

**DISERTASI**

**ANALISIS PEMBESARAN PROSTAT DAN PERUBAHAN  
RESPONS IMUNOPATOBIOLOGIK AKIBAT PENINGKATAN  
ESTROGEN DAN *LUTEINIZING HORMONE*  
PADA *MACACA FASCICULARIS***



**PAULUS LIBEN**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1998**

**DISERTASI**

**ANALISIS PEMBESARAN PROSTAT DAN PERUBAHAN  
RESPONS IMUNOPATOBIOLOGIK AKIBAT PENINGKATAN  
ESTROGEN DAN *LUTEINIZING HORMONE*  
PADA *MACACA FASCICULARIS***

**PAULUS LIBEN**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1998**



**ANALISIS PEMBESARAN PROSTAT DAN PERUBAHAN  
RESPONS IMUNOPATOBIOLOGIK AKIBAT PENINGKATAN  
ESTROGEN DAN *LUTEINIZING HORMONE*  
PADA *MACACA FASCICULARIS***

**DISERTASI**

Untuk memperoleh Gelar Doktor  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh:

**Paulus Liben**  
**NIM: 09901822D**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

Tanggal 7 Juli 1998

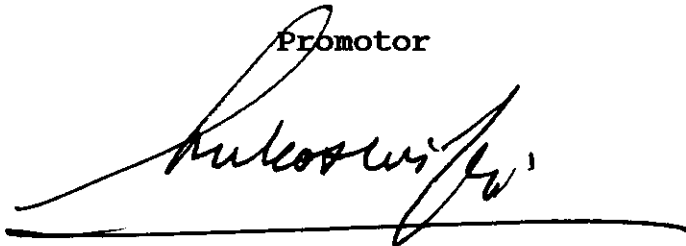
iii

**Lembar Pengesahan**

**Disertasi ini telah disetujui  
tanggal 1 Juli 1999**

Oleh

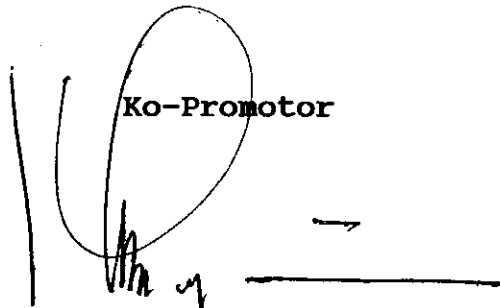
Promotor



**Prof Dr Lukas Widyanto, dr**

**NIP. 130.039.762**

Ko-Promotor



**Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS**

**NIP. 130.934.628**

**Telah diuji pada ujian tertutup**

**Tanggal 25 Nopember 1997**

---

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

**Ketua : Prof Dr Pitono Suparto, dr**

**Anggota :**

1. Prof Dr Lukas Widyanto, dr
2. Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS
3. Prof Dr Roemwerdiniadi Soedoko, dr
4. Prof Dr Thomas Kardjito, dr
5. Prof Widjoseno Gardjito, dr
6. Prof Dr Handono Kalim, dr
7. Prof HAH Asdie, dr, DSPD, KE
8. Widodo JP, dr, MS, MPH, DrPH
9. Martin Setiabudi, dr, PhD

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor: 3346/JO3.11/PP/1997  
Tanggal 14 Nopember 1997

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan atas segala rahmat, karunia dan bimbingan-Nya yang telah dilimpahkan, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, maka dengan tulus hati dan dengan penuh rasa syukur saya sampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Departemen Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana.

Rektor Universitas Airlangga, Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD dan mantan Rektor Universitas Airlangga, Prof H R Soedarso Djojonegoro, dr serta Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo, dr yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr H Soedijono, dr, DSTHT dan mantan Direktur Program

Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr Soetarjadi ,Apt, yang telah memberikan kesempatan kepada saya dalam mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Dr Lukas Widyanto,dr, guru besar dalam Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, selaku pendidik dan promotor yang telah banyak membantu dalam pengarahan dan penambahan wawasan keilmuan, khususnya untuk bidang Endokrinologi serta mengatasi segala hambatan yang timbul selama pelaksanaan penelitian ini. Sebagai pembimbing, beliau selalu menyediakan waktu dan dengan sabar membimbing, mengoreksi serta memberikan saran dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan disertasi ini.

Dr Suhartono Taat Putra,dr,MS, selaku ko-promotor yang telah banyak memberikan wawasan dan pemahaman tentang patobiologi, imunopatobiologi dan imunopatologi sehingga saya mendapat gambaran dan bimbingan dalam menuangkan ide pada penulisan disertasi ini. Dengan penuh kesabaran dan tanpa mengenal lelah beliau telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian disertasi ini. Saya juga sangat berterima kasih pada dr Elyana Asnar S Taat Putra,MS yang dengan tulus hati

telah mengizinkan saya untuk berdiskusi di rumah beliau.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof Dr H MS Wiyadi,dr dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof Dr H Askandar Tjokroprawiro,dr, DSPD,KE serta Prof R Soemarto,dr atas izin yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Segenap staf pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan bekal ilmu yang amat bermanfaat: Prof Abdoel Gani,SH,MS, Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo,dr, Prof Purnomo Suryohudoyo,dr, Prof Dr Thomas Kardjito,dr, Prof Dr Noor Rachman,dr, Prof Atasiati Idajadi,dr, DSMK, Prof Dr Yoes Prijatna Dahlan,dr,MSc, Prof Dr HJ Glin-ka,SVD, Prof Dr Arif Adimoelja,dr,MSc, Prof WF Maramis,dr, Prof H Santoso,dr, Alm. Prof Sumarto Danusugondho,dr,MPH, DPH, Fuad Amsyari,dr,MPH,PhD, Dr M Zainuddin,Apt, Dr Julia Maria,drg,MS dan Dr Soeprapto Ma'at,drs,MS.

Martin Setiabudi,dr,PhD, selaku Kepala Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk melanjutkan pendidikan program doktor dan banyak memberikan semangat dan dorongan





dalam menyelesaikan disertasi ini.

Prof Dr Pitono Suparto,dr,DSAK, Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberi petunjuk dan pengarahan dalam penilaian disertasi ini.

Prof Dr Roemwerdiniadi Soedoko,dr,DSPA yang telah banyak memberi petunjuk dan pengarahan dalam penilaian disertasi ini.

Prof Dr Thomas Kardjito,dr yang telah memberikan pengarahan yang amat bermanfaat dalam bidang imunologi.

Prof Widjoseno Gardjito,dr, Kepala Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu dan memberi semangat dalam penyelesaian disertasi ini.

Dr Doddy M Soebadi,dr, Kepala Seksi Urologi Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi petunjuk dan pengarahan dalam penilaian disertasi ini.

Prof Dr Handono Kalim,dr, Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memeriksa, mengoreksi dan memberi banyak masukan dalam penilaian disertasi ini.

Prof H Ahmad H Asdie,dr,Sp.PD,KE, Kepala Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada yang telah berkenan memberi pengarahan yang terperinci pada ujian tertutup tahap pertama disertasi ini.

Prof Dr Yoes Prijatna Dahlan,dr,MSc sebagai Direktur Laboratorium TDRC Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof IGN Gde Ranuh,dr, mantan Direktur Laboratorium TDRC Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga beserta stafnya terutama Dr Eddy Bagus Wasito dr,MS dan Bapak Mochamad Chusen Maskoer atas kesempatan dan bantuan yang telah diberikan dalam pengukuran parameter subtipe-limfosit.

Widodo J Pudjirahardjo,dr,MPH,DrPH sebagai konsultan dalam metodologi penelitian, khususnya dalam rancangan dan analisis statistik untuk mendapatkan hasil yang sesuai dengan tujuan dalam penelitian ini.

H Abdul Kamid Iskandar,dr,MS, Kepala Laboratorium

Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof Sentot Soeatmadji, dr, mantan Kepala Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin untuk menggunakan fasilitas Laboratorium Histologi.

