

SKRIPSI

**GAMBARAN LEUKOSIT MENCIT (*MUS MUSGULUS*)
SETELAH PEMBERIAN SIKLOFOSFAMID DAN
KOMBINASI SIKLOFOSFAMID DENGAN
VITAMIN E**



OLEH :

Mei Saptarini

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 6**

**GAMBARAN LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus*)
SETELAH PEMBERIAN SIKLOFOSFAMID DAN
KOMBINASI SIKLOFOSFAMID DENGAN
VITAMIN E**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh :

MEI SAPTARINI

069011704

menyetujui,

Komisi Pembimbing



Dr. Diah Kusumawati, S.U. Drh.

Pembimbing Pertama

Chusnan Kffendi, M.S. Drh.

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

Panitia Penguji



Djoko Galiono, M.S., Drh

Ketua




Retno Sri Wahyuni, M.S., Drh

Sekretaris



Dr. Diah Kusumawati, S.U., Drh

Anggota



Ajik Azmijah, S.U., Drh

Anggota

Chusnan Effendi, M.S., Drh

Anggota

Surabaya, Februari 1996

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. H. Rechimman Sasmita, M.S., Drh

NIP. 130350739

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Pengasih yang telah melimpahkan rahmat dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan makalah ini.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Ibu Dr. Diah Kusumawati, S.U. Drh. selaku pembimbing pertama dan kepada Bapak Chusnan Effendi, S.U. Drh. selaku pembimbing kedua atas segala bimbingan dan saran yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Dekan dan Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bekal ilmu yang diberikan selama ini.

Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Retno Byanti, M.S. Drh., Ibu Panca, Drh., beserta Staf, rekan Laily, Resti, Wiwik, Hikmah, Sieny, Nina, Ade, dan rekan-rekan tercinta lainnya atas bantuan, kesempatan, dan kerja sama yang telah diberikan.

Untuk Bapak, Ibu, dan Kakak-kakakku tercinta yang telah membimbing dengan penuh kasih sayang dan memberi dorongan semangat serta doa, makalah ini ananda persembahkan sebagai ungkapan rasa terima kasih yang tak terhingga.

Penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari sempurna oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan. Amin.

**GAMBARAN LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus*)
SETELAH PEMBKRRIAN SIKLOFOSFAMID DAN
KOMBINASI SIKLOFOSFAMID DENGAN
VITAMIN E**

Mei Saptarini

INTISARI

Penelitian ini bertujuan mengetahui adanya perubahan jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit darah mencit akibat pemberian siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E selama 35 hari.

Mencit jantan sejumlah 30 ekor dan berumur kurang lebih 12 minggu diberi minum dan pakan Par-G bentuk pelet. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga macam perlakuan, setiap perlakuan terdiri dari sepuluh ulangan dan analisa data menggunakan sidik ragam Uji F. Perlakuan yang diberikan sebagai berikut: kelompok kontrol atau P₀ (pemberian aquadest steril 0,1 ml peroral menggunakan sonde lambung); kelompok perlakuan kedua atau P₁ (pemberian siklofosfamid 0,455 mg peroral menggunakan sonde lambung); kelompok perlakuan ketiga atau P₂ (pemberian siklofosfamid 0,455 mg peroral kemudian pemberian vitamin E 9,1 mg peroral keduanya menggunakan sonde lambung). Perlakuan yang diberikan adalah setiap hari seminggu lima kali untuk ketiga perlakuan tersebut.

Hasil penelitian adalah menunjukkan bahwa pemberian aquadest steril sebagai kontrol tidak berbeda nyata dengan pemberian siklofosfamid terhadap jumlah leukosit, persentase neutrofil segmented, dan persentase limfosit, tetapi pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E berbeda nyata dengan kedua perlakuan tersebut ($P < 0,05$). Neutrofil stab dan basofil tidak diketemukan dalam pemeriksaan leukosit baik itu setelah pemberian aquadest steril, siklofosfamid maupun kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Landasan Teori.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Hipotesis Penelitian.....	5
1.6. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Leukosit.....	6
2.2. Siklofosamid.....	9
2.2.1. Sifat Fisik dan Kimiawi.....	10
2.2.2. Farmakokinetik dan Toksisitas.....	11
2.2.3. Penggunaan Klinik.....	12
2.3. Vitamin E.....	13
2.3.1. Sifat Fisik dan Kimiawi.....	14
2.3.2. Farmakokinetik dan Toksisitas.....	15
2.3.3. Penggunaan Klinik.....	16
2.3.4. Hubungan Vitamin E dengan Kanker.....	17

BAB III.	MATERI DAN METODA.....	19
	3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
	3.2. Materi Penelitian.....	19
	3.3. Metoda Penelitian.....	20
	3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan.....	20
	3.3.2. Perlakuan.....	21
	3.3.3. Peubah yang Diamati.....	22
	3.3.4. Cara Kerja.....	22
	3.3.4.1. Penghitungan Jumlah Leukosit...	22
	3.3.4.2. Penghitungan Jenis Leukosit....	23
	3.3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	24
BAB IV.	HASIL PENELITIAN.....	25
	4.1. Jumlah Leukosit Darah Mencit.....	25
	4.2. Hitung Jenis Leukosit Darah Mencit.....	26
	4.2.1. Persentase Eosinofil.....	26
	4.2.2. Persentase Neutrofil Segmented...	26
	4.2.3. Persentase Neutrofil Stab.....	27
	4.2.4. Persentase Basofil.....	27
	4.2.5. Persentase Limfosit.....	28
	4.2.6. Persentase Monosit.....	28
BAB V.	PEMBAHASAN.....	30

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
1. Kesimpulan.....	35
2. Saran.....	35
RINGKASAN.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Leukosit Darah Mencit.....	25
2. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Eosinofil Darah Mencit.....	26
3. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Neutrofil Segmented Darah Mencit.....	26
4. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Limfosit Darah Mencit.....	28
5. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Monosit Darah Mencit.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Evaluasi Statistik Data Jumlah Leukosit Pada Masing-masing Perlakuan ($\times 10^3/\text{mm}^3$).....	42
2. Evaluasi Statistik Data Persentase Eosinofil Pada Masing-masing Perlakuan (%).....	45
3. Evaluasi Statistik Data Persentase Neutrofil Segmented Pada Masing-masing Perlakuan (%).....	47
4. Evaluasi Statistik Data Persentase Limfosit Pada Masing-masing Perlakuan (%).....	50
5. Evaluasi Statistik Data Persentase Monosit Pada Masing-masing Perlakuan (%).....	53
6. Daftar Tabel F.....	55
7. Daftar Tabel t.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus Bangun Siklofosfamid.....	10
2. Rumus Bangun α Tokoferol (5,7,8-trimetyltokol).	15

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Pembangunan di Indonesia dalam tahap lima tahunan memasuki era pembangunan tinggal landas menunjukkan keberhasilan nyata dengan meningkatnya taraf ekonomi, kesejahteraan, dan gaya hidup masyarakat Indonesia. Keberhasilan ini juga meningkatkan perhatian pemilik hewan piaraan terhadap gizi dan kesehatan hewan kesayangannya. Akibat peningkatan kesejahteraan, derajat kesehatan dan gizi masyarakat maka meningkat pula kejadian penyakit kanker, jantung dan tekanan darah tinggi (Sudiman, 1991). Kejadian penyakit kanker tak lepas dari dampak negatif keberhasilan pembangunan terutama di bidang industri.

Kanker merupakan kelompok penyakit neoplastik yang timbul pada manusia dan semua spesies hewan (Salmon dan Sartorelli, 1989). Menurut Dowling *et al* (1970) kanker adalah penyakit ganas yang menyangkut bagian-bagian khusus biologi dengan ciri khas adanya proliferasi selular yang tidak seharusnya, invasi dengan penggantian dan perusakan sel normal, dan metastasis organ jauh.

Kanker merupakan penyakit yang paling ditakuti oleh manusia karena sering berakibat fatal dan kematian dengan penderitaan besar serta biaya pengobatannya

sangat tinggi (Hoepeodio, 1985). Sampai saat ini kanker masih menempati urutan keenam sebagai penyebab kematian dan 90 persen penyebabnya adalah lingkungan dan gaya hidup (Hood, 1993), dan menurut Sudiman (1991) sebesar 60 - 70 persen terutama karena makanan dan rokok. Penyebab umum neoplasma antara lain sisa masa fetus, agen fisik, kimiawi, parasit, virus, hormon ataupun keturunan dan umur (Jones and Hunt, 1983), jenis kelamin serta terutama adalah karena lingkungan (Salmon dan Sartorelli, 1989).

Pengobatan kanker dengan memakai obat-obatan atau yang disebut kemoterapi kanker (Soebandiri, 1990), berguna sebagai terapi paliatif dari pada kuratif dan tindakan ini bermanfaat bagi semua jenis kanker (Boediwarsono, 1993). Pemberian kemoterapi harus selalu mempertimbangkan derajat keganasan tumor, efek terapi, dan efek toksik obat. Kemoterapi paling tepat untuk tumor dengan metastasis cepat yang tak mungkin untuk ditangani dengan pembedahan atau radiasi (Hess, 1977). Kemoterapi berguna pula menjamin tidak adanya sel tumor yang tertinggal untuk tumbuh kembali setelah pembedahan (Remers, 1982).

Pengobatan diharapkan tidak merugikan jaringan normal namun sedikit obat antikanker yang memenuhi kriteria tersebut dan obat yang sering dikombinasikan dengan agen lain serta merupakan agen alkilasi paling bermanfaat yang tersedia saat ini adalah siklofosfamid

(Salmon dan Sartorelli, 1989). Siklofosfamid bersifat sitotoksik dan menurut pendapat Smith (1982) kerja obat-obat sitotoksik tidak hanya pada sel-sel kanker tetapi juga terhadap sel-sel normal yang membelah dengan cepat seperti sumsum tulang. Hal ini ditunjukkan dengan kejadian utama leukopenia (Martindale, 1993).

Pemberian makanan bergizi, penambah nafsu makan dan vitamin juga dibutuhkan untuk memperbaiki keadaan umum penderita kanker (Soebandiri, 1990). Bostik *et al*(1993) menyatakan vitamin E yang bersifat antioksidan mampu mencegah kejadian kanker. Vitamin E kemungkinan dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri dan virus (Jones *et al*, 1977).

