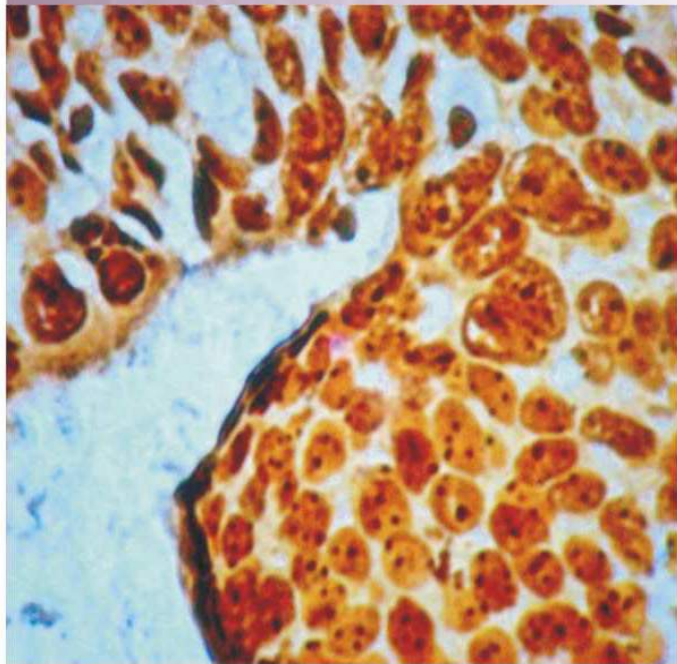


ISSN 1979-1305

VETERINARIA *Medika*



Vet Med | Vol. 2 | No. 1 | Hal 1-86 | Surabaya, Pebruari 2009

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Veterinaria Medika

Vol 2 , No. 1, Pebruari 2009

Veterinaria Medika memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan
Peternakan.

Terbit pertama kali tahun 2008 dengan frekuensi terbit tiga kali setahun pada bulan
Pebruari, Juli dan Nopember.

Susunan Dewan Redaksi

Ketua penyunting :

Widjiati

Sekretaris :

Lucia Tri Suwanti

Bendahara :

Hani Plumeriastuti

Iklan dan Langganan :

Budi Setiawan

Penyunting Pelaksana :

Imam Mustofa

Mustofa Helmi Effendi

Sri Hidanah

Suherni Susilowati

Gracia Angelina Hendarti

Penyunting Teknis :

Djoko Legowo

Alamat Redaksi : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus C Unair Jl. Mulyorejo Tel. (031) 5992785 – 5993016
Surabaya 60115
Fax (031) 5993015 E-mail : vetmed_ua@yahoo.com

Rekening : BNI Cabang Unair No Rek. 0112443027 (Hani Plumeriastuti)
Veterinaria Medika diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

DAFTAR ISI

	Halaman
1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Air <i>Phyllanthus niruri</i> L. Sebagai Imunostimulator pada Ayam yang Divaksin <i>Newcastle Disease</i> Jola Rahmahani	1-6
2 Aktivitas Proliferasi Sel Kelenjar Mammae Setelah Pemberian Ekstrak Daun <i>Gynura procumbens</i> dan Inisiasi Dmba (Dimethylbenz(a)antrasen) pada Tikus Galur <i>Sprague dawley</i> Iwan Sahrial Hamid	7-12
3 Karakterisasi <i>Growth Differentiation Factor-9</i> (GDF-9) pada Oosit Sapi yang Dikoleksi dari Folikel Preantral dengan Metode <i>Dotblotting</i> Widjiati, Epy M Luqman, Firman Kristianto Sumedi, Ismudiono, Nanik Sianita	13-16
4 Nilai <i>Optical Density</i> Antibodi Terhadap <i>Pregnancy-Associated Glycoproteins</i> (PAGs) Serum Darah Sapi Perah Bunting pada Kelinci Lokal Jantan (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) Tita Damayanti Lestari, Setyarina Indrasari, Pudji Srianto, Ajik Azmijah	17-20
5 Kajian Pelaksanaan Program Inseminasi Buatan Sapi Potong Di Jawa Barat Siti Darodjah Rasad, Sondi Kuswaryan	21-28
6 Glikoprotein pada Membran Spermatozoa Manusia Amy Tenzer, Umie Lestari	29-34
7 Uji Spesifisitas Anti-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ dengan Metode Indirect Elisa Pudji Srianto dan Sri Pantja Madyawati	35-38
8 Uji Beberapa Bahan Antimikrobia Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> Penyebab Mastitis pada Sapi Perah Di Wilayah Kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan Erni Rosilawati, Nyta Apriantini, Emile Bambang Sasongko	39-44
9 Hubungan Derajat Uji Mastitis Subklinis Menggunakan <i>California Mastitis Test</i> dengan Jumlah Bakteri pada Susu Hasutji Endah Narumi, Beta AP, Setyawati Sigit	45-48
10 Pemeriksaan Kadar Progesteron pada Sapi Perah Bunting dengan Metode <i>Emzyme Immunoassay</i> (EIA) Abdul Samik	49-54
11 Identifikasi Gen Penyandi Fibrinogen Binding Protein Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari Susu <i>Bovine Mastitis</i> Mustofa Helmi Efendi	55-60