Prof H Santoso, dr dan Albert Sudanawidjaja, dr yang telah memberikan petunjuk dan bimbingan tentang pembuatan sediaan histologi.

Rahajoe Imam Santoso, dr, kepala Makmal Endokrinologi RSUD dr Soetomo beserta stafnya yang telah membantu memeriksakan kadar hormon untuk penelitian ini.

Sdr Abdul Kholik, Ahli Madya bidang statistik staf Laboratorium Komputasi Jurusan Statistik Fakultas MIPA ITS Surabaya, yang telah membantu dalam analisis data penelitian untuk disertasi ini.

Muhammad Cholil Munif, dr yang telah membantu saya dalam menganalisis data penelitian saya.

Prof Dr Satyanegara MD, direktur Rumah Sakit Pusat

Pertamina (RSPP) Jakarta, atas ijin yang diberikan pada saya untuk menggunakan fasilitas yang ada untuk pemeriksaan variabel imunopatobiologik di Laboratorium Patologi Anatomi RSPP Jakarta.

H Prabowo Soemarto, dr, DSPA kepala Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Pusat Pertamina (RSPP) Jakarta yang dengan tulus hati memberikan ijin pada saya untuk melakukan pemrosesan dan pewarnaan imunohistokimia. Demikian pula untuk para staf di Laboratorium Patologi Anatomi, Sdr Kardi- ni, Syamsuarti, BSc, Nursiah Tampubolon, dra dan Sdr Purwadi atas kesediaannya membantu saya.

Pimpinan Laboratorium Prodia Surabaya beserta stafnya terutama Andriani, dra atas kebaikan dan kesempatan yang telah diberikan dalam membantu pengukuran variabel peneli- tian saya.

Soedarjani Christanto, drg, MS dari Laboratorium Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Air- langga yang telah membantu membuatkan foto Rontgen susunan gigi hewan coba.

Dr I Komang Wiarsa Sardjana, drh, kepala Rumah Sakit

Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk menggunakan fasilitas pemeriksaan ultrasonografi (USG) di rumah sakit tersebut.

Dr Suryani Handaja, drh, yang telah dengan tulus hati telah membantu saya melakukan pemeriksaan USG di Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

H Chunadi Ermanta, dr, DSR, staf Laboratorium Radiologi RSUD Dr Soetomo, yang telah membantu dan memberikan pengarahan dalam pelaksanaan pemeriksaan USG pada hewan coba.

Bapak Stanislaus Subakir, Direktur Kebun Binatang Surabaya, yang telah membantu menyediakan hewan coba untuk penelitian ini.

Liang Kaspe, drh, staf Kebun Binatang Surabaya yang telah banyak memberikan pengarahan tentang pemeliharaan dan perawatan hewan coba sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Dr FM Judayana, dr, staf Laboratorium Patologi Klinik

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu saya untuk memperoleh pengertian yang lebih dalam di bidang imunologi.

Dr Sunarko Setyawan, dr, MS dari Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi pengertian dan pengarahannya dalam pengambilan kesimpulan hasil analisis statistik.

Semua sejawat di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga beserta staf yang selalu mendorong saya dan dengan penuh pengertian membantu menggantikan tugas saya selama saya menempuh pendidikan program doktor.

Kepada guru dan dosen saya sejak saya di Sekolah Dasar, Sekolah Menengah Pertama, Sekolah Menengah Atas, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, saya sampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya atas pendidikan dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya. Semuanya ini tak akan dapat tercapai tanpa beliau.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya, saya sampaikan kepada almarhum ayah dan

ibu tercinta Josef Liben dan Maria Magdalena yang telah membesarkan saya dengan kasihnya, membimbing dan selalu mendorong saya untuk mencapai cita-cita.

Yang tercinta istri saya, Diana Liben, dr, MSc serta putra-putri saya Sandra, Stefanus dan Martin yang dengan penuh kesabaran dan pengertian selalu mendampingi dan membantu saya dalam penyelesaian disertasi ini.

Akhirnya kepada semua pihak, handai taulan dan para sejawat yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah ikut membantu dan memberikan dorongan untuk melanjutkan pendidikan di program doktor serta dorongan untuk segera menyelesaikan disertasi ini, untuk itu saya sampaikan banyak terima kasih.

## RINGKASAN

### **Analisis Pembesaran Prostat dan Perubahan Respons Immunopatobiologik Akibat Peningkatan Estrogen dan *Luteinizing Hormone* pada *Macaca fascicularis***

Pertumbuhan kelenjar prostate dirangsang oleh hormon testosteron. Pembesaran prostat yang dikenal sebagai *benign prostatic hyperplasia* (BPH) justru sering timbul pada saat kadar testosteron berkurang dan *luteinizing hormone* (LH) meningkat seiring dengan meningkatnya usia. Efek ini tampaknya paradoksal.

Insidens BPH cukup besar yaitu sekitar 50% dari pria yang berumur di atas 40-50 tahun dan sering menimbulkan gangguan buang air kecil yang sangat mengganggu dan menurunkan produktivitas hidup penderita.

Patogenesis BPH hingga saat ini belum jelas. Bila patogenesis BPH ini dapat diungkapkan secara jelas maka pencegahan dan pengobatan BPH dapat dilakukan dengan cara yang lebih efektif dan rasional.

Pada usia lanjut testosteron cenderung menurun dan akibatnya LH meningkat dan rasio kadar estrogen terhadap testosteron menjadi relatif lebih tinggi.

Pembesaran prostat menyangkut juga peningkatan *prostate specific antigen* (PSA) sebagai produk dari kelenjar prostat. PSA ini bersifat imunogen.

Berdasarkan atas dasar fakta-fakta dan teori tersebut di atas dilakukanlah penelitian untuk mencoba mengungkapkan pengaruh pemberian estrogen dan LH terhadap



komponen prostat (reseptor androgen, kelenjar, otot polos, sabut kolagen, retikuler dan elastik), PSA serta respons imun.

Sebagai hewan coba dipakai monyet (*Macaca fascicularis*) jantan dewasa muda.

Metode yang dipakai adalah metode eksperimental murni dengan *The pretest-posttest control group design*. Uji statistik yang dipergunakan adalah *multivariate analysis*.

Sampel dibagi atas 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 12 hewan coba. Diberikan estrogen pada kelompok 1, LH pada kelompok 2 dan kelompok 3 sebagai kelompok kontrol. Perlakuan diberikan selama 4 bulan. Variabel yang diperiksa meliputi kadar hormon dalam serum, komponen imunologik dalam darah, PSA serta komponen jaringan prostat.

Dari penelitian ini ternyata pemberian estrogen maupun LH dapat meningkatkan jumlah reseptor androgen pada prostat. Dengan meningkatnya reseptor androgen maka akan meningkat juga kompleks androgen-reseptor yang akan memacu terbentuknya berbagai *growth stimulatory factor* yang selanjutnya memacu proliferasi komponen prostat. Peningkatan komponen prostat ini mengakibatkan terjadinya peningkatan berat dan volume prostat.

Terjadi perubahan respons imun pada pemberian estrogen dan pada pemberian LH. Perubahan kadar estrogen dan LH dapat

mempengaruhi kadar PSA sebagai imunogen.

Pada kelompok yang diberi estrogen, terjadi peningkatan PSA yang tinggi. PSA yang tinggi ini mempunyai kontribusi yang besar pada peningkatan efek IgG (dengan efek negatif). Peningkatan efek ini disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Hal ini dapat diakibatkan oleh peningkatan sel Th2 yang disertai dengan peningkatan yang sangat tinggi dari sel Tc. Sel Th2 mempunyai peran yang menonjol pada respons imun humoral. Terjadi penurunan APC karena peningkatan efek IgG terjadi pengeblokan reseptor estrogen pada APC sehingga rangsangan proliferasi APC tak terjadi. Dengan demikian pada kelompok yang diberi estrogen terjadi peningkatan PSA yang membangkitkan respons imun yang merugikan.