Berdasarkan kenyataan di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti sejauh mana pengaruh pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E terhadap depresi sumsum tulang sebagai efek toksik siklofosfamid melalui perhitungan jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit.

1.2. Perumusan Masalah

Pemasalahan dalam penelitian ini adalah apakah ada perbedaan yang terjadi pada gambaran darah mencit (*Mus musculus*) terutama terhadap jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit akibat pemberian siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid-vitamin E.

1.3. Landasan Teori

Siklofosfamid adalah agen alkilasi untuk pengobatan kanker yang cukup bermanfaat pada saat ini, dosis obat tunggal untuk manusia adalah 3,5 - 5 mg/kg setiap hari selama 10 hari peroral dan pemberian peroral memberikan efek sama seperti parenteral (Salmon dan Sartorelli, 1989). Martindale (1993) menyatakan di USA pernah diberikan dosis awal sebesar 40 - 50 mg/kg dalam dosis terbagi selama 2 - 5 hari secara intravena, atau sebesar 1 - 5 mg/kg setiap hari peroral, dengan efek samping utama depresi sumsum tulang ditunjukkan terjadinya leukopenia. Penambahan imunostimulan pada aturan terapeutik menolong mekanisme pertahanan tubuh alami (Remes, 1982).

Vitamin E bersifat antikarsinogenesis (Bostik *et al*, 1993), dan Jones *et al* (1977) berpendapat vitamin E juga mampu meningkatkan pertahanan tubuh. Defisiensi vitamin E yang terjadi pada manusia dapat dinormalkan kembali dengan pemberian dosis tinggi vitamin E peroral sebesar 50 sampai 200 IU/kg setiap hari (Goodman dan Gilman 1991).

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana pengaruh pemberian siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid-vitamin E terhadap jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit mencit (*Mus musculus*).

1.5. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan adalah :

1. Pemberian siklofosfamid menurunkan jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit mencit (*Mus musculus*).
2. Pemberian kombinasi siklofosfamid - vitamin E meningkatkan jumlah dan hitung jenis leukosit mencit (*Mus musculus*).

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi tentang pengobatan kanker terutama terhadap efek toksik utama siklofosfamid dengan pemberian kombinasi vitamin E sebagai terapi suportif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Leukosit

Leukosit terdiri dari dua tipe utama yaitu polimorfonuklear atau granulosit yang memiliki granula di sitoplasmanya, dan mononuklear atau agranulosit yang tidak memiliki granula di sitoplasmanya. Mononuklear terbagi atas monosit dan limfosit sedangkan neutrofil, eosinofil dan basofil termasuk dalam polimorfonuklear (Kelly, 1974). Leukosit atau sel darah putih mempunyai peranan utama dalam mekanisme pertahanan tubuh melawan infeksi (Price, 1984).

Pemeriksaan leukosit dapat dilakukan dengan pemeriksaan total dan hitung jenis yang bertujuan untuk menunjang diagnosa, prognosis dan memantau perjalanan penyakit (Bijanti dan Partosoewignja, 1992). Firkin (1983) berpendapat seperti yang dikutip Wirotto dan Notopuro (1988) bahwa terdapat tujuan lain pemeriksaan leukosit yaitu untuk mengetahui perubahan akibat suatu pengobatan sehingga pemakaian obat itu secepatnya dapat dihentikan dan pada umumnya setelah penghentian maka perubahan ini akan menghilang. Jumlah leukosit mencit menurut Smith dan Mangkoewijojo (1988) berkisar antara 6,0 - 12,6 ribu/mm³, menurut Bijanti dkk. (1993) adalah sebesar 7-15 ribu/mm³.

Neutrofil. Neutrofil melakukan fungsi penting dalam sistem pertahanan tubuh ketika terancam mengalami peradangan atau masuknya bakteri (Kelly, 1974). Persentase neutrofil segmented normal sebesar 10 - 60 persen dan neutrofil stab nol persen (Bijanti dkk., 1993). Menurut Bannerman (1983) jumlah neutrofil menciit hanya 10 - 25 persen dari total leukosit, mempunyai bentuk inti yang bervariasi dari bentuk cincin, cincin putus sampai segmented atau multilobi dengan granulanya kecil. Sitoplasmanya terwarnai agak kemerahan dan nampak pertama kali tidak bergranula, adanya kromatin drumstick menunjukkan dari menciit betina (Schalm, 1975).

Eosinofil. Jumlah eosinofil sebesar 2 - 4 persen total leukosit dan berdiameter kira-kira 10 - 14 μm , berfungsi sebagai fagosit dan banyak terdapat dalam jaringan ikat tertentu contohnya mukosa usus dari pada di dalam sirkulasi darah (Nagabushanam *et al*, 1983). Menurut Bijanti dkk. (1993) persentasenya sebesar 0 - 7 persen. Fagositosisnya lemah dan peranan lainnya pada reaksi antigenik, peradangan dan hipersensitif serta parasitidal (Zinkl, 1989).

Inti eosinofil menciit umumnya memanjang dan terpuntir berbentuk huruf V dan seperti cincin, sitoplasmanya basofilik dengan granula asidofilik kecil dan jarang yang nampak bergerombol (Schalm, 1975).

Basofil. Jumlahnya sangat kecil yaitu sebesar 0,5 - 1,0 persen atau bahkan kurang dari jumlah total leukosit, dengan diameter antara 8 - 10 μm (Nagabushanam *et al*, 1983). Harga normal basofil adalah nol persen (Bijanti dkk., 1993). Menurut Breazile (1971) ukurannya sama dengan neutrofil tetapi intinya lebih panjang dan sering berbentuk S dengan dua lobi atau lebih, banyak ditemukan pada peradangan kronik untuk mencegah pembekuan darah lokal dalam peradangan. Basofil menciit bergranula besar, berwarna ungu, dan sering berinti gelap, sedangkan sel mast dapat ditemukan dalam hapusan darah dari jantung yang ukurannya lebih besar serta granulanya gelap (Schalm, 1975).

Monosit. Monosit biasanya merupakan sel terbesar dalam darah berdiameter 12 - 22 μm (Breazile, 1971), jumlah normal dari total leukosit adalah 0 - 3 persen (Bijanti dkk., 1993). Menurut Bannerman (1983) monosit menciit besar mempunyai inti berbentuk gulungan, terdapat vakuola-vakuola kecil dalam sitoplasmanya dan bergranula asidofilik. Sitoplasma berwarna biru keabuan, granulanya ungu kemerahan, dan intinya amuboid dengan benang kromatin pucat (Schlam, 1975). Monosit berfungsi menfagosit partikel-partikel besar seperti fungi dan protozoa serta membuang zat-zat yang rusak dan mati (Bijanti dan Partosoewignjo, 1992).

Limfosit. Bentuk limfosit umumnya kecil dengan diameter kurang dari 10 μm , berinti besar hampir bulat dan terdapat pinggiran sitoplasma berwarna biru (Kelly, 1974). Persentase normal limfosit adalah 55 - 85 persen (Smith dan Mangkoewijojo, 1988), dan menurut Bijanti dkk. (1993) sebesar 35 - 90 persen. Jumlah limfosit normal pada mencit muda lebih dari 80 persen dan antara 70 - 80 persen pada mencit tua, limfosit yang kecil sitoplasmanya terwarnai biru gelap sedangkan limfosit yang lebih besar warnanya lebih pucat, mempunyai granula azurofilik, berinti bulat letaknya eksentrik dan kromatinnya bergerombol (Schalm, 1975). Menurut Coles (1986) limfosit berperan utama dalam kekebalan tubuh.

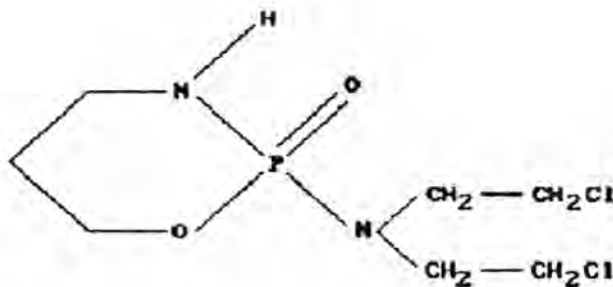
2.2. Siklofosfamid

Siklofosfamid merupakan suatu oxazaphosphorine alkilating agen dengan penggunaan luas sebagai anti kanker dan imunosupresan, digunakan pertama kali pada tahun 1958 dan merupakan turunan gas mustard (Sladek, 1987 dan 1988). Siklofosfamid dikenal pula dengan nama cyclophosphane atau cytophosphane (Merck, 1989) dan cyclophosphanum dengan nama dagang antara lain Cytosan, Endoxan dan Cycloblastin (Martindale, 1993).

2.2.1. Sifat Fisik dan Kimiawi

Bentuk fisik dari siklofosfamid berupa serbuk putih, halus, hampir atau tak berbau, rasa sedikit pahit, larut dalam air, alkohol dan sedikit larut dalam eter (Martindale, 1989). Kelarutan siklofosfamid dalam air dengan perbandingan 1 : 25 dan pH untuk larutan 1% seharusnya antara 3,9 - 7,1 setelah 30 menit pembuatan. Larutan ini akan rusak jika disimpan dalam suhu kamar dan hanya dapat bertahan beberapa jam pada suhu lebih dari 25°C, sehingga disarankan penyimpanan larutan pada suhu tidak lebih dari 25°C (Martindale, 1993).