- 12 Polimorfisme Gen Koagulase Sebagai Pelacak Variabilitas Strain *Staphylococcus aureus* dari Kasus *Bovine Mastitis* 61-66
Budiarto dan Mustofa Helmi Effendi
- 13 Konsentrasi Protein Total Plasma Seminalis Kambing dengan Metode Biuret 67-72
Suherni Susilowati
- 14 Konsumsi Protein Kasar *Haylage Complete Feed* pada Sapi Peranakan Ongole 73-76
Widya Paramita Lokapirnasari
- 15 Kandungan Protein Kasar dan Bahan Kering pada Fermentasi Kangkung Sebagai Alternatif Bahan Pakan 77-80
Adriana Monica Sahidu
- 16 Efek *Forced Moulting* pada Unggas Sebagai Penyebab Kasus Zoonosis *Salmonella Enteridis (Se)* 81-86
Rudy Sukanto S dan Gracia Angelina H

Aktivitas Proliferasi Sel Kelenjar Mammae Setelah Pemberian Ekstrak Daun *Gynura procumbens* dan Inisiasi Dmba (Dimethylbenz(a)antrasen) pada Tikus Galur *Sprague dawley*

Proliferation Activity Of Gland Mammae After Leaves *Gynura procumbens* Extract Which Dmba (Dimethylbenz(a)antrasen) Initiation on *Sprague dawley* Rat

Iwan Sahrial Hamid

Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115

Telp. 031.5992785, Fax. 031.5993015

Email : iwandafi@telkom.net

Abstract

The purpose of this research is to determine the effect of etanolic extract of *Gynura procumbens* leaves in the prevention of breast cancer by inhibit epithelial cells proliferation of mammary gland. The *Sprague dawley* rats were divided into 4 groups of treatments. Etanolic extract of *Gynura procumbens* was given everyday in 2 doses (300 and 750 mg/kg bw) for 7 weeks. DMBA, which was used to induct breast cancer, was given twice a week start at 3rd week until 7th weeks. Tumor progression was inspected until the 12th weeks after the last initiation of DMBA. Proliferation activity was quantified by AgNOR method. Result of this study demonstrated that etanolic extract of *Gynura procumbens* leaves with 300 and 750 mg/kg bw could significantly inhibit carcinogenesis in mammary histopathology. Proliferation activity to epithelial cells of mammary gland was determined by black spots in nuclear cells. The comparation between 300 and 750 mg/kg bw show that 300 mg/kg bw more effectively decreasing proliferation (1.17 ± 0.04^b) to epithelial cells of mammary gland than control group DMBA (2.79 ± 0.03) and inhibit carcinogenesis. It can be concluded that ethanolic extract of *Gynura procumbens* leaves with 300 mg/kg bw could give chemopreventive effect on mammary carcinogenesis.

Keywords : Proliferation, AgNOR, *Gynura procumbens*, and DMBA

Pendahuluan

Kanker kelenjar mammae termasuk jenis kanker yang paling sering diderita kaum wanita disamping kanker kulit dan merupakan penyebab kematian kedua setelah kanker paru. Secara keseluruhan dari semua kasus kanker pada wanita di Amerika Serikat, kanker payudara menduduki peringkat pertama (32%) dan kematian karena kanker jenis ini mencapai 18% (King, 2000). Hal serupa tampaknya juga terjadi pada hewan, khususnya anjing dan kucing. Kasus kanker kelenjar mammae pada anjing betina menempati tempat kedua terbanyak setelah kanker kulit. Diperkirakan 165-198 dari 10.000 ekor anjing betina mengidap kanker kelenjar mammae dimana 50% bersifat benigna dan 50% bersifat maligna. Kejadian kanker kelenjar mammae pada kucing lebih jarang terjadi namun dari keseluruhan kasus kanker kelenjar mammae pada kucing, tercatat 85% bersifat maligna dan sisanya bersifat benigna (Liptak, 2004).