Pada kelompok yang diberi LH terjadi peningkatan PSA yang rendah. PSA yang rendah ini mempunyai kontribusi yang rendah terhadap perubahan IgG. Peningkatan rasio CD4/CD8 yang dapat menyebabkan penekanan efek IgG pada kelompok ini, dapat diakibatkan oleh penurunan sel Th2 yang disertai pula dengan penurunan yang sangat besar dari sel Tc. Terjadi peningkatan APC karena pada penurunan efek IgG tak terjadi pengeblokan reseptor LH pada APC sehingga tak terjadi hambatan proliferasi APC. Jadi pada kelompok yang diberi LH terjadi peningkatan PSA yang rendah yang membangkitkan

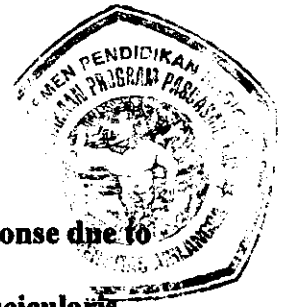
respons imun yang tidak terlalu merugikan.

Dengan demikian tampak adanya perbedaan respons imun yang berbeda antara kedua kelompok kategorik ini.

Dapat disimpulkan bahwa estrogen dan LH ikut berperan dalam proses pembesaran prostat dan dapat mengakibatkan perubahan respons imun.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu pencegahan dan pengobatan BPH secara rasioanal dan sebagai jembatan dalam penelitian lanjutan dalam usaha mengungkapkan patogenesis terjadinya BPH yang multifaktorial ini dari aspek yang berbeda.

Pengungkapan perubahan respons imun dalam penelitian ini diharapkan dapat membantu penanganan yang terarah pada masalah respons imun dan gangguan hormonal yang terjadi pada pria berusia lanjut.

**SUMMARY****Analysis of Prostatic Enlargement and Immunopathologic Response due to Increasing Estrogen and Luteinizing Hormone on *Macaca fascicularis***

The growth of prostatic tissue is stimulated by testosterone. Prostatic enlargement known as benign prostatic hyperplasia (BPH) is often manifested when the testosterone hormone is decreasing and luteinizing hormone (LH) is increasing in increasing age. This effect seems to be paradoxal.

The incidence of BPH is high enough, about 50% of 40-50 years old men. The effect of BPH is manifested as disturbance of micturation. It disturbs the productivity and the quality of life of life of the patients.

The pathogenesis of BPH is still unclear. If the pathogenesis of of BPH can be clearly detected, the prevention and treatment of BPH can be managed rationally and be more effective.

In old age the testosterone concentration decreases and LH will increase due to the feed back mechanism of hypothalamic-pituitary axis. Ratio of estrogen to testosterone concentration will be realatively high. Prostatic enlargement is associated with the increasing prostate specific antigen (PSA) as a product of prostate gland. PSA has immunogenic activity.

XX

Based on this facts, the experiment was done to detect the influence of increasing estrogen and LH to the prostatic components/factors (androgen receptor, smooth muscle, collagen, reticular and elastic fibers), PSA and immune response.

The animals used in this experiment were young adult male monkeys (*Macaca fascicularis*). This true experimental method was used with the pretest-posttest control group design. Multivariate analysis was used for statistical calculation.

Samples were divided randomly in 3 groups consist of 12 monkeys. Estrogen was given to the group1, LH to the group 2 and the group 3 as a control group. The treatments were given for 4 months. The variables detected in this experiment were hormone concentration in serum, immunologic components in blood, PSA and fiber components of prostatic gland.

The results of this experiment showed that estrogen and LH treatment increased the amount of androgen receptors in prostatic tissue. The increasing androgenic receptors would increase the androgen- receptor complexes and it would cause more growth stimulatory factors production and the proliferation of prostatic components were stimulated. The prostatic weight and volume increased.

The estrogen and LH treatments caused change of immunological response and influenced the PSA concentration.

In estrogen group, PSA concentration as an immunogen highly raised and caused a worse immune response. The high concentration of PSA had a contribution of increasing effect of IgG (negative effect). It was due to the change of CD4/CD8 ratio.

This was due to the highly increasing Th2 and Tc cells. Th2 cells had a special role in humoral immune response. High IgG caused blocking of estrogenic receptor in APC, so it blocked the proliferation of APC. It was concluded that the treatment of estrogen caused increasing PSA and worse immune response.

In LH group, PSA concentration also raised, but much lower than in estrogen group. This low concentration of PSA had a low contribution to the change of IgG. Increasing of CD4/CD8 ratio could depress IgG effect. It was due to the decreasing Th2 and Tc cells. Decreased effect of IgG did not block the LH receptors in APC, so the APC proliferation was not influenced. So, the treatment of LH caused a better immune response than the immune response of the estrogen group.

It was concluded that estrogen and LH played important role in the enlargement of prostatic gland and in altering the immune response.

The result of this experiment was hoped to be used for the rational prevention and treatment of BPH and for further experiments in discovering the pathobiology and immunopathology of BPH.

**ABSTRACT****Analysis of Prostatic Enlargement and Immunopathologic Response due to Increasing Estrogen and Luteinizing Hormone on *Macaca fascicularis***

The growth of prostatic tissue is stimulated by testosterone. The incidence of benign prostatic hyperplasia (BPH) is higher in old age when the testosterone level is low. At this time luteinizing hormone (LH) is higher than normal and estrogen concentration is relatively higher than testosterone.

This discrepancy stimulates our curiosity to investigate the pathobiology of BPH. Prostate specific antigen (PSA) as an immunogen is a product of prostatic gland.

The effects of estrogen and LH on the prostatic components (androgen receptor, gland, smooth muscle, interstitial fibers), PSA and immune response were studied.

We used young male monkeys (*Macaca fascicularis*) for this experiment. The method used was pure experimental with the pretest-posttest control group design. Samples were divided into 3 groups. 12 monkeys for each group. Estrogen was given to the first group, LH to the second group and the third one was the control group. The treatments were given for 4 months. The variables detected were hormones concentration in plasma, immunologic components in blood, PSA and the prostatic tissue components.

In this experiment we found that androgen receptors were increased in the prostatic tissue after estrogen and LH treatment. The abundant androgen-receptor complexes caused more growth stimulatory factor production and the proliferation of prostatic components were stimulated. The prostatic weight and volume increased.

In estrogen group, PSA concentration as an immunogen raised and caused a worse immune response.

In LH group, PSA concentration also raised, but much lower than in estrogen group. This low concentration of PSA caused a better immune response than the immune response of the estrogen group.

It was concluded that estrogen and LH played important role in the enlargement of prostatic gland and in altering the immune response.

The result of this experiment was hoped to be used for the rational prevention and treatment of BPH and for further experiments in discovering the pathobiology and immunopathology of BPH.

**Keywords:** benign prostate hyperplasia, BPH, estrogen, luteinizing hormone, PSA, immune response

**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
Sampul Depan .....	i
Sampul Dalam .....	ii
Prasyarat Gelar .....	iii
Persetujuan .....	iv
Penetapan Panitia .....	v
Ucapan Terima Kasih .....	vi
Ringkasan .....	xvi
Summary .....	xx
Abstract .....	xxiii
DAFTAR ISI .....	xxiv
DAFTAR TABEL .....	xxx
DAFTAR GAMBAR .....	xxxii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxxiii
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	 1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5



<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Anatomi, Histologi dan Faal Kelenjar Prostat .....	7
2.2 Hipertrofi Prostat .....	9
2.3 Insidens BPH .....	10
2.4 Patogenesis BPH .....	11
2.5 Pengaruh Testosteron pada BPH .....	12
2.5.1 Mekanisme kerja androgen .....	15
2.5.2 Metabolisme androgen pada prostat .....	16
2.6 Peranan Estrogen Pada BPH .....	17
2.7 Hormon Steroid Seks Pada BPH .....	19
2.8 Konsentrasi Steroid Dalam Serum .....	20
2.9 Konsentrasi Steroid Pada Jaringan Prostat .....	22
2.10 Reseptor Pada Prostat .....	25
2.11 Pengaruh Kastrasi .....	27
2.12 Peranan Otot Polos Prostat .....	27
2.13 Sensitivitas Hormon pada Jaringan Stroma Prostat .....	29
2.14 Teori Interaksi Epitel-Stroma Dalam Perkembangan Prostat .....	30
2.15 Teori Sel Stem Pada BPH .....	33
2.16 <i>Prostate Specific Antigen (PSA)</i> .....	36
2.17 BPH Pada Hewan .....	38
2.18 Respons Imun .....	38
2.18.1 Respons imunologik seluler .....	40
2.18.2 Respons imunologik humoral .....	41