Nama kimia siklofosfamid adalah 2-Bis(2-chloroethyl) amino perhidro 1,3,2-oxazophosphorine-oxide monohydrate (Martindale, 1993). Rumus bangunnya sebagai berikut :



Gambar 1. Rumus bangun siklofosfamid

Sumber : Bertino (1992)

2.2.2. Farmakokinetik dan Toksisitas

Siklofosfamid diabsorpsi dengan baik secara oral. Siklofosfamid secara *in vitro* hampir tidak berkhasiat, dan di dalam hati akan mengalami aktivasi oleh kerja enzim sitokrom P-450. Metabolismenya pertama kali secara hidroksilasi menjadi 4-hidroksikiklofosfamid yang terdapat dalam keadaan seimbang dengan aldofosfamid, metabolit ini diangkut ke jaringan tumor dan jaringan normal sehingga aldofosfamid akan mengalami pemecahan non enzimatis menjadi bentuk aktif yaitu mustard fosfamid dan acrolein, atau mengalami pemecahan enzimatis menjadi bentuk inaktif yaitu karboksifosfamid dan 4-ketosiklofosfamid. Metabolit sitotoksik mustard fosforamid akan mengikat kedua heliks DNA sehingga mengacaukan pembelahan sel karena mekanisme alkilasi utama terhadap guanin dapat menghasilkan kelainan pasangan basa yaitu guanin berpasangan dengan timin (Sladek, 1987; Salmon dan Sartorelli, 1989). Menurut pendapat Martindale (1993) bahwa bentuk aktif ini yang berperan dalam efek anti tumor dan ekskresi siklofosfamid terutama dalam urine sebagai metabolit atau dalam bentuk tetap, sedangkan distribusinya dapat melalui plasenta atau air susu. Konsentrasi maksimal dalam plasma dicapai dalam waktu satu jam setelah pemberian oral dan waktu paruh dalam plasma sekitar 7 jam (Goodman and Gilman, 1991).

Siklofosfamid menimbulkan efek toksik yang sering dijumpai yaitu alopecia, mual, muntah dan leukopenia (Remers, 1982). Efek sitotoksiknya terjadi tidak hanya pada sel kanker tapi juga terhadap sel normal yang tumbuh dengan cepat seperti sumsum tulang, saluran pencernaan, dan gonad (Salmon dan Sartorelli, 1989). Martidale (1993) menyimpulkan bahwa siklofosfamid secara umum seperti halnya golongan alkilasi lain bersifat karsinogenik, mutagenik, dan teratogenik, dengan efek samping utamanya adalah depresi sumsum tulang yang terutama ditunjukkan dengan terjadinya leukopenia 1 - 2 minggu setelah pemberian dan akan kembali normal dalam 3 - 4 minggu. Leukopenia terjadi jika hitung total leukosit 3500 sel/mm^3 dan trombosit 100.000 sel/mm^3 dan hal ini berlangsung selama 5 sampai 7 hari (Lokich, 1980). Depresi hemopoetik yang irreversibel terjadi terutama bila pemberian obat alkilasi setelah diberi antikanker lain atau setelah radiasi (Heyzer dkk., 1987).

2.2.3. Penggunaan Klinik

Siklofosfamid berspektrum luas sebagai antikanker dan imunosupresan (Bertino, 1992). Terutama digunakan untuk pengobatan antara lain penyakit Hodgkin, leukemia limphatik kronik dan terhadap karsinoma ovarium, mammae dan paru (Heyzer dkk., 1987 ; Calabresi dan Chabner, 1991 ; Bertino, 1992 ; Martindale, 1993). Menurut

Heyzer dkk. (1987) dan Martindale (1993) penggunaan sebagai imunosupresan antara lain untuk *arthritis rheumatoid*, pencangkakan organ atau suneum tulang.

Dosis agen tunggal pada manusia sebesar 3,5 - 5 mg/kg setiap hari secara oral selama 10 hari (Salmon dan Sartorelli, 1989). Martindale (1993) menyatakan bahwa pemberian secara intravena sebesar 40 - 50 mg/kg dalam dosis terbagi selama 2 - 5 hari sebagai dosis awal digunakan di USA, atau sebesar 1 - 5 mg/kg setiap hari secara oral, dan dosis pemeliharaan 1 - 5 mg/kg setiap hari secara oral atau intravena. Pemberian untuk anjing adalah 6,6 mg/kg selama 3 hari kemudian 2,2 mg/kg sekali sehari secara oral dengan indikasi *eosinophilic enteritis* dan dosis 10 mg/kg setiap minggu secara intravena (dikombinasi dengan doxorubicin) untuk kanker mammae pada kucing, pemberian siklofosamid pada hewan kecil sebaiknya tidak lebih dari 4 - 5 bulan (Allen *et al*, 1993).

2.3. Vitamin E

Keberadaan vitamin E pertama kali diteliti oleh Evans dan Bishop pada tahun 1922 sebagai substansi yang mampu mencegah kematian foetus tikus putih dan dinamakan tokoferol, kemudian Sure menyebutnya vitamin E (Horvath, 1989). Vitamin E dikenal juga sebagai vitamin antisterilitas (Nagabushanam *et al*, 1983 ; Goodman dan Gilman, 1991). Sumber vitamin E terdapat pada minyak

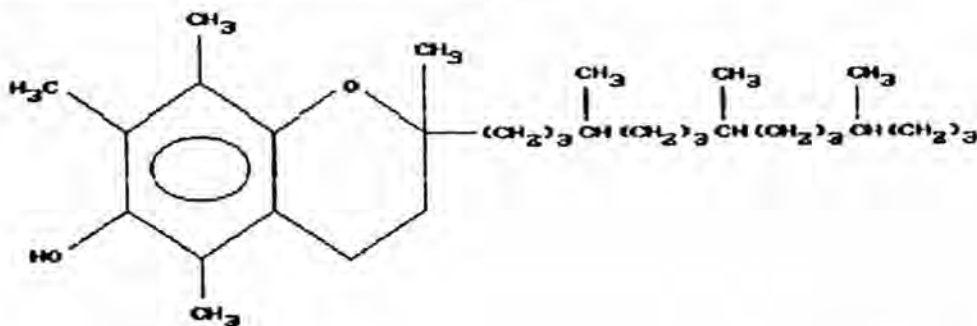
gandum, minyak bunga matahari, biji kapas (Martindale, 1993), serta daging, telur, susu dan minyak hati ikan (Nagabushanam *et al*, 1983), dan sumber terbesar menurut Bjornoeboe *et al* (1990) terdapat dalam tepung dan minyak sayur.

2.3.1. Sifat Fisik dan Kimiawi

Vitamin E merupakan vitamin larut lemak, tidak larut dalam air, tidak tahan panas, tahan terhadap asam dan agak tidak tahan terhadap basa (Nagabushanam *et al*, 1983). Bentuk fisik yang tersedia dipasaran antara lain berupa minyak, emulsi cair dan emulsi dalam tepung.

Vitamin E adalah nama umum untuk menyebutkan sejumlah komponen alami ataupun sintetik (Martindale, 1993). Terdapat delapan bentuk vitamin E alamiah yang dibedakan berdasarkan letak grup metil pada rantai samping dan cincin fenol yang membentuk struktur tokol dan trienol, yaitu α tokoferol, β tokoferol, τ tokoferol, δ tokoferol, α tokotrienol, β tokotrienol, τ tokotrienol, dan δ tokotrienol (Newbern and Corner, 1989 ; Bjornoeboe *et al*, 1990). Aktivitas tokotrienol sangatlah kecil dibanding tokoferol meskipun terdapat pula dalam makanan (Martindale, 1993). Menurut Horvarth (1989) perbedaan aktivitas terdapat juga pada masing-masing tokoferol dan yang paling bermanfaat adalah α tokoferol, namun grup tokoferol dan tokotrienol kesemuanya labil terhadap

cahaya, oksigen, peroksida, dan suhu tinggi. Nama kimia α tokoferol adalah 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-6-chromanol (Merck, 1989). Rumus bangun Vitamin E sebagai berikut :



Gambar 2. Rumus bangun α tokoferol (5,7,8-trimethyl-tokol).

Sumber : Goodman dan Gilman (1991).

2.3.2. Farmakokinetik dan Toksisitas

Vitamin E yang larut lemak diabsorpsi dari saluran pencernaan gastro-intestinal (Martindale, 1993) bersama gliserida dan asam lemak yang tergantung keberadaan asam empedu (Newbern dan Corner, 1989). Vitamin E akan bergabung dengan kilomikron dan didistribusikan ke seluruh jaringan melalui sistem limfatik usus (Newbern dan Corner, 1989 ; Bjornoeboe *et al*, 1990 ; Martindale, 1993), mengikuti jalur transportasi trigliserida, VLDL, dan LDL (Horvath, 1989 ; Newbern dan Corner, 1989). Penyimpanan vitamin E terutama di sel lemak serta otot dan sedikit pada plasma dan hepar, diekskresikan terutama bersama empedu dalam feses (Horvath, 1989) dan

ada yang diekskresi dalam urine (Martindale, 1993). Menurut Goodman dan Gilman (1990) serta Martindale (1993) vitamin E dapat ditemukan dalam air susu tetapi sulit melewati sawar uri. Sekresi α tokoferol dengan cara bergabung dengan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*).

Toksisitas vitamin E sangat jarang dan pemberian dosis tinggi pada manusia relatif aman (Newbern dan Corner, 1989). Rosmiati dan Wardhini (1987) menyatakan jika pemberian dosis tinggi vitamin E dalam waktu lama akan menimbulkan gejala kelemahan otot, gangguan saluran cerna, dan gangguan reproduksi dimana gejala ini akan hilang dalam beberapa minggu jika pemberian dihentikan. Perubahan warna rambut dan anorexia dapat terjadi pada anjing Collie (Allen, *et al*, 1993).

2.3.3. Penggunaan Klinik

Vitamin E sebagai antioksidan larut lemak terbesar ditemukan dalam membran sel mampu mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh ganda sehingga tetap keberadaannya dan mengikat agen radikal bebas (Jones *et al*, 1977; Horvath, 1989 ; Newbern dan Corner, 1989; Bosti *et al*, 1993) dalam pencegahan kerusakan membran sel dan Asam deoksiribonukleat (ADN/DNA) (Muhilal, 1991).

Defisiensi vitamin E pada beberapa spesies hewan menyebabkan anemia, gangguan hemapoeisis dan lama hidup eritrosit (Goodman dan Gilman, 1991), selain itu pada

manusia dapat menyebabkan displasia bronkhopulmonum , anemia pada bayi premature, kanker penyakit kardiovaskuler dan respon imun yang merugikan (Bjornoeboe *et al*, 1990). Pengobatan dan pencegahan defisiensi tersebut menggunakan vitamin E (Rosmiati dan Wardhini, 1987). Vitamin E digunakan untuk pengobatan dan pencegahan distropi otot (Newbern dan Corner, 1989), *discoid lupus* sebagai antiinflamasi, *phemphigus erythematous*, *demodicosis*, *acanthosis nigricans*, dan pada kucing untuk *steatitis* (Allen *et al*, 1993). Secara umum kebutuhan vitamin E pada hewan antara 3 - 70 mg/kg rangsum dan anjuran untuk manusia dewasa 15 mg setiap hari (Newbern dan Corner, 1989). Menurut Martindale (1993) kebutuhan setiap hari untuk manusia tidaklah jelas tetapi berkisar 3 - 20 mg.