Beberapa upaya penatalaksanaan penyakit kanker masih banyak menemui kendala yang mengakibatkan kurangnya keberhasilan dalam mencegah dan mengobati kanker. Pemberian kemoterapi antikanker memiliki efek farmakologi yang kurang selektif, efek samping yang merugikan dan dilaporkan adanya resistensi beberapa jenis kanker (King, 2000).

Penemuan tanaman obat yang menunjukkan efek farmakologis terhadap kanker, mendorong beberapa peneliti untuk melakukan eksplorasi bahan bioaktif dari tanaman tersebut. Penggunaan daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) tampaknya menjadi alternatif peneliti untuk diketahui aktivitasnya sebagai obat kanker, karena ekstrak bahan tersebut mengandung senyawa yang dapat menghambat karsinogenesis. Ekstrak etanol daun Sambung nyawa yang mengandung flavonoid terbukti mampu menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit yang diinduksi dengan benzo(a)pirene (Sugiyanto dkk., 2003).

Keseimbangan proliferasi sel dan apoptosis sangat penting dalam pertumbuhan dan homeostasis jaringan normal. Pada sel kanker keseimbangan ini sudah tidak berjalan (Guo and Hay, 1999). Sel kanker mempunyai kemampuan dalam memenuhi kebutuhan terhadap *signal* pertumbuhan, tidak sensitif terhadap *signal* antiproliferatif, mampu menghindar dari mekanisme apoptosis dan mempunyai kemampuan replikasi yang tak terbatas (Hanahan and Weinberg, 2000). Hal ini mengakibatkan sel kanker akan berproliferasi terus menerus, sehingga untuk mengetahui aktivitas sel tumor dapat ditentukan dengan aktivitas proliferasi selnya (Rizali and Auerkari, 2003).

Salah satu teknik untuk mengamati aktivitas proliferasi adalah dengan pewarnaan Silver NOR (AgNOR). *Nuclear Organizer Regions* (NOR) adalah loop DNA pada tangan pendek kromosom akrosentrik (13, 14, 15, 21 dan 22) dalam nukleoli sel dan berhubungan dengan aktivitas gen ribosomal RNA sintesa protein dan proliferasi sel. Jumlah AgNOR per nukleus berkorelasi positif dengan aktifitas proliferasi sel (Lee *et al.*, 1999 ; Rizali and Auerkari, 2003).

Tujuan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak daun *Gynura procumbens* sebagai kemopreventif kanker pada tikus yang diinisiasi DMBA melalui pengamatan hambatan karsinogenesis aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae dengan teknik pewarnaan AgNOR.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Unair meliputi pemeliharaan hewan coba, percobaan karsinogenesis dan pemberian ekstrak *Gynura procumbens*. Laboratorium Balai Penelitian Penyakit Veteriner (BPPV) Yogyakarta untuk pembuatan preparat HE dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM untuk pembuatan preparat AgNOR serta Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair untuk pengamatan preparat.

Disain penelitian ini pada dasarnya menggunakan model pre inisiasi DMBA yang dimaksudkan adalah pemberian ekstrak etanol *Gynura procumbens* diberikan sebelum pemberian senyawa karsinogen DMBA. Hewan coba yang digunakan tikus putih galur *Sprague dawley* betina umur 40 hari dengan berat badan antara 60-70 gram. Tikus ditempatkan pada kandang dengan ukuran sama berupa bak plastik yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, setiap bak