2.18.3 Antibodi .....	42
2.18.4 Autoimunitas dan BPH .....	44
2.19 Faktor Genetik dan BPH .....	45
2.20 Pengobatan BPH .....	45
2.21 Menentukan Umur Monyet Dengan Gigi .....	47
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...</b>	<b>49</b>
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian .....	49
3.2 Hipotesis Penelitian .....	51
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>52</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	52
4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel .....	52
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasioanal .....	56
4.4 Bahan dan Materi Penelitian .....	57
4.5 Bahan dan Alat .....	58
4.6 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data .....	59
4.6.1 Penelitian pendahuluan .....	59
4.6.2 Pemeliharaan hewan coba .....	59
4.6.3 Pengelompokan hewan coba .....	61
4.7 Analisis Data .....	66

<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>69</b>
5.1 Deskripsi Subyek Penelitian .....	69
5.2 Nilai Rerata dan Simpang Baku (SB) Variable .....	70
5.3 Hasil Uji Homogenitas .....	72
5.4 Hasil Uji Perbedaan Variable Pada Bagian Perifer dan Medial Kelenjar Prostat .....	73
5.5 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok dan Antar Variabel .....	74
5.6 Hasil Uji Perbedaan Nilai Pre dan Post Pada Kelompok Kontrol ....	74
5.7 Hasil Uji Perbedaan Berat dan Volume Prostat .....	75
5.8 Hasil Uji Perbedaan Peningkatan Kadar Hormon Estrogen dan Kadar LH pada kelompok 1 dan Kelompok 2 .....	75
5.9 Hasil Uji Peningkatan Kadar hormon Estrogen dan Kadar LH Terhadap Perubahan Komponen Prostat Pada Kelompok 1 dan Kelompok 2 ....	77
5.10 Hasil Uji Nilai Rerata Kelenjar Pada Prostat Terhadap perubahan PSA	79
5.11 Hasil uji Perbedaan Kadar PSA Pada Kelompok 1 dan Kelompok 2 ...	79
5.12 Hasil uji Perubahan PSA Terhadap Perubahan Respons Imun Pada Kelompok 1 (PSA Tinggi) dan Kelompok 2 (PSA Rendah) .....	80
5.13 Pembuatan Pola Inunopatobiologik .....	82
5.14 Pembuatan Pola Perubahan respons Imun .....	85
5.15 Penafsiran Pola .....	86

<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	<b>87</b>
6.1 Peningkatan Kadar Estrogen Pada kelompok 1 dan Peningkatan Kadar LH Pada Kelompok 2 .....	88
6.2 Pengaruh Peningkatan Kadar Estrogen dan Peningkatan Kadar LH Pada Komponen Prostat .....	89
6.3 Peningkatan Berat dan Volume Prostat .....	92
6.4 Pengaruh Peningkatan Kelenjar Pada Prostat Terhadap peningkatan PSA .....	94
6.5. Perbedaan Kadar PSA Pada Kelompok 1 (Estrogen Tinggi) dan Kelompok 2 (LH Tinggi) .....	95
6.6 Perubahan Kadar PSA Terhadap Perubahan Respons Imun Pada Kelompok dengan Kadar PSA Tinggi dan Pada Kelompok Dengan Kadar PSA yang Rendah .....	96
6.7 Perbedaan Pola Imunopatobiologik Pada Perubahan PSA .....	97
6.7.1 Analisis diskriminan .....	97
6.7.2 Pola perubahan respons imun (Pola imunopatobiologik) .....	97
6.7.3 Pengaruh hormon estrogen pada respons imun .....	99
6.7.4 Pengaruh LH pada respons imun .....	101
<b>BAB 7 PENUTUP</b> .....	<b>103</b>
7.1 Kesimpulan .....	103
7.2 Saran .....	104

DAFTAR PUSTAKA .....	105
LAMPIRAN .....	117

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Kadar testosteron dalam serum .....	20
Tabel 2.2 : Kadar LH dalam serum .....	21
Tabel 2.3 : Kadar FSH dalam serum .....	21
Tabel 2.4 : Konsentrasi hormon steroid pada jaringan prostat .....	22
Tabel 2.5 : Kadar testosteron dalam jaringan prostat .....	23
Tabel 2.6 : Kadar dihidrotestosteron dalam jaringan prostat .....	23
Tabel 2.7 : Kadar progesteron dalam jaringan .....	24
Tabel 2.8 : Kadar estradiol dalam jaringan prostat ..	24
Tabel 2.9 : Reseptor androgen pada kelenjar prostat .	25
Tabel 2.10: Reseptor estrogen pada kelenjar prostat .	26
Tabel 5.1 : Nilai rerata (nilai asli) dan simpang baku (SB) variabel .....	70
Tabel 5.2 : Hasil uji randomisasi .....	72
Tabel 5.3 : Nilai rerata dan simpang baku (SD) volume dan berat prostat .....	75
Tabel 5.4 : Perubahan rerata ( <i>post-pre</i> ) dan simpang baku (SD) kadar hormon .....	76



Tabel 5.5 : Perubahan rerata (*post-pre*) dan simpang baku (SD) kadar hormon serta nilai rerata dan simpang baku (SD) komponen prostat

Tabel 5.6 : Nilai rerata kelenjar dan perubahan rerata (*post-pre*) PSA ..... 79

Tabel 5.7 : Perubahan rerata (*post-pre*) dan simpang baku (SD) PSA ..... 80

Tabel 5.8 : Perubahan rerata (*post-pre*) dan simpang baku (SD) PSA dan respons imun ..... 81

Tabel 5.9 : Perubahan rerata (*post-pre*) dan simpang baku (SD) PSA dan respons imun ..... 82

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Zona anatomi prostat .....	8
Gambar 2.2 : Regulasi hormonal melalui as hipota- lamus-hipofisis-testis .....	13
Gambar 2.3 : Sekresi testosteron dan umur .....	14
Gambar 2.4 : Mekanisme kerja androgen .....	15
Gambar 2.5 : Metabolisme androgen pada kelenjar prostat .....	16
Gambar 2.6 : Interaksi epitel-stroma .....	31
Gambar 2.7 : Teori sel stem .....	34
Gambar 5.1: Grafik perubahan rerata APC, IgA, IgG, IgM, Rasio CD4/CD8 (RCD48) dan PSA .....	83
Gambar 5.2 : Grafik Pola Immunopatobiologik .....	85



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Cara Pembuatan Preparat Histologi dan Pewarnaan Imunoperoksidase ...	117
Lampiran 2: Pewarnaan Reseptor .....	125
Lampiran 3: Pemeriksaan Immunoglobulin Serum ..	128
Lampiran 4: <i>Flow Cytometry Technicon H-1</i> .....	129
Lampiran 5: Cara Pengukuran Limfosit T dan Subsetnya .....	130
Lampiran 6: Pemeriksaan LH .....	134
Lampiran 7: Pemeriksaan Estradiol..... ..	136
Lampiran 8: Pemeriksaan PSA .....	138
Lampiran 9: Analisis Statistik .....	140

**BAB 1****PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Sejak saat pubertas, akibat adanya hormon testosteron dalam tubuh, kelenjar prostat berkembang dengan baik bersama dengan bagian lain dari organ reproduksi pria (Ganong, 1993; Griffiths et al, 1996; Guyton, 1996). Besar kelenjar prostat praktis tidak berubah antara umur 20 tahun sampai 40 tahun. Konsentrasi hormon testosteron dalam darah cenderung menurun seiring dengan meningkatnya usia. Pada usia lanjut saat sekresi testosteron sudah berkurang, 'seharusnya' kelenjar prostat akan mengecil (atrofi), namun yang terjadi malah sebaliknya, yaitu terjadi pembesaran kelenjar prostat yang dikenal sebagai *benign prostatic hyperplasia* (BPH). Lima puluh persen dari pria yang berumur antara 40-50 tahun menderita BPH (Chandrasoma & Taylor, 1991; Barry et al, 1996). Keluhan penderita BPH adalah sukar buang air kecil karena kelenjar prostat yang mengalami hipertrofi ini menekan uretra (Ackermann, 1989; Guyton, 1996; Hald et al, 1996). Efek testosteron yang tampaknya paradoksal ini merupakan masalah yang menarik perhatian peneliti.