Dosis terapi untuk bayi premature menderita anemia hemolitik adalah 200 - 800 mg α tokoferol asetat setiap hari (Rosmiati dan Wardhini, 1987). Menurut Allen *et al* (1993) untuk anjing menderita *discoid lupus* sebesar 400 IU dua kali sehari peroral atau sebagai salep topikal, dan dosis 400 IU sekali sehari peroral untuk indikasi *myodegenerasi* dikarenakan nutrisi.

2.3.4. Hubungan Vitamin E dengan Kanker

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan membran sel, kerusakan protein, kerusakan DNA (Deoksiribonucleic Acid), peroksida lipid, autoimun, dan proses ketuanan

(Muhilal, 1991). Rusaknya DNA dapat menyebabkan kanker jadi vitamin E pada membran sel yang mengandung lemak melindungi DNA dengan cara mengikat radikal bebas tersebut (Smigel, 1992). Muhilal (1991) menyatakan untuk mengurangi peluang terjadinya berbagai penyakit degeneratif termasuk kanker dengan cara mengkonsumsi antioksidan yang termasuk pula vitamin E. Hal ini terbukti pada penelitian Longenecker *et al* (1992) bahwa terdapat hubungan kadar α tokoferol dengan penurunan kejadian kanker kolorektum berdasarkan kerja vitamin E mencegah peroksidasi lipid di membran sel. Konsumsi vitamin E dosis tinggi mampu menurunkan kejadian kanker kolon khususnya pada kelompok berumur dibawah 65 tahun (Bostik *et al*, 1993). Smigel (1992) menyimpulkan bahwa intake vitamin E secara teratur paling sedikit selama 6 bulan dapat mengurangi setengah resiko terkena kanker mulut.

BAB III

MATERI DAN METODA

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dikandang Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan dan pemeriksaan darah dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pelaksanaan penelitian mulai tanggal 27 Februari 1995 sampai dengan 3 April 1995.

3.2. Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan percobaan 30 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan jenis albino Jerman berumur ±12 minggu dengan berat badan antara 20 sampai 30 gram yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Jl. Ahmad Yani Surabaya.

Bahan yang digunakan adalah Siklofosfamid dengan nama dagang Endoxan berbentuk tablet 50 mg produksi PT. Asta Werker Indonesia yang dihancurkan menyerupai bentuk serbuk, Vitamin E bentuk emulsi tepung, aquadest steril, air hangat, CMC-Na 0,5%, Kloroform, alkohol 70%, antikoagulan EDTA (*Ethyline Diamine Tetra Acetic Acid*), larutan Turk, zat pewarna Wright, larutan buffer phosphat, minyak emersi, air minum dari PDAM dan pakan bentuk pellet jenis Par-G.

Alat yang digunakan adalah enam buah kandang berbentuk bak plastik, tutup kandang berupa kawat kasa beserta tempat makan dan minum, timbangan berat badan dan digital, spuit 2,5 ml beserta jarum injeksi 23 gauge, botol 5 ml steril, sonde lambung, mortir dan stamper, kapas steril, tabung reaksi, pipet leukosit dari Thoma, kamar penghitung *Improved Naubeur* beserta penutup, mikroskop, obyek glass, *Handy Tally Counter*, dan *Blood Cell Counter*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan

Mencit diadaptasi dalam kondisi dan pakan yang sama selama dua minggu sebelum perlakuan. Sebanyak 30 mencit dibagi dalam tiga kelompok dan setiap kelompok akan mendapat satu perlakuan. Setelah itu dilakukan pemberian nomor dengan pemilihan secara acak. Sebelum diberikan perlakuan maka berat badan mencit ditimbang untuk menentukan takaran dosis obat yang dikonversikan dengan dosis untuk manusia dewasa. Dosis untuk siklofosfamid sebesar 0,455 mg ($2,5 \text{ mg/kg} \times 70 \text{ kg} \times 0,0026$) tiap ekornya dan diberikan secara oral setiap hari. Dosis vitamin E adalah 9,1 mg ($50 \text{ mg/kg} \times 70 \text{ kg} \times 0,0026$) tiap ekornya dan diberikan secara oral setiap hari.

3.3.2. Perlakuan

Perlakuan dilakukan setelah masa adaptasi terhadap ketiga kelompok mencit sebagai berikut :

Kelompok Kontrol (P_0) :

Sepuluh ekor mencit mendapat perlakuan dengan pemberian aquadest steril 0,1 ml tiap ekor secara oral dengan menggunakan sonde lambung.

Kelompok perlakuan II (P_1) :

Sepuluh ekor mencit mendapat perlakuan dengan pemberian siklofosfamid 0,455 mg yang dilarutkan dengan aquadest steril 0,036 ml/ekor secara oral menggunakan sonde lambung.

Kelompok perlakuan III (P_2):

Sepuluh ekor mencit mendapat perlakuan dengan pemberian siklofosfamid 0,455 mg yang dilarutkan dengan aquadest steril 0,036 ml/ekor secara oral dan vitamin E 9,1 mg yang disuspensikan dengan 0,25 mg CMC-Na 0,5% (0,5% x 50 mg untuk aqua ad. 0,05 ml) untuk setiap ekor secara oral menggunakan sonde lambung.

Masing-masing kelompok mendapatkan perlakuan selama 5 hari dalam satu minggu, selanjutnya dengan cara dan waktu yang sama perlakuan diulang sampai lima minggu. Pengambilan sampel darah dilakukan setelah minggu terakhir perlakuan.

3.3.3. Peubah yang Diamati

Pengamatan yang dilakukan terhadap jumlah leukosit serta persentase dari neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit pada perlakuan kontrol dengan pemberian aquadest steril, perlakuan II dengan pemberian siklofosamid dan perlakuan III dengan pemberian siklofosamid dan vitamin E.

3.3.4. Cara Kerja

Pemeriksaan darah untuk menghitung jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit dilakukan setelah 35 hari perlakuan. Pengambilan darah dilakukan dari jantung. Sebelumnya mencit dianestesi secara inhalasi dengan kloroform kemudian darah dari jantung diambil menggunakan spuit 2,5 ml beserta jarum injeksi 23 guage sebanyak kurang lebih satu mililiter. Darah tersebut kemudian dimasukkan dalam botol steril berisi antikoagulan EDTA (*Ethyline Diamine Tetra Acetic Acid*).

3.3.4.1. Penghitungan Jumlah Leukosit

Sampel darah dihisap dengan pipet leukosit sampai tanda "1", kemudian larutan Turk dihisap sampai tepat mencapai tanda "101". Selama penghisapan pipet diputar-putar melalui sumbu panjangnya supaya darah dan larutan Turk bercampur dengan baik. Caranya adalah kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah lalu

dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama dua menit. Larutan Turk yang tidak mengandung darah pada bagian kapiler dibuang dengan meneteskan keluar isi pipet sebanyak tiga tetes. Larutan darah dimasukkan dalam kamar penghitung dengan menyentuhkan ujung pipet pada tepi gelas penutup. Kamar penghitung yang telah terisi diletakkan dibawah mikroskop dan penghitungan dilakukan menggunakan obyektif sepuluh kali. Jumlah leukosit permililiter adalah jumlah sel yang terhitung dalam keempat empat persegi dikalikan 50. Kesalahan tiap penghitungan dengan cara ini sebesar sepuluh persen (Bijanti dkk., 1993).

3.3.4.2. Penghitungan Jenis Leukosit

Pembuatan hapusan darah dengan cara setetes darah yang telah diberi antikoagulan diletakkan diujung gelas obyek dan digeser menggunakan gelas penghapus yang membuat sudut 30° dengan gelas obyek sehingga membuat lapisan tipis. Hapusan ini dikeringkan di udara. Pengecatan hapusan darah menggunakan zat pewarna Wright dengan cara meneteskannya pada hapusan darah dan dibiarkan selama dua menit. Kemudian tambahkan larutan buffer fosfat sama banyaknya (atau 1,5 kali banyaknya) pada cat tadi, dan tiup beberapa kali serta tunggu selama 20 menit. Cuci hapusan dengan aquadest atau air biasa sehingga semua cat hanyut. Hapusan dibiarkan

kering dengan sendirinya. Pemeriksaan hapusan darah dibawa mikroskop dengan obyektif 100 kali sebelumnya hapusan ditetesi minyak emersi. Penghitungan jenis leukosit dilakukan pada daerah penghitungan dimulai dari satu sisi dan bergerak menuju sisi yang lain lalu pindah sejauh dua sampai tiga lapangan pandang kekiri atau kekanan menuju sisi semula dan sebaliknya. Setiap lapangan pandang dihitung jumlah jenis leukosit dengan alat *Blood Cell Counter* sehingga didapatkan jumlah 100 sel. Hasil Pemeriksaan ini menunjukkan persentase neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit (Bijanti dkk., 1993).

3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan dan sepuluh ulangan, sehingga terdapat 30 satuan dari seluruh total perlakuan. Data yang didapat dianalisa dengan sidik ragam uji F dan bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% (Kusriningrum, 1989) untuk mengetahui perlakuan mana yang berpengaruh terhadap jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit mencit.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Jumlah Leukosit Darah Mencit

Ketiga perlakuan menghasilkan data jumlah leukosit seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata dan Simpangan Baku Jumlah Leukosit Darah Mencit

Perlakuan	Jumlah Leukosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
P ₀ a	6,945 \pm 1,565
P ₁ a	6,210 \pm 0,673
P ₂ b	4,505 \pm 1,876

Keterangan : *Notasi a dan b yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) berdasarkan BNT 5%*

Tabel 1. setelah dianalisa dengan sidik ragam menunjukkan diantara ketiga perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah leukosit mencit.

Untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil tertinggi maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikan lima persen. Setelah diuji dengan BNT lima persen ternyata pemberian aquadest steril sebagai kontrol menunjukkan jumlah leukosit tertinggi yang tidak berbeda nyata dengan pemberian siklofosfamid tetapi berbeda nyata dengan kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E (lihat lampiran 1).