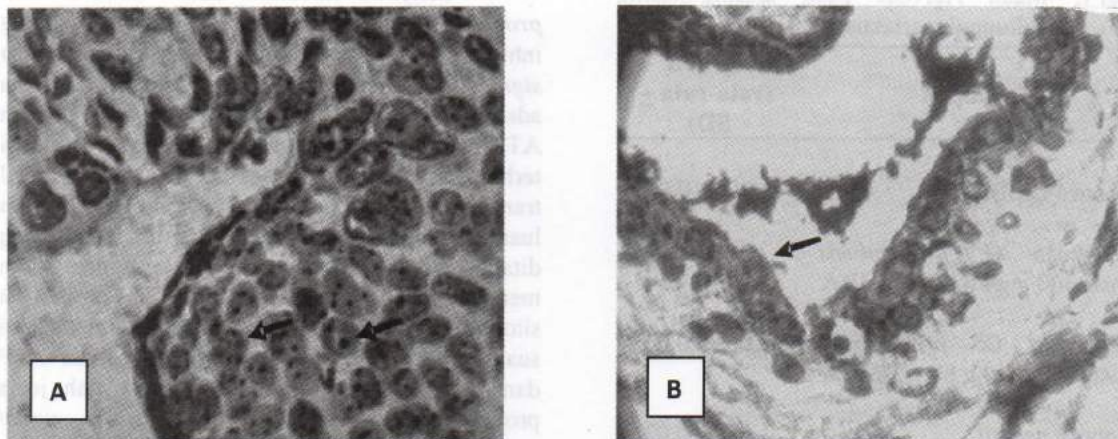
terdapat 5 ekor tikus, pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Seluruh kandang ditempatkan pada satu ruang yang memiliki ventilasi cukup baik.

Sejumlah 20 ekor tikus betina galur *Sprague dawley* dikelompokkan menjadi empat kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan memerlukan lima ekor tikus sebagai ulangan.

Pengelompokan hewan percobaan pada setiap kelompok perlakuan adalah sebagai berikut : Kelompok I : Kelompok kontrol DMBA (tanpa diberi ekstrak). Pada umur 54 hari tikus diberi DMBA 20 mg/kg bb dalam minyak jagung intragastrik frekuensi seminggu dua kali selama lima minggu, mulai minggu kedua sampai dengan minggu ketujuh. Kelompok II dan III : Kelompok perlakuan ekstrak *Gynura procumbens* dosis 300 dan 750 mg/kg bb. Pada umur 40 hari tikus diberi ekstrak etanol *Gynura procumbens* dosis 300 mg/kg bb intragastrik, setiap hari selama tujuh minggu dengan frekuensi satu kali sehari, mulai diberikan pada minggu pertama sebelum pemberian DMBA. DMBA 20 mg/kg bb intragastrik diberikan mulai minggu kedua sampai dengan minggu ketujuh, dengan frekuensi pemberian dua kali seminggu dan Kelompok IV : Kelompok kontrol negatif. Kelompok ini tidak diberi perlakuan apapun. Lima ekor tikus dikorbankan pada akhir minggu ke 19 untuk pembuatan preparat histology dengan pewarnaan AgNOR.

Penelitian ini menggunakan tipe Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan empat perlakuan dan lima ulangan. Evaluasi hasil efek kemopreventif daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dilakukan secara mikroskopis yaitu dengan pengamatan aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae dari hasil pewarnaan Agrinofilik Nucleolar Organizer Region (AgNOR). Preparat AgNOR digunakan untuk mengamati tingkat aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae dengan gambaran multiple nukleolus dalam bentuk titik hitam dalam sel. Pada tiap sampel dihitung minimal 100 sel (rata-rata 110 sel) dengan 3 kali pengamatan (3 daerah lapang pandang yang berbeda). Parameter aktivitas proliferasi digunakan nilai m AgNOR yaitu rata-rata jumlah titik hitam (NOR) pada setiap sel, yang dilakukan dengan membagi seluruh jumlah titik hitam dalam sel yang teramati dengan seluruh jumlah sel yang teramati (minimal 100 sel).

Hasil perhitungan m AgNOR diuji normalitas data dengan *Kolmogorov-Smirnov*. Bila data terdistribusi normal, kemudian dianalisa dengan uji statistik Parametrik *One-Way ANOVA*



Gambar 1. Gambar aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae kelompok I dan II, titik hitam merupakan anak inti yang membelah (AgNOR;1000x)

dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 99%. Uji statistik dilakukan dengan bantuan perangkat lunak SPSS® 14.0 for Windows®.