Saat ini patogenesis terjadinya pembesaran kelenjar prostat belum diketahui secara pasti (Ackermann, 1989; Cotran et al, 1989; Isaacs, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Griffiths et al, 1996). Karena ketidakjelasan patoge-

nesis ini, pengobatan BPH dilakukan berdasarkan sebatas pengetahuan yang ada. Saat ini pengobatan yang lazim dilakukan adalah prostatektomi dan reseksi transuretral (Ackermann, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Hald et al, 1996).

Dengan perkembangan ilmu dasar yang ada, baik biologi seluler, endokrinologi, imunologi maupun patobiologi yang melahirkan imunopatobiologi, para ilmuwan mulai mencoba mengungkapkan patogenesis pembesaran prostat ini.

Pada saat sekresi hormon tetosteron menurun pada usia lanjut, terjadi umpan balik yang negatif pada hipotalamus sehingga hipotalamus akan meningkatkan sekresi *luteinizing hormone - releasing hormone* (LH-RH) yang selanjutnya meningkatkan sekresi *Luteinizing hormone* (LH) oleh hipofisis anterior (Tenaglia & DiSilverio, 1989; Gill, 1995; Santen, 1995; Guyton, 1996). Jadi LH meningkat pada usia lanjut.

Reseptor androgen pada jaringan prostat yang membesar terdapat lebih banyak dari pada kelenjar prostat normal. Adanya reseptor estrogen tidak terdeteksi pada jaringan prostat yang membesar, misalnya pada BPH (Daxenbichler et al, 1982; Bartsch et al, 1987, 1989). Menurut Cotran et al (1989) dan Griffiths et al (1996) penurunan tetosteron dan peningkatan estrogen dalam plasma seiring dengan usia yang bertambah (baik secara absolut ataupun relatif), estrogen menjadikan prostat lebih sensitif terhadap dihidrotetosteron (DHT).

Kadar DHT pada jaringan BPH ternyata lebih tinggi dari pada jaringan prostat normal (Wenderoth et al, 1982; Bartsch et al, 1989; Griffiths et al, 1996). Kadar DHT yang meningkat ini disebabkan oleh meningkatnya aktivitas *5-alpha reductase* yang mengubah testosteron menjadi DHT (Romijn, 1989; Griffiths et al, 1996). Jadi ada dugaan kadar DHT yang tinggi pada jaringan prostat menjadi salah satu penyebab terjadinya BPH.

Estrogen dan testosteron dapat mempengaruhi respons imun tubuh dan kedua hormon ini umumnya bersifat immunosupresif (Michael & Chapman, 1990). Respons imun menyangkut banyak perubahan imunologik antara lain imunoglobulin, limfosit B, limfosit T, makrofag serta sel polimorfonuklear. *Prostate specific antigen* (PSA) yang merupakan suatu glikoprotein yang terdapat dalam sitoplasma sel epitel prostat pada penderita BPH juga meningkat (Zisman et al, 1995; Brawer, 1996; Sokoll & Chan, 1997). Keberadaan imunogen ini juga dapat mengubah respons imun tubuh.

Atas dasar ini maka BPH diduga disebabkan antara lain oleh peningkatan kadar LH dan estrogen yang meningkatkan komponen prostat (kelenjar, otot polos serta jaringan ikat) dan tak terlepas hubungannya dengan peningkatan PSA yang ada kaitannya dengan perubahan respons imun. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan kebenaran pemikiran deduktif tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah peningkatan kadar hormon estrogen dalam darah dapat meningkatkan komponen prostat (Reseptor androgen, sabut kolagen, elastik, retikuler, sel otot polos dan kelenjar) ?
2. Apakah peningkatan kadar LH dalam darah dapat meningkatkan komponen prostat ?
3. Apakah peningkatan PSA dapat menimbulkan perubahan respons imun di darah ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

1. Mengungkap patobiologik prostat pada peningkatan kadar hormon estrogen dan pada peningkatan kadar LH.
2. Mengungkap imunopatobiogenesis pada prostat pada peningkatan kadar hormon estrogen dan pada peningkatan kadar LH berdasarkan atas pola perubahan respons imun.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan ada perbedaan peningkatan kadar hormon estrogen dan kadar LH pada kelompok yang diberi hormon estrogen dan pada kelompok yang diberi LH.
2. Membuktikan peningkatan kadar hormon estrogen dan LH dapat menimbulkan perubahan komponen prostat.
3. Membuktikan peningkatan kadar PSA dapat menimbulkan perubahan respons imun.
4. Membuktikan perbedaan pola imunopatobiologik pada perubahan PSA.
5. Menjelaskan imunopatobiogenesis yang terjadi pada perubahan PSA.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Bila penelitian ini dapat mengungkapkan patobiogenesis peningkatan komponen prostat dan imunopatobiogenesis perubahan respons imun secara jelas, maka hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai salah satu dasar untuk menjelaskan

patogenesis BPH yang amat kompleks ini. Dengan demikian diharapkan pencegahan dan pengobatan BPH dapat dilakukan dengan lebih efektif dan rasional.

Mengingat bahwa insidens terjadinya BPH cukup besar (50% dari pria yang berumur diatas 40-50 tahun) dan gangguan yang diakibatkan amat menyusahakan penderita (sukar/tidak dapat buang air kecil), seyogyanya hal ini dapat dicegah. Penderitaan yang diakibatkan oleh BPH pada usia lanjut ini amat mengganggu, merugikan dan menurunkan produktivitas hidup penderita.

Diharapkan juga pengungkapan perubahan respons imun dalam penelitian ini dapat membantu penanganan yang terarah terhadap masalah respons imun dan gangguan hormonal yang dapat terjadi pada pria berusia lanjut.