4.2 Hitung Jenis Leukosit Darah Mencit

4.2.1. Persentase Eosinofil

Data persentase eosinofil yang diperoleh dari ketiga perlakuan tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Eosinofil Darah Mencit

Perlakuan	Persentase Eosinofil(%)
P ₀	2,0 ± 0,8
P ₁	1,9 ± 0,9
P ₂	1,8 ± 0,8

Tabel 2 menunjukkan tidak terdapat perbedaan makna yang berarti terhadap persentase eosinofil diantara perlakuan P₀ sebagai kontrol, P₁ dengan pemberian siklofosfamid dan P₂ dengan pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E (lihat lampiran 2).

4.2.2. Persentase Neutrofil Segmented

Data persentase neutrofil segmented yang diperoleh dari ketiga perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata dan simpangan baku persentase neutrofil segmented darah mencit

Perlakuan	Persentase Neutrofil Segmented (%)
P ₀ b	40,5 ± 10,3
P ₁ b	46,6 ± 10,9
P ₂ a	61,1 ± 10,5

Keterangan : Notasi a dan b yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) berdasar BNT 5%

Tabel 3 setelah dianalisa dengan sidik ragam menunjukkan bahwa di antara perlakuan pemberian aquadest steril sebagai kontrol, pemberian siklofosfamid dan pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E terdapat perbedaan hasil yang sangat

nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase neutrofil segmented menciit.

Untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil tertinggi maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikan lima persen. Setelah diuji dengan BNT 5% ternyata pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E menghasilkan persentase neutrofil segmented tertinggi yang berbeda nyata dengan kedua perlakuan lainnya, sedangkan antara kontrol dan pemberian siklofosfamid tidak berbeda nyata (lihat lampiran 3).

4.2.3. Persentase Neutrofil Stab

Data persentase neutrofil stab dari pemberian aquadest steril sebagai kontrol, pemberian siklofosfamid (P_1), dan pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E (P_2) adalah masing-masing menghasilkan data nol persen, berarti tidak ditemukan neutrofil stab darah menciit dari ketiga perlakuan tersebut.

4.2.4. Persentase Basofil

Dari data pemberian aquadest steril sebagai kontrol, pemberian siklofosfamid (P_1), dan pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E (P_2) terhadap persentase basofil masing-masing menunjukkan data nol persen yang berarti tidak ditemukan basofil dalam darah menciit dari ketiga perlakuan tersebut.

4.2.5. Persentase Limfosit

Data persentase limfosit dari ketiga perlakuan tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Limfosit Darah Mencit

Perlakuan	Persentase Limfosit(%)
P ₀ a	55,6 ± 10,0
P ₁ a	50,1 ± 11,3
P ₂ b	34,8 ± 11,0

Keterangan : *Notasi a dan b yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P < 0,05) berdasar BNT 5%.*

tabel 4 diperoleh hasil analisa yang menunjukkan di antara pemberian aquadest steril, pemberian siklofosfamid dan pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E, terdapat perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah limfosit darah mencit. Untuk menentukan perlakuan mana yang berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata dengan taraf signifikan 5%. Setelah diuji dengan BNT 5%, pemberian siklofosfamid-vitamin E memberikan hasil terendah yang berbeda nyata dengan kontrol dan pemberian siklofosfamid. (lihat lampiran 4).

4.2.6. Persentase Monosit

Data persentase monosit dari ketiga perlakuan dapat dilihat di Tabel 5.

Tabel 54. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Monosit Darah Mencit

Perlakuan	Persentase Monosit(%)
P ₀	1,9 ± 0,5
P ₁	1,4 ± 0,7
P ₂	2,3 ± 1,2

Tabel 5 diperoleh hasil analisa bahwa masing-masing perlakuan yaitu pemberian aquadest steril , siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid-vitamin E tidak memberikan perbedaan hasil yang nyata terhadap pemeriksaan jumlah monosit darah mencit (lihat lampiran 5).

BAB V

PEMBAHASAN

Penurunan jumlah leukosit setelah pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan pemberian siklofosfamid. Persentase neutrofil segmented tertinggi didapat dari perlakuan dengan pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E yang berbeda nyata dengan pemberian aquadest steril sebagai kontrol dan pemberian siklofosfamid. Pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E menunjukkan hasil terendah terhadap persentase limfosit yang berbeda nyata dengan pemberian aquadest steril dan pemberian siklofosfamid. Pemberian aquadest steril, siklofosfamid, dan kombinasi siklofosfamid-vitamin E tidak mempengaruhi persentase eosinofil, basofil, monosit, dan neutrofil stab.

Efek toksik utama siklofosfamid adalah leukopenia sebagai manifestasi utama depresi sumsum tulang. Leukopenia adalah penurunan jumlah total leukosit dalam sirkulasi. Pembentukan sel darah putih terutama di sumsum tulang dan 75 persen sel-sel sumsum merupakan sel darah putih seri mieloid (Ganong, 1983). Pembentukan sel darah terjadi di beberapa tempat kecuali untuk limfosit, yaitu pada janin manusia di indung telur, hepar serta semua sumsum tulang pada bayi dan manusia dewasa di sumsum tulang pipih. Sumsum tulang yang aktif membentuk sel darah adalah sumsum merah sedangkan sumsum tulang

kuning yang mulai didapat pada manusia berumur 5 - 7 tahun tidak aktif membuat sel-sel darah. Produksi utama sumsum tulang yaitu eritrosit, granulosit, monosit dan trombosit. Perubahan yang terjadi di dalam sumsum tulang menyebabkan perubahan jumlah leukosit yang bersirkulasi. Sumsum tulang yang mengalami depresi tidak dapat membentuk sel normal (Bijanti dan Partosoewignjo, 1992) sehingga jumlah leukosit akan menurun, atau terjadi pengurangan produksi granulosit ditandai tidak adanya atau sedikit terdapat neutrofil muda di darah perifer (Coles, 1986). Menurut Wirotto dan Notopuro (1986) jumlah leukosit yang kurang dari 1000 per milimeter kubik akan meningkatkan resiko mendapatkan infeksi.

Produksi leukosit tersebut berkurang dikarenakan kerja obat sitostatika merusak prekursor leukosit di sumsum tulang. Perusakan dengan terganggunya pembelahan sel-sel tersebut akibat kerja mustar fosforamid, bentuk aktif siklofosfamid, menjadi karbonion yang mengalkilasi guanin DNA terutama di posisi N-7. Ikatan yang terjadi menyebabkan terbentuknya pasangan basa abnormal guanin-timin yang seharusnya guanin berpasangan dengan sitosin. Leukopenia bersifat akut ditandai adanya lesi nekrotik mulut atau tenggorokan, tubuh lemah dan demam. Faktor lainnya yang mempengaruhi hasil pemeriksaan leukosit adalah umur hewan, jenis atau spesies hewan, keadaan mental dan aktivitas, serta waktu makan (Coles, 1986).

Efek siklofosfamid terhadap jumlah leukosit cenderung menurunkan meskipun tidak berbeda secara nyata dibanding pemberian aquadest steril sebagai kontrol. Penurunan jumlah leukosit akibat pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E dapat dimungkinkan karena vitamin E membantu metabolisme siklofosfamid dengan cara induksi sitokrom mikrosomal P-450 sebagai pengaktif siklofosfamid. Siklofosfamid selain menyebabkan pengurangan produk leukosit juga mengganggu fungsi leukosit dalam aktivitasnya sebagai mikrobisidal (Wiroto dan Notopuro, 1988). Penelitian Prasad (1980) menunjukkan adanya penurunan kapasitas bakterisidal leukosit pada manusia yang mengkonsumsi vitamin E 300 mg setiap hari secara oral selama 3 minggu (Panush dan Delafuente, 1985). Penurunan kapasitas bakterisidal atau fagosit berarti terjadi penurunan produksi leukosit di sumsum tulang sehingga jumlah leukosit darah menurun.

Penurunan jumlah total leukosit dalam sirkulasi dapat merupakan penurunan seluruh jenis leukosit (absolut) atau hanya penurunan salah satu jenis leukosit (relatif).

Pemberian kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E meningkatkan persentase neutrofil segmented. Peningkatan persentase neutrofil segmented dapat dijelaskan dalam hubungan dengan peningkatan laju fagositosis neutrofil oleh vitamin E sesuai pendapat Bachner *et al.* (1977) (Panush dan Delafuente, 1985), terutama neutrofil segmented meskipun stab berkemampuan

memfagositosis. Peningkatan neutrofil *segmented* dan tidak diketemukan adanya neutrofil *stab* setelah pemberian kombinasi siklofosfamid - vitamin E dapat diklasifikasikan sebagai respon leukosit *shift to the right*. Permulaan tahap fagositosis adalah terjadi peningkatan jumlah neutrofil darah (Bijanti dan Partoecowigjo, 1992). Fagositosis adalah awal mekanisme bakterisidal yang tergantung oksigen selain terjadinya gangguan pada membran sel. Mekanismenya menghasilkan derivat oksigen yang menghancurkan partikel asing atau bakteri, derivat oksigen juga berbahaya bagi sel dimana derivat tersebut dibentuk. Menurunnya konsumsi oksigen dalam mekanisme tersebut menyebabkan mudah terkena infeksi (Zinkl, 1989). Pendapat Campbell *et al.* (1974) yang dikutip Panush dan Delafuente (1985) menyatakan vitamin E mampu meningkatkan aktivitas respirasi dan metabolik sel serta melawan toksisitas oksigen.

Limfosit, makrofag dan neutrofil bertanggung jawab terhadap kekebalan berperantara sel dengan rangsangan antigen semacam protein, bakteri, kimiawi, virus, dan sel tumor. Limfosit yang berasal dari thymus yang paling banyak berperan. Vitamin E mampu merangsang pembentukan, perkembangan, dan proliferasi imunitas seluler pada anak ayam. Pada mencit ternyata efek vitamin E terhadap peningkatan respon limfosit tidaklah tetap tergantung jenis limfosit. Faktor yang mempengaruhi sistem kekebalan tubuh antara lain agen farmakologik, hormon aktivitas, stress, faktor

fisiologi, mikroorganisme, agen infeksi, stadium penyakit, makanan dan produk makanan, status nutrisi, dan vitamin (Panush dan Delafuente, 1985).