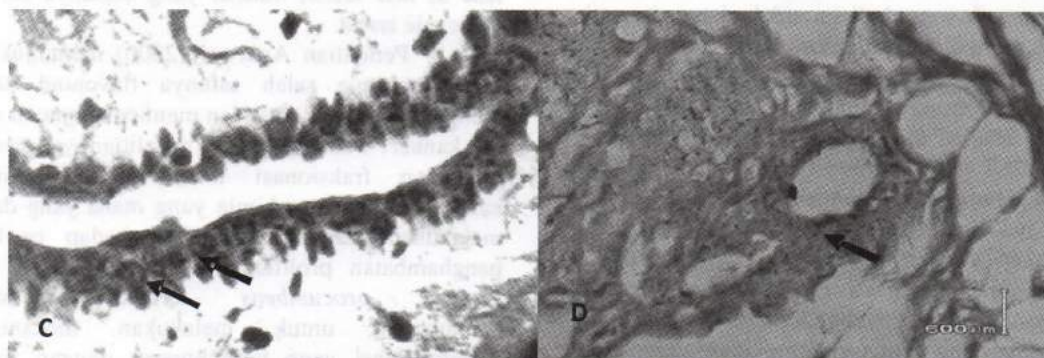
Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan histopatologi dengan metode AgNOR menunjukkan adanya perbedaan aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae pada masing-masing kelompok. Pada kelompok I aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae paling tinggi dengan terlihatnya jumlah titik hitam pada tiap sel yang berjumlah rata-rata 3 pada tiap sel (tanda panah hitam) (gambar 1A).

Pada kelompok II dan III terlihat gambaran aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae yang mengalami penurunan secara signifikan jumlah titik hitam pada tiap sel (panah hitam). Pada setiap sel epitel kelenjar mammae

terlihat rata-rata titik hitam berjumlah satu pada kelompok II (gambar 1B), sedangkan pada kelompok III terlihat rata-rata titik hitam berjumlah dua pada setiap sel epitel kelenjar mammae (gambar 2C). Sedangkan pada kelompok IV dalam setiap sel epitel kelenjar mammae terlihat titik hitam berjumlah satu (gambar 2D)

Titik hitam (NOR) pada tiap kelompok kemudian dirata-rata dan disajikan dalam tabel 1.



Gambar 2. Gambar aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae kelompok III dan IV (AgNOR; 1000x).

Tabel 1. Mean AgNOR pada masing-masing kelompok perlakuan.

Kelompok	AgNOR (rata-rata \pm SD)
Kontrol DMBA	2,79 ^a \pm 0,03
Perlakuan <i>G. procumbens</i> dosis 300 mg/kg bb + DMBA	1,17 ^c \pm 0,04
Perlakuan <i>G. procumbens</i> dosis 750 mg/kg bb + DMBA	2,02 ^b \pm 0,06
Kontrol negatif	1,07 ^d \pm 0,02

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$)

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa mAgNOR tertinggi didapat pada kelompok I yaitu $2,79 \pm 0,03$ sedangkan kelompok IV memiliki mAgNOR terendah yaitu $1,07 \pm 0,02$. Pada kelompok II nilai mAgNOR sebesar $1,17 \pm 0,04$ dan nilai mAgNOR pada kelompok III adalah $2,02 \pm 0,06$. Melalui data pada tabel terlihat bahwa terjadi penurunan aktivitas proliferasi secara signifikan ($p < 0,01$) pada kelompok II dan III dibandingkan kelompok I dan masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang sangat nyata.

Pada pengamatan dengan metode pewarnaan AgNOR, terjadi penurunan aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae secara signifikan. Hal ini dimungkinkan oleh dua hal, yaitu karena DMBA memiliki sifat sebagai *bifunctional inducer* dimana DMBA ini dapat menginduksi enzim metabolisme pada hepar fase I dan fase II melalui aktivasi *aryl hydrocarbon receptor* dan Nrf2 (Nguyen dkk. 2003). Mekanisme flavonoid disini tidak dapat diamati, hal yang perlu diketahui bahwa tubuh menganggap DMBA tersebut sebagai bahan asing dan berusaha untuk mengekskresikannya. Proses eksresi senyawa tersebut dimotori oleh enzim dalam fase II yaitu GST yang berfungsi untuk mengkonjugasi dan mengeliminasi karsinogen yang masuk dalam tubuh, hal inilah yang berperan dalam aksi pencegahan kanker, sedangkan flavonoid disini berperan untuk mengaktifasi mekanisme tersebut sehingga proses karsinogenesis tidak berlanjut. Mekanisme yang kedua kemungkinan akibat titik tangkap molekuler senyawa alam yaitu adanya kandungan flavonoid dalam daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens*).