**BAB 2****TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Anatomi, Histologi dan Faal Kelenjar Prostat**

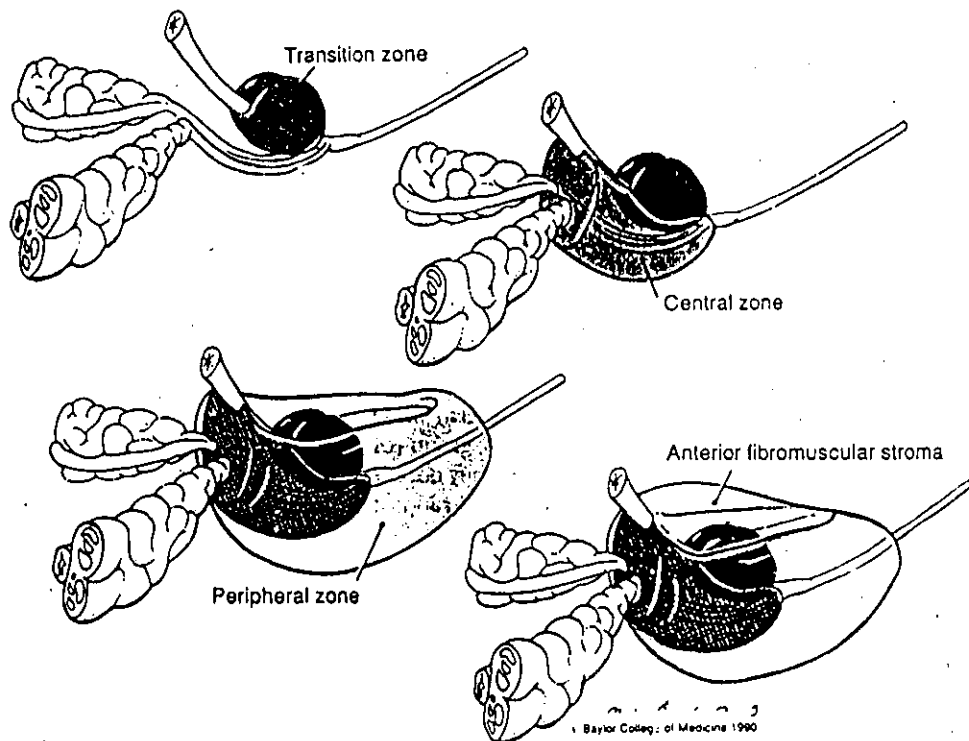
Kelenjar prostat merupakan bagian dari alat reproduksi pria, melekat dan menyelubungi bagian proksimal dari uretra. Kelenjar ini berfungsi untuk mensekresi cairan yang merupakan medium untuk spermatozoa dan dikeluarkan pada saat ejakulasi melalui saluran yang bermuara pada uretra. Sekret prostat bersifat agak alkalis dan mengandung ion sitrat, ion kalsium, ion fosfat, *clotting enzyme*, dan profibrinolysin. Sekret prostat berfungsi untuk menetralkan keasaman dari cairan vas deferens dan sekret vagina serta untuk mencairkan ejakulat yang kental (Ganong, 1993; Guyton, 1996).

Berat kelenjar prostat pada orang dewasa sekitar 20 g (Cotran et al, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Barry et al, 1996). Dalam perkembangan prostat, bentuk dan strukturnya menjadi tetap/definitif pada umur 20 tahun (Aumuller, 1989).

Berdasarkan penemuan embriologik, kelenjar prostat dapat dibagi dalam 5 lobus yaitu 1 lobus tengah, 2 lobus lateral, 1 lobus anterior dan 1 lobus posterior. Lobus anterior terdapat pada fetus dan atrofi tak lama setelah kelahiran (Cotran et al, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Coffey, 1992; Griffiths et al, 1996).



Dewasa ini konsep dengan struktur lobus sudah digantikan dengan konsep yang berdasarkan zona konsentrik. Kini prostat dibagi beberapa zona: *Anterior fibromuscular stroma, transition zone, peripheral zone and central zone* (Coffey, 1992; Hanks et al, 1993).



**Gambar 2.1:** Zona anatomi prostat (Hanks et al, 1993)

Secara histologis kelenjar prostat dibagi atas (Bartsch et al, 1989; Walsh, 1992):

#### 1. Bagian stroma

Jaringan ikat (sabut kolagen, elastik dan retikuler),

pembuluh darah, serat saraf dan serat otot polos.

## 2. Bagian kelenjar

Lamina dari acini dan sel epitel kelenjar.

Jadi kelenjar prostat merupakan kelenjar tubuloalveoler dengan stroma yang mengandung otot polos / stroma yang fibromuskuler (Maximow & Bloom, 1955; Cotran et al, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991).

### 2.2 Hipertrofi Prostat

Besar kelenjar prostat praktis tidak berubah antara umur 20 tahun sampai 40 tahun (Barry et al, 1996; Guyton, 1996). Lima puluh persen dari orang yang berumur lebih dari 40-50 tahun mengalami pembesaran (*benign prostatic hyperplasia*, BPH) yang menyebabkan menyempitnya uretra dan menimbulkan keluhan sukar membuang air kemih. Pada BPH berat prostat meningkat menjadi 60-100 g. Ada yang lebih dari 200 g (Cotran et al, 1989; Walsh, 1992).

Pada BPH didapatkan nodul yang secara patologi-anatomi merupakan elemen kelenjar yang hiperplastik serta otot pada stroma yang hiperplastik pula (Cotran et al, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991). Pada BPH pertumbuhan jaringan terutama oleh jaringan stroma (Bartsch et al, 1989; Hald et al, 1996).

Awal mula terjadinya pertumbuhan BPH adalah pada segmen

preprostatik yaitu segmen uretra proksimal dari veromontanum dimana terjadi perkembangan duktus (Aumuller, 1989; Cotran et al, 1989).

Pada bagian sentral (periuretral) yang lebih sensitif pada estrogen merupakan bagian yang sering mengalami proliferasi (BPH), sedangkan bagian perifer yang lebih sensitif pada androgen lebih sering terjadi carcinoma prostat (Chandrasoma & Taylor, 1991).

Nodul BPH lebih sering terjadi pada lobus tengah dan lateral sedangkan karsinoma prostat lebih sering terdapat pada lobus posterior (Cotran et al, 1989).

Gejala yang timbul akibat BPH antara lain: Sukar untuk buang air kemih, aliran kemih berkurang, sering buang air kemih terutama terasa sekali pada malam hari, air kemih menetes setelah selesai kencing, air kemih tak bisa keluar secara tuntas (masih ada sisa). Pada BPH yang lanjut dapat terjadi retensi urine dan akhirnya penderita tak dapat membuang air kemih (Cotran et al, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Guyton, 1996; Hald et al, 1996).

### 2.3 Insidens BPH

Frekuensi terjadinya BPH meningkat seiring dengan meningkatnya umur (Ackermann, 1989; Isaacs, 1989; Griffiths et al, 1996). Pada bedah mayat yang berumur 70 tahun ke atas secara histopatologis didapatkan insidens BPH sebesar 70 %

(Ackermann, 1989).

Insidens BPH adalah 20% pada umur 40 tahun, 70% pada umur 60 tahun dan 90% pada umur di atas 80 tahun. Tak lebih dari 5-10% yang perlu dilakukan operasi (Cotran et al, 1989; Barry et al, 1996).

Penelitian Chandrasoma & Taylor (1991) mendapatkan insidens BPH adalah 50% pada umur 40-50 tahun dan 95% pada umur di atas 70 tahun. Pada umumnya tak terdapat keluhan pada penderita.

Yang secara klinis nyata BPH hanya terdapat pada 5-10% pria di atas umur 60 tahun (Chandrasoma & Taylor, 1991; Hald et al, 1996).

#### 2.4 Patogenesis BPH

Etiologi BPH belum jelas (Ackermann, 1989; Cotran et al, 1989; Isaacs, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Griffiths et al, 1996).

Meskipun demikian, didapatkan beberapa faktor yang nyata:

##### 1. Ada faktor endokrin

Harus ada testis yang berfungsi. Belum jelas apakah sifatnya permisif atau berperan aktif. BPH tak terjadi bila seorang pria telah dikastrasi pre-pubertal (Walsh, 1992; Hald et al 1996).

## 2. Ada faktor penuaan (*aging*)

Insidens BPH meningkat dengan meningkatnya usia (Ackermann, 1989; Isaacs, 1989; Walsh, 1992; Hald et al 1996).

