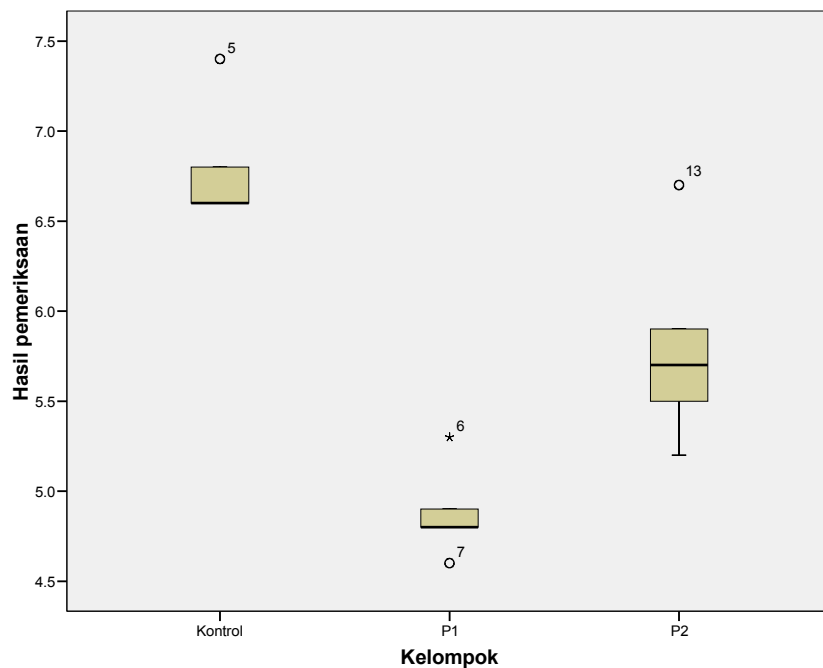
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	6.800	.3464	.1549	6.370	7.230	6.6	7.4
P1	5	4.880	.2588	.1158	4.559	5.201	4.6	5.3
P2	5	5.800	.5657	.2530	5.098	6.502	5.2	6.7
Total	15	5.827	.8964	.2314	5.330	6.323	4.6	7.4

Tests of Normality

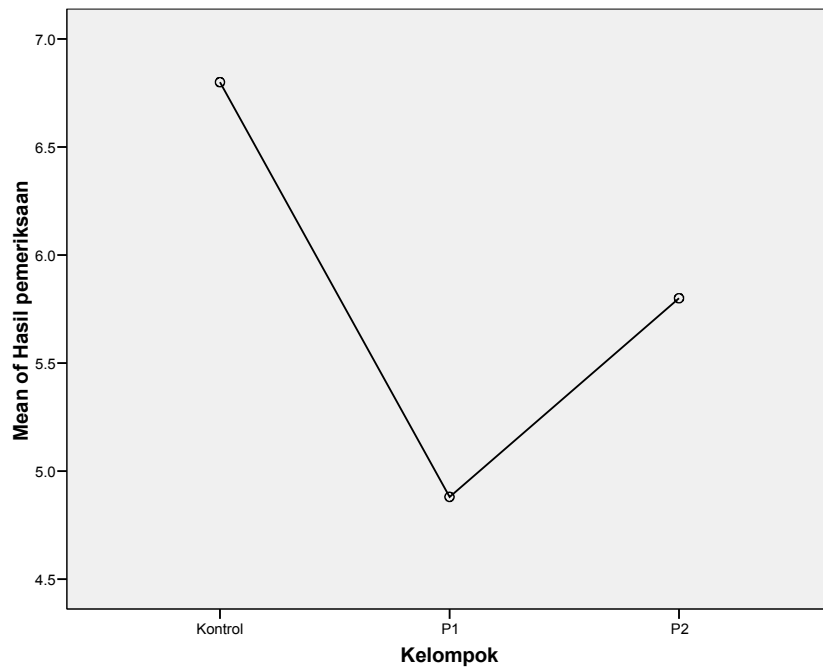
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil pemeriksaan Kontrol	.318	5	.109	.701	5	.010
P1	.269	5	.200*	.894	5	.376
P2	.230	5	.200*	.934	5	.625

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



Means Plots



NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Hasil pemeriksaan	Kontrol	5	12.40
	P1	5	3.20
	P2	5	8.40
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	Hasil pemeriksaan
Chi-Square	10.736
df	2
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil pemeriksaan	Kontrol	5	8.00	40.00
	P1	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil pemeriksaan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.652
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil pemeriksaan	Kontrol	5	7.40	37.00
	P2	5	3.60	18.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil pemeriksaan
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-2.009
Asymp. Sig. (2-tailed)	.045
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil pemeriksaan	P1	5	3.20	16.00
	P2	5	7.80	39.00
	Total	10		