Senyawa flavonoid dalam daun *Gynura procumbens* dimungkinkan mengandung suatu zat inhibitor kinase sehingga dapat menghambat *signal transduction cascades*. Misalnya karena adanya flavonoid yang dapat berkompetisi dengan ATP dalam proses fosforilasi sehingga fosforilasi terhambat. Menurut Weinberg (1996) sinyal transduksi dimulai dengan adanya rangsangan dari luar sel yang berupa faktor pertumbuhan yang ditangkap oleh reseptor. Reseptor akan menyampaikan sinyal proliferasi ke protein di sitoplasma. Aktivasi sinyal transduksi ini melalui suatu proses fosforilasi dengan melibatkan ATP dan protein yang terlibat umumnya adalah jenis protein kinase (Gibbs, 2000). Proses *signal transduction cascades* ini dapat dihambat oleh beberapa senyawa alam yang termasuk inhibitor fosfatase dan inhibitor kinase (Cardenas *et al.*, 1998).

Kemungkinan lain diduga bahwa flavonoid mampu mempengaruhi program *cell cycle* yaitu dengan jalan menghambat *cell cycle progression* dan menginduksi *cell cycle arrest*. Rangkaian *signal transduction* berakhir di nukleus dan sel dari G0 masuk ke fase G1. Menurut Weinberg (1996) *signal transduction* menginisiasi faktor transkripsi gen-gen yang dibutuhkan untuk jalannya siklus sel. Gen tersebut antara lain *cyclin* dan *cyclin dependent kinase* (CDK). Untuk dapat memfasilitasi G1 progression, kedua protein ini (D-type cyclin dan CDK4 atau CDK6) harus membentuk kompleks untuk memfosforilasi *pRB* sehingga memacu *cell cycle progression*. Flavonoid ini diasumsikan dapat menghambat fosforilasi *pRB* atau menginduksi *INK4 family proteins* yang merupakan protein penghambat CDK.

Hal ini sesuai dengan pendapat Shapiro and Harper (1999) hambatan *cell cycle arrest progression* dapat terjadi pada tiap fase antara lain fase S, fase G2/M transisi yang biasanya berupa *cell cycle arrest*

Penelitian Agarwal (2000) menunjukkan agen fitokimia salah satunya flavonoid dapat menghambat proliferasi dan memicu apoptosis dari sel kanker. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan fraksionasi untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang mana yang dapat melakukan mekanisme aktif terhadap perilaku penghambatan proliferasi pada sel kanker, dan *Gynura procumbens* terbukti memiliki kemampuan untuk melakukan mekanisme antiproliferasi yang berhubungan dengan fraksi yang dielusikan dalam asam methanol (Fr6) dalam kandungan fenolic dan flavonoid. Fr6 menghambat

proliferasi melalui *cell cycle arrest* dan apoptosis (Guthrie, 2000). Pada penelitian Susilowati (2004) didapatkan penurunan aktivitas proliferasi sel epitel kelenjar mammae tikus yang diinduksi DMBA, dengan pemberian ekstrak *Gynura procumbens* dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 750 mg/kg bb.

Selain itu senyawa aktif quersetin sangat efektif dalam mengurangi stress oksidatif dan mencegah produk potensial akibat stress oksidatif, seperti kanker (Cotelle, 2001). Quersetin dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker mulut (Haghiak dan Walle, 2005). Penelitian lain menunjukkan quersetin juga mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Conklin *et al.*, 2007), kanker kolon (Veeriah *et al.*, 2007), kanker paru-paru (Yang *et al.*, 2006), dan kanker ovarium (Ye *et al.*, 2007).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data serta rangkaian pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya maka dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbens* dosis 300 dan 750 mg/kg bb dapat menghambat proliferasi sel epitel kelenjar mammae tikus yang diinduksi karsinogen DMBA.