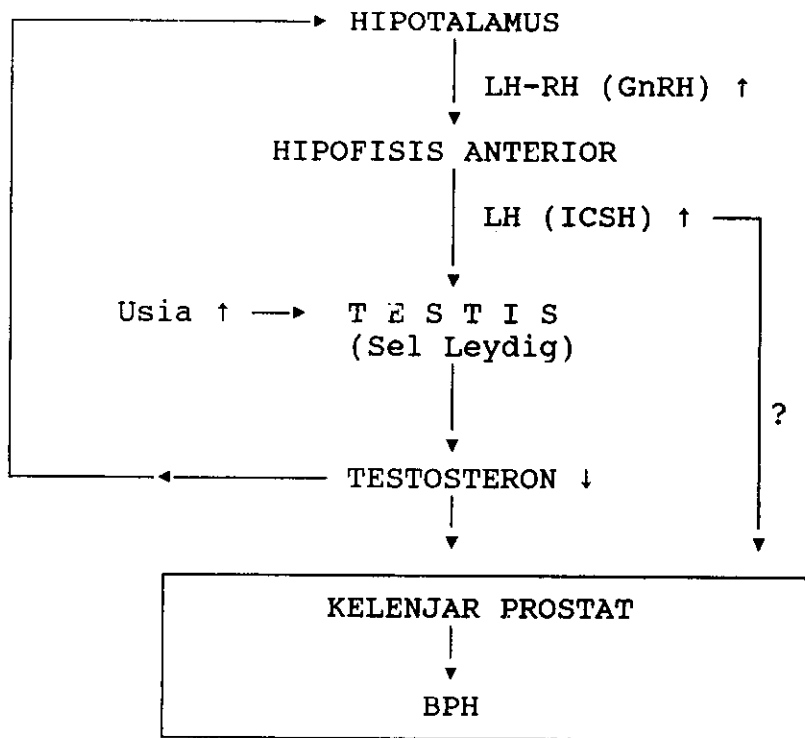
Diduga bahwa yang merangsang hiperplasia pada prostat adalah menurunnya konsentrasi androgen relatif terhadap estrogen (Chandrasoma & Taylor, 1991; Griffiths et al, 1996).

Bila androgen dilenyapkan, ukuran BPH akan mengecil, tapi bila kemudian diberi androgen dalam konsentrasi fisiologis, prostat tumbuh kembali pada ukurannya yang abnormal. Hal ini membuktikan bahwa bukan hanya faktor sistemik yang mempengaruhi terjadinya BPH (Isaacs, 1989).

### 2.5 Pengaruh Testosteron Pada BPH

Secara fisiologis hipotalamus mensekresi LH-RH (*Luteinizing hormone-Releasing hormone*) yang akan merangsang hipofisis anterior untuk mensekresi LH (*Luteinizing hormone*). Pada pria LH ini disebut juga sebagai ICSH (*Interstitial cell stimulating hormone*). LH akan merangsang sel-sel interstisial Leydig yang akan menghasilkan hormon testosteron. Bila kadar hormon testosteron berkurang seperti pada orang berusia lanjut akan terjadi mekanisme umpan balik yang negatif pada hipotalamus sehingga kadar LH-RH dan LH akan meningkat. Hormon testosteron dibuat juga di pars retiku-

laris korteks adrenal.



Gambar 2.2 : Regulasi hormonal melalui as hipotalamus-hipofisis-testis

Testosteron mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ seks termasuk kelenjar prostat. Pada usia lanjut sel-sel interstisial Leydig pada testis mengalami kemunduran sehingga kadar testosteron dalam plasma akan menurun yang akan meningkatkan sekresi LH-RH dan LH (ICSH) (Ganong, 1993; Gill, 1995; Santen, 1995; Guyton, 1996).

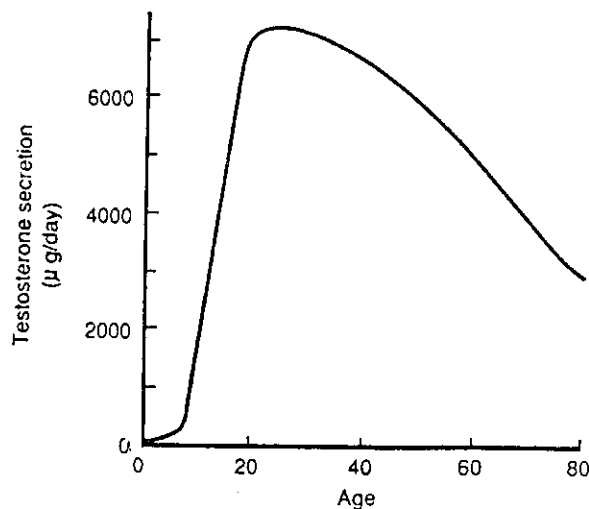
LH merupakan suatu glikoprotein dengan berat molekul 28.000. Pada pria LH disekresi dalam bentuk pulsasi (*pulse*) dengan frekuensi 12-14 kali / 24 jam. Sekresi LH berhenti

sama sekali pada periode antar pulsasi (Santen, 1995).

LH disekresi 2-4 menit setelah rangsangan *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) yang berpulsasi dengan interval 90-120 menit.

Terjadi efek yang paradoksal, yaitu sekresi LH akan berkurang bila GnRH atau analognya diberikan secara konstan selama 24-48 jam (Santen, 1995).

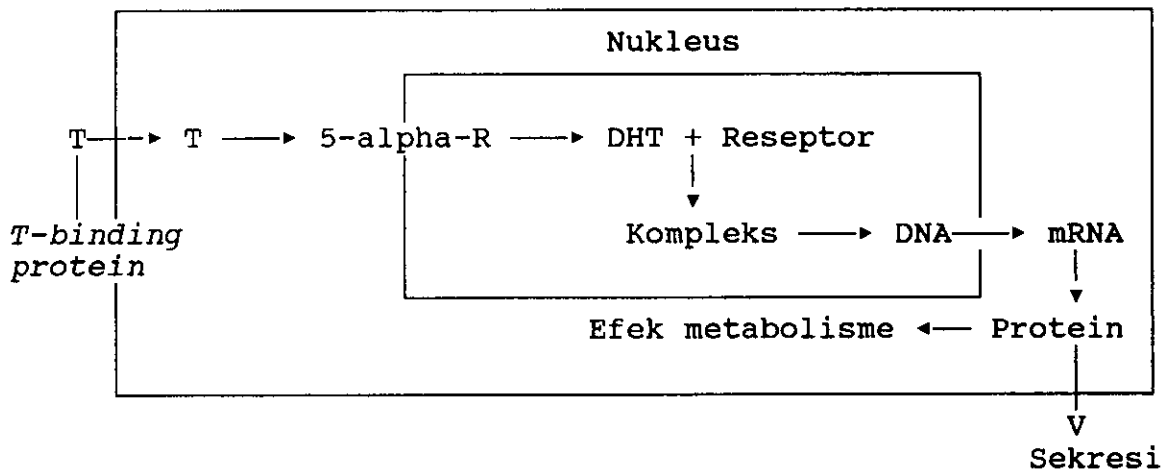
Ritme sekresi testosteron: Mencapai puncak konsentrasinya pada jam 4.00-8.00 pagi dan terendah pada jam 4.00-8.00 sore (Santen, 1995).



**Gambar 2.3:** Sekresi testosteron dan umur (Guyton, 1996)

### 2.5.1 Mekanisme kerja androgen

Menurut Romijn (1989) dan Griffiths et al (1996) testosteron (T) merupakan androgen utama dalam sirkulasi. T terikat (reversibel) dengan *steroid binding protein*, misalnya SHBG (*sex hormone binding globulin*).



Gambar 2.5 : Mekanisme kerja androgen

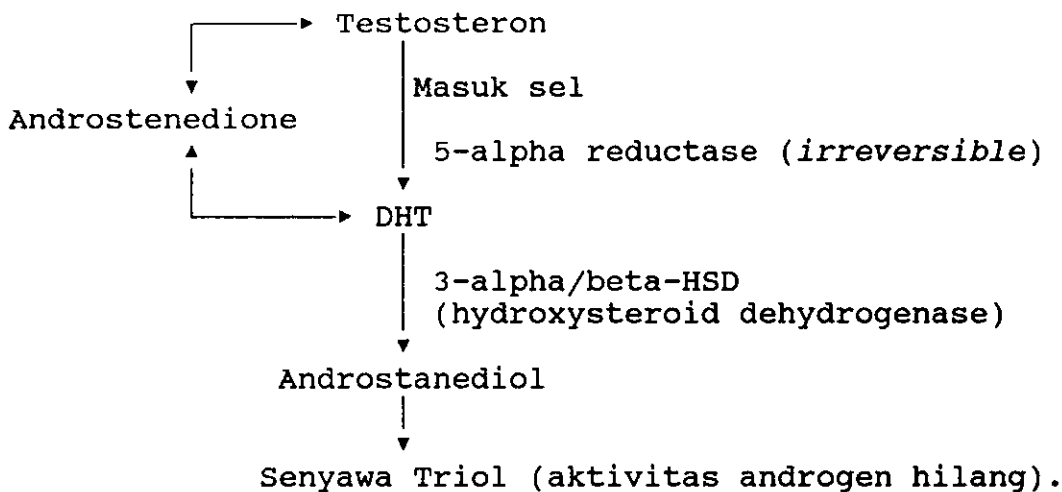
Testosteron secara pasif/difusi masuk ke dalam sel. Testosteron diubah menjadi DHT oleh *5-alpha-reduktase* yang terdapat pada membran nukleus. DHT berinteraksi dengan reseptor yang mempunyai afinitas yang tinggi sehingga molekul reseptor menjadi aktif.