Test Statistics^b

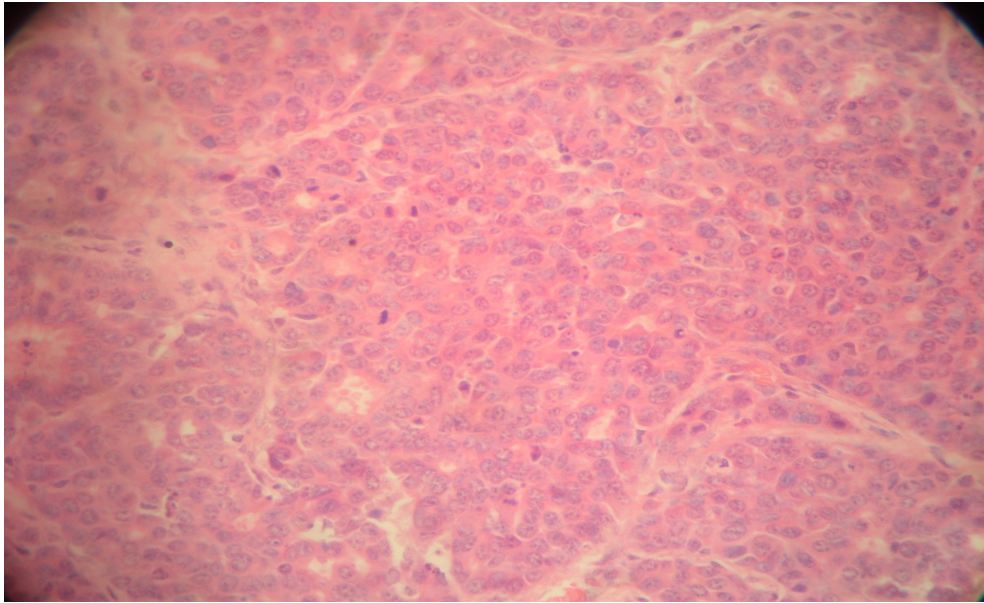
	Hasil pemeriksaan
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.410
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

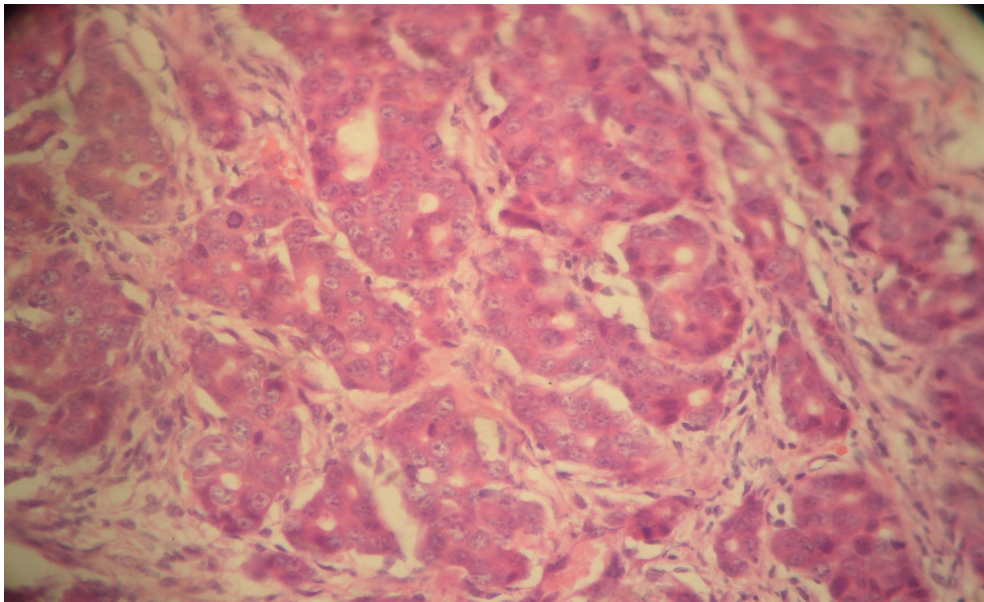
b. Grouping Variable: Kelompok

LAMPIRAN 7

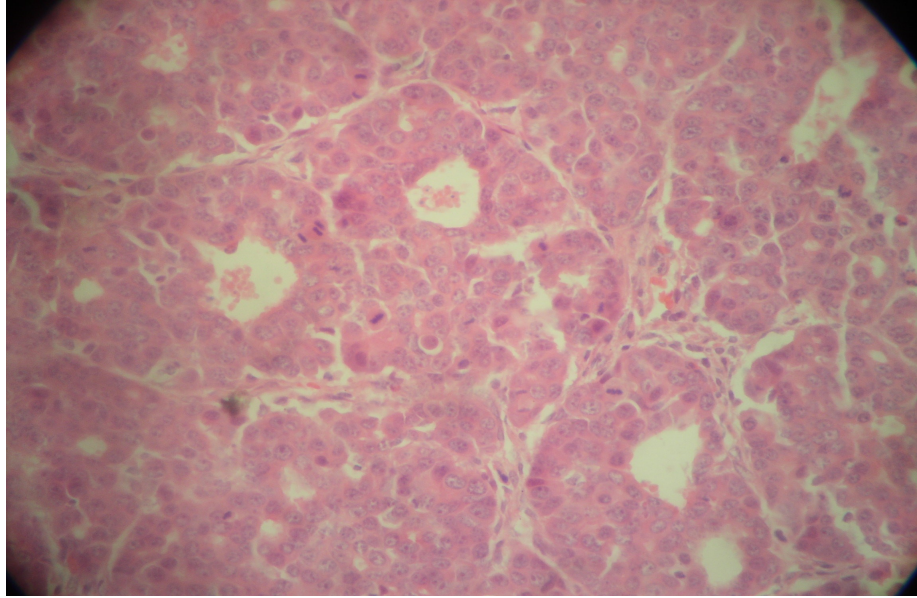
Foto Preparat



Preparat Kontrol (K)



Preparat P1



Preparat P2