Daftar Pustaka

- Agarwal, R. 2000. Cell signaling and regulators of cell cycle as molecular targets for prostate cancer prevention by dietary agents. *Biochem. Pharmacol.* 60:1051-1059.[Medline].
- Cardenas, E.E., Sanfridson, A., Cutler, N.S., and Heitman, J. 1998. Signal-transduction cascades as Target for Therapeutic Intervention by Natural Products, *Tibtech*, 16: 425-428.
- Conklin C., Bechberger J., MacFabe D., Guthrie N., Kurokawa E. and Naus C. 2007. Genestein and quercetin increase connexin 43 and suppress growth of breast cancer cell Carcinogenesis. 28 (1): 93-100.
- Cotelle N. 2001. Role of flavonoids in oxidative stress, Current topics in medicinal chemistry 1 (6): 569-590.
- Gibbs, J.B. 2000. Mechanism-Based Target Identification and Drug Discovery in Cancer Research, *SCIENCE*, 287, 1970.
- Guo Ming and Hay, BA. 1999. Cell proliferation and apoptosis, *Curr Opin Cell Biol*, 11: 745-752.
- Guthrie, N. 2000. Effect of cranberry juice and products on human breast cancer cell growth. *J. FASEB* 14: 531.13 Abs.
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A. 2000. The Hallmarks of Cancer, *Cell*, 100: 57-70.
- Haghiak, M and Walle, T. 2005. Quercetin Induces Necrosis and Apoptosis in SCC-9 Oral Cancer Cells. *Nutrition and Cancer* 53 (2): 220-231.
- King, R. J. B. 2000. *Cancer Biology*, 2nd ed, Pearson Education Limited. London.
- Lee, Y-C., Chern, J-H., Pan, C-C., Chang, S-C. and Perng, R-P. 1999. Argrophilic Nucleolar Organizer Regions in Cells of Thymoma and Thymic Carcinoma "Correlation with DNA Ploidy and Clinicopathologic Characteristic " ,*Chest* 115: 1115-1119.
- Liptak, J. 2004. Mammary Tumors in Cats and Dogs. <http://www.acvs.org/AnimalOwners/HealthConditions/SmallAnimalTopics/MammaryTumorsinCatsandDogs/>
- Nguyen, Sherrat, Pickett. 2003. Transcriptional Regulation of the Rat GSTA2 and NQO1 Genes by Bifunctional and Monofunctional Inducers, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 233-260, <http://http.www.eoshi.rutgers.edu.net.com>. [24 Februari 2008].
- Rizali Ervin & Auerkari Elza I. 2003. Teknik Pewarnaan Silver (AgNOR) Sebagai Salah Satu Cara Menentukan Aktivitas Proliferasi Sel Tumor dan Apoptosis, *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia*, 10 (3): 41-45.
- Shapiro, G.I., and Harper, J.W. 1999. Anticancer Drug Targets: Cell Cycle and Checkpoint Control, *J. Clin. Inves*, 104 (12): 1645-1653.
- Sugiyanto, Sudarto, B., Meiyanto, E., Nugroho, AE dan Jenie, U.A. 2003. Aktivitas antikarsinogenik senyawa yang berasal dari tumbuhan, *MFI*, 14 (4): 216-225.
- Susilowati, S. 2004. Efek Kemopreventif Ekstrak Etanolik Daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. Setelah Inisiasi pada Kanker Payudara Tikus Terinduksi 7,12-Dimetil Benz(a)antrasen (DMBA). [Thesis]. Fakultas Farmasi. Universitas Gajah Mada.
- Veeriah, S., Hofman, T., Gleib, M., Dietrich, H., Will, F., Schreier, P., Knaup, B., and Pool-Zobel, B. 2007. Apple polyphenols



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
“ ETHICAL CLEARENCE ”**

No : 10.KE.010.08.2008

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Aktivitas Proliferasi Sel Kelenjar Mammae Setelah Pemberian Ekstrak Daun Gynura procumbens dan Inisiasi Dmba (Dimethylbenz(a) antrasen) pada Tikus Galur Sprague dawley

PENELITI UTAMA : Iwan Sahrial Hamid

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, Agustus 2008

Mengetahui
Dekan FKH-Unair,

Prof. Romziah Sidik, drh, Ph. D.
NIP. 195312161978062001

Ketua,

Dr. Nusdianto Triakoso, M.P., Drh.
NIP. 196805051997021001