Perlakuan kombinasi siklofosfamid - vitamin E dapat sebagai pemicu stress yang lebih berat dibanding perlakuan siklofosfamid dan kontrol, dikarenakan pemberian kombinasi siklofosfamid - vitamin E dilakukan secara bertahap. Selain itu respon individu dapat berbeda terhadap penanganan waktu pengambilan darah dan kesalahan pemeriksaan darah yang dilakukan secara manual lebih besar. Kelainan gambaran leukosit akibat stress adalah neutrofilia, limfopenia, eosinopenia, dan monositosis. Peningkatan neutrofil dewasa dapat dikarenakan faktor fisiologis. Pemberian siklofosfamid cenderung menaikkan persentase neutrofil segmented dan cenderung menurunkan persentase eosinofil, limfosit dan monosit meskipun tidak secara nyata.

Pemberian kombinasi siklofosfamid - vitamin E menaikkan secara nyata neutrofil segmented serta menurunkan persentase limfosit, eosinofil cenderung sedikit menurun dan monosit sedikit meningkat.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

1. Pemberian siklofosfamid selama 35 hari tidak menurunkan jumlah leukosit, persentase neutrofil segmented, persentase limfosit dan persentase monosit serta persentase basofil dan eosinofil pada pemeriksaan darah mencit.
2. Pemberian siklofosfamid yang dikombinasikan dengan vitamin E pada mencit menurunkan jumlah leukosit dan persentase limfosit serta meningkatkan persentase neutrofil segmented.

2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang vitamin yang sesuai untuk penunjang kemoterapi kanker yang mengurangi efek samping kemoterapi tersebut.

RINGKASAN

MEI SAPTARINI. Gambaran leukosit mencit (*Mus musculus*) setelah pemberian siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E (Di bawah bimbingan DIAH KUSUMAWATI sebagai pembimbing pertama dan CHUSNAN EFFENDI sebagai pembimbing kedua).

Kemoterapi kanker bermanfaat bagi semua jenis kanker terutama yang tak mungkin ditangani dengan pembedahan atau radiasi. Siklofosfamid merupakan obat antikanker golongan agen pengalkil yang seperti halnya obat antikanker lain merugikan jaringan normal sebagai efek sitotoksik. Perbaikan keadaan umum penderita kanker baik manusia dan hewan antara lain dengan pemberian vitamin. Vitamin E mempunyai efek antikarsinogenik serta mampu meningkatkan pertahanan tubuh. Efek samping siklofosfamid dosis relatif adalah depresi sumsum tulang dengan kejadian utama leukopenia. Leukosit berperan utama dalam mekanisme pertahanan tubuh.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian siklofosfamid dan kombinasi siklofosfamid dengan vitamin E terhadap jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit jantan jenis Albino Jerman berumur ±12 minggu, berat badan antara 20 - 30 gram. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan dan sepuluh ulangan. Analisa data menggunakan sidik ragam

uji F. Kelompok kontrol (P_0) diberi aquadest steril, kelompok P_1 diberi siklofosfamid 0,455 mg dan kelompok P_2 kombinasi siklofosfamid 0,455 mg dan vitamin E 9,1 mg, pemberian untuk tiap-tiap perlakuan secara oral sekali sehari selama lima hari dalam seminggu. Pemeriksaan darah dilakukan setelah berlangsung lima minggu (35 hari) terhadap jumlah leukosit dan persentase eosinofil, neutrofil, basofil, limfosit serta monosit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E menurunkan jumlah leukosit mencit $4,505 \pm 1,6876 \times 10^3/\text{mm}^3$ yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol $6,945 \pm 1,565 \times 10^3/\text{mm}^3$ dan pemberian siklofosfamid $6,210 \pm 0,673 \times 10^3/\text{mm}^3$. Peningkatan persentase neutrofil segmented terjadi akibat pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E yaitu sebesar $61,1 \pm 10,5 \%$ yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol $40,5 \pm 10,3 \%$ dan pemberian siklofosfamid $46,6 \pm 10,9 \%$. Pemberian kombinasi siklofosfamid-vitamin E menurunkan persentase limfosit $34,8 \pm 11,0 \%$ yang berbeda nyata dengan kontrol $55,6 \pm 10,0 \%$ dan pemberian siklofosfamid $50,1 \pm 11,3 \%$. Masing-masing perlakuan tidak mempengaruhi persentase eosinofil, neutrofil stab, basofil dan monosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, D.G., J.K. Pringle, D. Smith, P. Conlon. 1993. Handbook of Veterinary Drug. J.B. Lippincott Company Philadelphia. 10 - 11 ; 111 - 112 ; 284 - 285.
- Bannerman. R.M., 1983. Hematology. In : Foster, H.C., J.D. Small and J.G. Fox. ed The Mouse in Biomedical Research. Vol. III. Normative Biology, Microbiology and Husbandary. Academic Press, Inc. Boston. 299 ; 306.
- Bertino, J.R. 1992. Antineoplastik Drug In : Melmon, K.L., H.F. Morrelli, B.B. Hoffman, and D.W. Nirenberg.ed Clinical Pharmacology Basic Principles in Therapeutics. Mc. Graw Hill, Inc. 614 - 616.
- Bijanti, R., dan S. Partosoewignjo. 1992. Hematologi Veteriner I. Penerbit Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 40 - 44.
- Bijanti, R., S. Partosoewignjo, R.S. Wahjuni, B. Utomo, H. Koeswadji, S. Bhudy, I. Karjanto. 1993. Penuntun Praktika Laboratorium Patologi Klinik Veteriner. Lab. PK-FKH. Universitas Airlangga. Surabaya. 9 - 12 ; 16 - 21 ; 39 - 40.
- Bjornoeboe, A., G.E. Bjornoeboe and C.A. Drevon. 1990. Absorbtion, Transport and Distribution of Vitamin E. In : Critical Review. Jurnal Nutrition. 233-238.
- Boediwarsono, 1993. Perawatan Paliatif dan Bebas Nyeri pada Penderita Kanker. dalam Majalah Ilmu Penyakit Dalam. 19(2) : 83 - 85.
- Bostick, R.M., J.D. Potter, D.R. Mc. Kenzie, T.A. Sellers, L.H. Kushi, K.A. Steinmetz and A.R. Folson. 1993. Reduced Risk of Colon Cancer With High Intake of Vitamin E. Inn Cancer Research. 53 : 4230 - 4237.
- Breazile, J.E. 1971. Text Book of Veterinary Physiology. Lea and Febiger. Philadelphia. 214 - 217.
- Calabresi, P. and B.A. Chabner. 1991. Chemoterapy of Neoplastic Diseases. In : Gilman A.G., T.W. Rall, A.S. Nies and P. Taylor. The Pharmacological Basic of Therapeutics. 8th. Ed. Pergamon Press. Inc. Singapore. 1216 - 1218.

- Coles, E.H. 1986. *Veterinary Clinical Pathology* 4th. Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 61 - 67.
- Dowling, W.H. Jr., I.H. Krakkott and Karnofsky. 1970. *Mechanisme Of Action of Anticancer Drug*. In Cole. ed *Chemotherapy of Cancer*. Lea and Febiger. Philadelphia. 1 - 7.
- Ganong, W.F., 1987. *Fisiologi Kedokteran (Review of Medical Physiology)*. EGC. Jakarta. 443 - 445.
- Goodman and Gilman. 1991. *The Pharmacological Basic of Therapeutics* 8th. Ed. Vol. II. Maxwell Macmilan International Ed. Pergamon Press Inc. Singapore. 1566 - 1569.
- Hess, P.W. 1977. *Principles of Cancer Chemotherapy*. *Veterinary Clinic of North America*. 7 (1) : 21 - 23.
- Heyzer, E.G., S. Gan dan Nafriald. 1987. *Antikanker dan Imunosupresan*. Edisi 3. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 624 - 632.
- Hoepoedio, R.S., 1985. *Penanggulangan Kanker Terpadu*. dalam *Medika*. 4(11) : 382.
- Hood, J., 1993. dalam *Media IDI*. 18(9) : 36.
- Horvath, P.J.. 1992. *Vitamin As Therapeutic Agents*. In Melmon, K.L., H.F. Morelli, B.B. Hoffman and D.W. Nirenberg. ed. *Clinical Pharmacology Basic Principles in Therapeutics*. Mc. Graw Hill, Inc. 1074 - 1075.
- Jones, L.M., N.H. Booth and L.E. Mc. Donald, 1977. Ed. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 4th Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi. 774 - 776.
- Jones, T.C. and R.D. Hunt. 1983. *Veterinary Pathology*. 5th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 131.
- Kelly, W.R., 1974. *Veterinary Clinical Diagnosis*. 3rd Ed. Bailliere Tindall. London. 273 - 277 ; 319 - 328.
- Kusriningrum, R. 1989. *Dasar Rancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Universitas Airlangga. Surabaya. 135.

- Lokich, J.R., R. Goebbels, R. Weichselbaum, 1980. Complications of Cancer Therapy. In J.J. Lokich, ed Clinical Cancer Medicine Treatment Tactics. Medical Publisher. Boston. Massachusetts. 190 - 191.
- Longenecker, M.P., Jose-Maria Martin-Moreno, P. Knekt, A.M.Y. Nomura, S.E. Schober, H.B. Stahelin, N.J Wald, K.F. Grey, W.C. Willet, 1992. Serum Tocopherol Concentration in Relation to Subsequent Colorectal Cancer : Pooled Data From Five Cohorts. J. Nat. Cancer Institute. 84 (6) : 430 - 435.
- Martindale. 1993. The Extra Pharmacopeia 30th Ed. The Pharmaceutical Press. London. 465 - 467 : 1056.
- Merck Index. 1989. An Encyclopedia of Chemicals, Drug and Biologicals. 10th Ed. Merck and Co. Inc. USA. 429 - 430 ; 1579 - 1580.
- Muhilal. 1991. Teori Radikal Bebas dalam Gizi dan Kedokteran. dalam Cermin Dunia Kedokteran. 73 : 9 - 11.
- Nagabushaman, R., M.S. Kodarkar, R. Sarojisi. 1983. Text Book of Animal Physiology. 2nd Ed. Oxford and IBH Publishing Co. Calcuta. 82 - 83 ; 193 - 194.
- Newbern, P.M. and M.W. Corner. 1989. The Vitamins. In. Kaneko, J.J. ed Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th Ed. Academic Press, Inc. San Diego. 808 -811.
- Panush, R.S. and J.C. Delafuente. 1985. Vitamins and Immunocompetence. In : World Rev. Nutr. Dietet. 45 : 112 - 117.
- Rosmiati dan Wardhini. 1987. Vitamin. In : Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Indonesia.
- Remers, W.A. 1982. Zat Antineoplastik. In : Doerge, R.F. Ed. Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik. Edisi 8. Bag I. IKIP Semarang Press. 303 - 311.
- Salmon, S.E. dan A.C. Sartorelli. 1989. Kemoterapi Kanker. In : Katzung, B.G. ed. Farmakologi Dasar dan Klinik. Terjemahan : Andrianto , P. Edisi 3. EGC. Jakarta. 794 - 801.
- Schalm, O.W., G.J. Jain and E.J. Carroll, 1975. Veterinary Hematology. 3rd Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 254 - 255.

- Sladek, N.E. 1987. Oxazophosphorine. In : Garth Powis and Russel A.P. *ed* *Metabolisme and Action of Anti Cancer Drug*. Taylor and Francis. London. 49 - 81.
- Sladek, N.E. 1988. Metabolism of Oxaphosphorine. In : *Pharmacology Therapy*. 37 : 301 - 355.
- Smigel, K. 1992. Vitamin E Moves On Stage in Cancer Prevention Studies. In *Journal of National Cancer Institute*. 84 (13) : 996 - 997.
- Smith, S.E. dan para editor Grafidian Jaya. 1982. *Bagaimana Obat Bekerja*. Edisi I. Grafidian Jaya Jakarta. 143 - 148.
- Soebandiri. 1990. Terapi Medik dari Kanker Tepat Guna. dalam *Majalah Ilmu Penyakit Dalam*. 16(1): 9.
- Sudiman, H. 1991. Faktor Gizi pada Penyakit Kanker. dalam *Cermin Dunia Kedokteran*. 73 : 17
- Wiroto, H. dan H. Notopuro. 1988. Efek Samping Obat pada Darah. dalam *Majalah Ilmu Penyakit Dalam*. 14(1):68-69.
- Zinkl, J.G. 1989. Leukocyte Function. In : Kaneko J.J. *ed* *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press, Inc. San Diego. 317 - 326.

Lampiran : 1.

Evaluasi Statistik Data Jumlah Leukosit Pada Masing-masing Perlakuan ($\times 10^3/\text{mm}^3$)

Ulangan	Perlakuan			Total
	P ₀	P ₁	P ₂	
1.	8,45	5,55	4,60	
2.	4,80	5,10	4,55	
3.	4,90	6,15	5,85	
4.	9,25	6,90	6,90	
5.	8,70	5,80	2,70	
6.	7,65	6,35	1,45	
7.	7,30	6,40	2,60	
8.	6,05	7,25	4,75	
9.	6,20	5,75	7,30	
10.	6,15	6,85	4,35	
Total	69,45	62,10	45,05	176,60
Rata-rata	6,945	6,210	4,505	-

$$FK = \frac{(176,6)^2}{10 \times 3}$$

$$= 1039,585$$

$$JK \text{ Total} = (8,45)^2 + 4,80 + \dots + (4,35)^2 - FK$$

$$= 1128,720 - 1039,585$$

$$= 89,1347$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(69,45)^2 + (62,10)^2 + (45,05)^2}{10} - FK$$

$$= 1070,9215 - 1039,585$$

$$= 31,336$$

$$JK \text{ Sisa} = 89,135 - 31,336$$

$$= 57,799$$

Lampiran : 1. (lanjutan)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{31,336}{3 - 1} = \frac{31,336}{2} = 15,668$$

$$KT \text{ Sisa} = \frac{57,799}{3(10-1)} = \frac{57,799}{27} = 2,141$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{15,668}{2,141} = 7,318$$

Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Aquadest Steril, Siklofosfamid dan Kombinasi Siklofosfamid-Vitamin E Terhadap Jumlah Leukosit Mencit.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	31,336	15,668	7,318**	3,35	5,49
Sisa	27	57,799	2,141			
Total	29	89,135				

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata antara ketiga perlakuan terhadap jumlah leukosit (F Hitung > F tabel 1 %).

Oleh karena itu, dilanjutkan dengan Uji BNT 5%

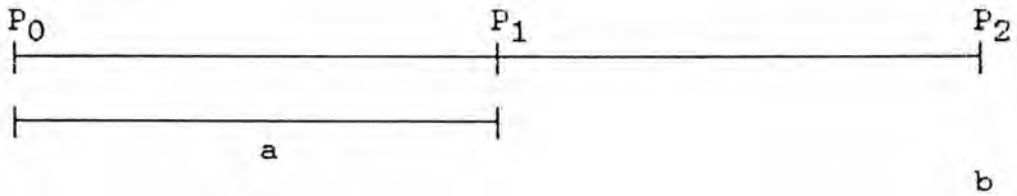
$$\begin{aligned} BNT \ 5\% &= t_{5\%} (27) \times \sqrt{\frac{2KTS}{n}} \\ &= 2,052 \times 0,654 \\ &= 1,342 \end{aligned}$$

Lampiran : 1. (lanjutan)

Beda Rata-rata Perlakuan untuk Uji BNT

Perlakuan	x	Beda		BNT 5%
		$(x - P_2)$	$(x - P_1)$	
P ₀ a	6,945	2,440*	0,735	1,342
P ₁ a	6,210	1,705*		
P ₂ b	4,505			

Notasi :



Lampiran : 2.

Evaluasi Statistik Data Persentase Eosinofil Pada Masing-masing Perlakuan (%)

Ulangan	Perlakuan			Total
	P ₀	P ₁	P ₂	
1.	3	3	2	
2.	1	1	2	
3.	1	2	1	
4.	2	2	3	
5.	3	1	1	
6.	2	3	2	
7.	3	1	3	
8.	2	1	1	
9.	2	2	1	
10.	1	3	2	
Total	20	19	18	57
Rata-rata	2	1,9	1,8	-

$$FK = \frac{(57)^2}{10 \times 3} = 108,3$$

$$JK \text{ Total} = (3)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 - FK = 127 - 108,3 = 18,7$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(20)^2 + (19)^2 + (18)^2}{10} - FK = 108,5 - 108,3 = 0,2$$

$$JK \text{ Sisa} = 18,7 - 0,2 = 18,5$$

Lampiran : 2. (lanjutan)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{0,2}{3 - 1} = 0,1$$

$$KT \text{ Sisa} = \frac{18,5}{3(10-1)} = 0,685$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{0,1}{0,685} = 0,146$$

Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Aquadest Steril, Siklofosfamid dan Kombinasi Siklofosfamid-Vitamin E Terhadap Persentase Eosinofil Mencit.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	0,2	0,1	0,146	3,35	5,49
Sisa	27	18,5	0,685			
Total	29	18,7				

Kesimpulan : Masing-masing perlakuan tidak menunjukkan perbedaan hasil yang nyata (F Hitung < F tabel 5%)

Lampiran : 3.

Evaluasi Statistik Data Persentase Neutrofil Segmented pada Masing-masing Perlakuan (%)

Ulangan	Perlakuan			Total
	P ₀	P ₁	P ₂	
1.	36	61	63	
2.	49	43	67	
3.	41	60	56	
4.	28	42	44	
5.	39	54	59	
6.	43	45	41	
7.	51	42	68	
8.	29	38	64	
9.	30	26	79	
10.	59	55	70	
Total	405	466	611	1482
Rata-rata	40,5	46,6	61,1	

$$FK = \frac{(1482)^2}{10 \times 3}$$

$$= 73210,8$$

$$JK \text{ Total} = (36)^2 + (49)^2 + \dots + (70)^2 - FK$$

$$= 78103 - 73210,8$$

$$= 4892,2$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(405)^2 + (466)^2 + (611)^2}{10} - FK$$

$$= 75450,2 - 73210,8$$

$$= 2239,4$$

$$JK \text{ Sisa} = 4892,2 - 2239,4$$

$$= 2652,8$$

Lampiran : 3. (lanjutan)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{2239,4}{3 - 1} = 1119,7$$

$$KT \text{ Sisa} = \frac{2652,8}{3(10-1)} = 98,25$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{1119,7}{98,25} = 11,396$$

Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Aquadest Steril, Siklofosfamid dan Kombinasi Siklofosfamid-Vitamin E Terhadap Persentase Neurofil Mencit.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	2239,4	1119,7	11,396 ^{***}	3,35	5,49
Sisa	27	2652,8	98,25			
Total	29	4892,2				

Kesimpulan : Masing - masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap persentase Neutrofil segmented (F Hitung > F tabel 1 %).

Oleh karena itu, dilanjutkan dengan Uji BNT 5%

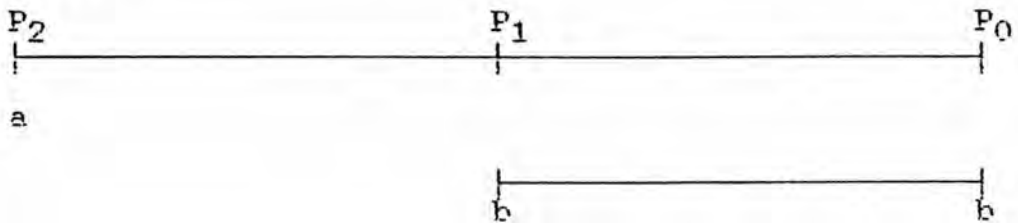
$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t_{5\%} (27) \times \sqrt{\frac{2KTS}{n}} \\ &= 2,052 \times 4,433 \\ &= 9,1 \end{aligned}$$

Lampiran : 3. (lanjutan)

Beda Rata-rata Perlakuan untuk Uji BNT

Perlakuan	x	Beda		BNT 5%
		$(x - P_0)$	$(x - P_1)$	
P ₂ a	61,1	20,6*	14,5*	9,1
P ₁ b	46,6	6,1		
P ₀ b	40,5			

Notasi :



Lampiran : 4.

Evaluasi Statistik Data Persentase Limfosit Pada Masing-masing Perlakuan (%)

Ulangan	Perlakuan			Total
	P ₀	P ₁	P ₂	
1.	60	34	33	
2.	48	55	28	
3.	56	37	39	
4.	67	54	49	
5.	57	44	37	
6.	53	50	56	
7.	44	56	27	
8.	68	59	33	
9.	65	71	19	
10.	38	41	27	
Total	556	501	348	1405
Rata-rata	55,6	50,1	34,8	-

$$FK = \frac{(1405)^2}{10 \times 3}$$

$$= 65800,83$$

$$JK \text{ Total} = (60)^2 + (48)^2 + \dots + (27)^2 - FK$$

$$= 71265 - 65800,83$$

$$= 5464,17$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(55,6)^2 + (50,1)^2 + (34,8)^2}{10} - FK$$

$$= 68124,1 - 65800,83$$

$$= 2323,27$$

$$JK \text{ Sisa} = 5464,17 - 2323,27$$

$$= 3140,9$$

Lampiran : 4. (lanjutan)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{2323,27}{3 - 1} = 1161,64$$

$$KT \text{ Sisa} = \frac{3140,89}{3(10-1)} = 116,33$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{1161,64}{116,33} = 9,986$$

Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Aquadest Steril, Siklofosfamid dan Kombinasi Siklofosfamid-Vitamin E Terhadap Persentase Limfosit Mencit.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	2323,27	1161,64	9,986**	3,35	5,49
Sisa	27	3140,9	116,33			
Total	29	5464,17				

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata antara ketiga perlakuan terhadap persentase Limfosit ($F \text{ Hitung} > F \text{ tabel } 1\%$).

Masing-masing perlakuan memberikan hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

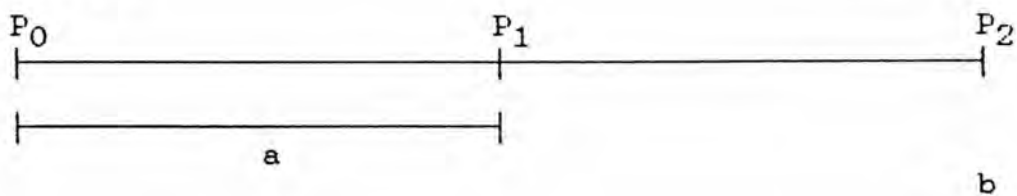
$$\begin{aligned} BNT \ 5\% &= t_{5\%} (27) \times \sqrt{\frac{2KTS}{n}} \\ &= 2,052 \times 4,82 \\ &= 9,89 \end{aligned}$$

Lampiran : 4. (lanjutan)

Beda Rata-rata Perlakuan untuk Uji BNT

Perlakuan	x	Beda		BNT 5%
		$(x - P_2)$	$(x - P_1)$	
P ₀ a	55,6	20,8*	5,5	9,89
P ₁ a	50,1	15,3*		
P ₂ b	34,8			

Notasi :



Lampiran : 5.

Evaluasi Statistik Data Persentase Monosit Pada Masing-masing Perlakuan (%)

Ulangan	Perlakuan			Total
	P ₀	P ₁	P ₂	
1.	1	2	2	
2.	2	1	3	
3.	2	1	4	
4.	3	2	4	
5.	1	1	3	
6.	2	2	1	
7.	2	1	2	
8.	1	2	2	
9.	3	1	1	
10.	2	1	1	
Total	19	14	23	56
Rata-rata	1,9	1,4	2,3	-

$$FK = \frac{(56)^2}{10 \times 3}$$

$$= 104,53$$

$$JK \text{ Total} = (1)^2 + (2)^2 + \dots + (1)^2 - FK$$

$$= 128 - 104,53$$

$$= 23,47$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(19)^2 + (14)^2 + (23)^2}{10} - FK$$

$$= 108,6 - 104,53$$

$$= 4,07$$

$$JK \text{ Sisa} = 23,47 - 4,07$$

$$= 19,4$$

Lampiran : 5. (lanjutan)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{4,07}{3 - 1} = 2,035$$

$$KT \text{ Sisa} = \frac{19,4}{3(10-1)} = 0,719$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{2,035}{0,719} = 2,83$$

Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Aquadest Steril, Siklofosfamid dan Kombinasi Siklofosfamid-Vitamin E Terhadap Persentase Monosit Mencit.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	4,07	2,035	2,83	3,35	5,49
Sisa	27	19,40	0,719			
Total	29	23,47				

Kesimpulan : Masing-masing perlakuan tidak menunjukkan perbedaan hasil yang nyata (F Hitung < F tabel 5%)

Lampiran : 6. Daftar F

Derajat bebas galat	Derajat bebas perlakuan							
	1		2		3		4	
	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01
1	116,00	4,052	200,00	4,000	216,00	5,403	225,00	5,025
2	18,51	98,490	19,00	99,010	19,16	99,170	19,25	99,250
3	10,13	34,120	9,55	30,810	9,28	29,460	9,12	28,710
4	7,71	21,20	6,94	18,000	6,5	16,690	6,39	15,980
5	6,61	16,26	5,79	13,270	5,41	12,060	5,19	11,390
6	5,99	13,74	5,14	10,920	4,76	9,780	4,53	9,150
7	5,59	12,25	5,74	9,550	4,35	8,450	4,12	7,850
8	5,32	11,26	4,46	8,650	4,07	7,590	3,84	7,010
9	5,12	10,56	4,26	8,020	3,86	6,990	3,63	6,420
10	4,96	10,04	4,10	7,560	3,71	6,550	3,48	5,990
11	4,84	9,56	3,98	7,200	3,59	6,220	3,36	5,670
12	4,75	9,33	3,88	6,930	3,49	5,950	3,26	5,410
13	4,67	9,07	3,80	6,700	3,41	5,740	3,18	5,200
14	4,60	8,86	3,74	6,510	3,34	5,560	3,11	5,030
15	4,54	8,68	3,68	6,360	3,29	5,420	3,06	4,890
16	4,49	8,53	3,83	6,230	3,24	5,200	3,01	4,770
17	4,45	8,80	3,59	6,110	3,20	5,180	2,96	4,670
18	4,41	8,28	3,55	6,010	3,16	5,090	2,93	4,580
19	4,38	8,18	3,52	5,930	3,13	5,010	2,90	4,500
20	4,35	8,10	3,49	5,850	3,10	4,940	2,87	4,430
21	4,32	8,02	3,47	5,780	3,07	4,870	2,84	4,370
22	4,30	7,94	3,44	5,720	3,05	4,820	2,82	4,310
23	4,28	7,88	3,42	5,660	3,03	4,760	2,80	4,260
24	4,26	7,82	3,44	5,610	3,01	4,720	2,78	4,220
25	4,24	7,77	3,38	5,750	2,99	4,860	2,76	4,180
26	4,22	7,72	3,37	5,530	2,98	4,640	2,74	4,140
27	4,21	7,68	3,35	5,490	2,96	4,600	2,73	4,110
28	4,20	7,64	3,34	5,450	2,95	4,750	2,71	4,070
29	4,18	7,60	3,33	5,420	2,93	4,540	2,70	4,040
30	4,17	7,56	3,32	5,390	2,92	4,510	2,69	4,020
32	4,15	7,50	3,30	5,340	2,90	4,460	2,67	3,970
34	4,13	7,44	3,28	5,290	2,88	4,420	2,65	3,930
38	4,10	7,35	3,25	5,210	2,85	4,340	2,62	3,860
42	4,07	7,27	3,22	5,150	2,83	4,290	2,59	3,800
46	4,05	7,21	3,20	5,100	2,81	4,240	2,75	3,760

Lampiran : 6. (lanjutan)

50	4,03	7,17	3,18	5,060	2,79	4,200	2,56	3,720
60	4,00	7,08	3,15	4,980	2,76	4,130	2,52	3,650
80	3,96	6,96	3,11	4,880	2,72	4,040	2,48	3,560
100	3,94	6,90	3,09	4,820	2,70	3,980	2,46	3,510
200	3,89	6,76	3,04	4,710	2,65	3,880	2,41	3,410
1000	3,84	6,64	2,99	4,600	2,60	3,780	2,37	3,320

Sumber : Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap

(Kusriningrum, R. 1990)

Lampiran : 7. Daftar t

derajat t			derajat t			derajat t		
bebas	95 %	99 %	bebas	95 %	99 %	bebas	95 %	99 %
1.	12,706	63,657	23.	2,069	2,087	56.	2,003	2,667
2.	4,303	9,925	24.	2,064	2,797	58.	2,001	2,663
3.	3,182	5,841	25.	2,060	2,787	60.	2,000	2,660
4.	2,776	4,604	26.	2,056	2,779	62.	1,999	2,658
5.	2,571	4,032	27.	2,052	2,771	64.	1,998	2,655
6.	2,447	3,707	28.	2,048	2,763	65.	1,997	2,653
7.	2,365	3,449	29.	2,045	2,756	66.	1,996	2,652
8.	2,306	3,355	30.	2,042	2,750	68.	1,995	2,650
9.	2,262	3,250	32.	2,037	2,738	70.	1,994	2,648
10.	2,228	3,169	34.	2,032	2,728	72.	1,993	2,646
11.	2,201	3,106	35.	2,030	2,724	74.	1,992	2,644
12.	2,179	3,055	36.	2,028	2,720	75.	1,992	2,642
13.	2,160	3,012	38.	2,024	2,712	78.	1,990	2,640
14.	2,145	2,977	40.	2,021	2,704	80.	1,989	2,639
15.	2,131	2,947	42.	2,018	2,698	82.	1,988	2,637
16.	2,120	2,921	44.	2,015	2,692	84.	1,987	2,635
17.	2,110	2,898	45.	2,014	2,689	86.	1,987	2,634
18.	2,101	2,878	46.	2,013	2,687	88.	1,986	2,632
19.	2,093	2,861	48.	2,010	2,682	90.	1,986	2,631
20.	2,086	2,845	50.	2,008	2,678	92.	1,986	2,630
21.	2,080	2,831	52.	2,006	2,674	94.	1,986	2,629
22.	2,074	2,819	54.	2,005	2,670	96.	1,984	2,627
			55.	2,004	2,668	100.	1,982	2,625

Sumber : Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap
(Kusrianingrum, R. 1990).