Reseptor androgen terdapat dalam nukleus sel. Selanjutnya terjadi aktivasi DNA sehingga terbentuk RNA dan protein yang spesifik, sehingga terjadi efek metabolik dan respons proliferasi (Romijn, 1989; Duke et al, 1995).



Inhibisi 5- $\alpha$ -reduktase dengan 17-N,N-diethylcarbamoyl-4-methyl-4-aza-5- $\alpha$ -androstan-3-one (DMAA) (Finasteride) 3 mg/kg/hari selama 4 minggu pada anjing yang menderita BPH spontan menyebabkan turunnya berat prostat ( $22,9 \pm 3,3$ ) g menjadi ( $6,2 \pm 0,4$ ) g dan berkurangnya kadar DHT ( $3,8 \pm 0,8$ ) ng/g menjadi ( $0,6 \pm 0,4$ ) ng/g (Wenderoth et al, 1982).

### 2.5.2 Metabolisme androgen pada prostat



Gambar 2.5 : Metabolisme androgen pada kelenjar prostat

Peningkatan DHT memegang peranan penting dalam terjadinya BPH. Peningkatan DHT dipengaruhi oleh berbagai enzim. Testosteron masuk ke dalam sel dan oleh enzim 5- $\alpha$  reductase diubah menjadi DHT yang selanjutnya oleh enzim dehidrogenase diubah menjadi androstenediol dan kemudian menjadi

bahan triol yang tak mempunyai aktivitas androgen. Testosteron dan DHT bisa secara reversibel berasal dari androstenedione. Jadi penanganan BPH bisa dihubungkan dengan aktivitas enzimatik (Romyn, 1989).

DHT meningkat oleh karena aktivitas 5-alpha reductase meningkat. 5-alpha-reductase didapatkan lebih banyak di stroma dari pada epitel (Romijn, 1989; Gill, 1995; Griffiths et al, 1996).

## 2.6 Peranan Estrogen Pada BPH

Estrogen plasma meningkat sesuai dengan meningkatnya umur (Cotran et al, 1989; Romijn, 1989; Griffiths et al, 1996). Terdapat akumulasi estrogen pada jaringan BPH (lebih banyak di nu-kleus stroma dari pada di epitel). Berdasarkan hal ini diduga estrogen berperan pada terjadinya BPH (Bartsch et al, 1989; Romijn, 1989, Griffiths et al, 1996).

Pada kelenjar prostat yang normal terdapat reseptor untuk estrogen dan progesteron pada sitoplasma. Jadi ada kemungkinan hormon seks wanita ikut mempengaruhi perkembangan prostat (Cotran et al, 1989; Griffiths et al, 1996).

Pembentukan estrogen pada pria didapatkan dengan aromatisasi (dikatalisasi oleh aromatase) dari androstenedione menjadi estron dan dari testosteron menjadi estradiol. Dari kultur fibroblas BPH serta homogenat dari seluruh jaringan, terbukti ada produksi estrogen secara lokal. Pada homogenat

BPH ternyata tidak didapatkan aktivitas aromatase (Romijn, 1989).

Variasi yang normal dari androgen sistemik tidak mempengaruhi perkembangan BPH tetapi yang penting adalah perubahan kadar estrogen (Gann et al, 1995).

Obesitas abdominal pada pria meningkatkan rasio estrogen-androgen serta dapat meningkatkan aktivitas saraf simpatis. Kedua hal ini dapat mempengaruhi perkembangan BPH dan meningkatkan gejala obstruksi saluran kemih. Dengan demikian pria dengan obesitas abdominal cenderung menderita BPH. Estrogen dapat disintesis oleh jaringan lemak (Giovannucci et al, 1995).

Pada *guinea pig* konsentrasi 17-beta estradiol pada stroma prostat lebih tinggi dari pada dalam plasma darah. Jadi diasumsikan bahwa estrogen pegang peranan mengatur jaringan asesori seks pada pria serta fungsi otot polos (Bartsch et al, 1989).

Pada tikus estrogen dapat memperbesar prostat dan kelenjar periurethral (Bartsch et al, 1989).

Pada anjing aktivasi otot polos menginduksi pertumbuhan stroma (Bartsch et al, 1989).

Pada anjing yang dikastrasi, pemberian estrogen (2,5 mg estradiol benzoate 2 kali seminggu selama tiga minggu), terjadi pertumbuhan pada otot polos (volume meningkat pada endoplasmik retikulum, vacuole dan vesikel) (Bartsch et al, 1989).

## 2.8 Konsentrasi Steroid Dalam Serum

Terdapat variasi yang luas tentang konsentrasi steroid seks pada penderita BPH dibandingkan dengan orang normal (Bartsch et al, 1989).

Hasil pengukuran kadar hormon dalam berbagai penelitian memberikan hasil yang bervariasi sebab:

1. Sukar mendapatkan kontrol yang 'normal'. Insidens BPH meningkat dengan meningkatnya umur. Demikian pula kadar testosteron yang menurun. Sukar mendapatkan penderita BPH yang muda maupun non-BPH yang tua.
2. Tak diketahui kapan mulai terjadinya BPH. Pada saat keluhan muncul, sebenarnya BPH sudah mulai terjadi beberapa tahun sebelumnya.

Jadi dengan membandingkan status hormonal, kita harus berhati-hati untuk menarik kesimpulan dalam penelitian terjadinya BPH.

**Tabel 2.1:** Kadar testosteron dalam serum

	Pria Normal (ng/ml)	Pria dengan BPH (ng/ml)
Williams (1981)	7,00	
Ganong (1987)	6,50	
Miller & Tyrell (1995)	5,59	
Tenaglia & DiSilverio (1989)		3,22 (M:68,2 th.)

Pada Tabel 2.1 dengan hasil penelitian dari beberapa peneliti dapat dilihat adanya penurunan testosteron pada penderita BPH.

**Tabel 2.2:** Kadar LH dalam serum

	Pria Normal (m IU/ml)	Pria dengan BPH (m IU/ml)
Papapetrou (1982)	5,1 (<50 th)	
Papapetrou (1982)	8,1 (>50 th)	
Tenaglia & DiSilverio (1989)		10,32 (68,2 th)

Pada Tabel 2.2 tampak adanya peningkatan LH pada BPH. Hal ini dapat terjadi akibat umpan balik yang negatif dari testosteron yang menurun terhadap hipotalamus dan hipofisis anterior.

**Tabel 2.3:** Kadar FSH dalam serum

	Pria Normal (m IU/ml)	Pria dengan BPH (m IU/ml)
Papapetrou (1982)	4,8 (<50 th)	
Papapetrou (1982)	13,2 (>50 th)	
Tenaglia & DiSilverio (1989)		9,58 (68,2 th)

Pada Tabel 2.3 tampak bahwa FSH pada penderita BPH

meningkat dibandingkan dengan pria normal yang berumur kurang dari 50 tahun. Pada pria normal yang berumur lebih dari 50 tahun tampak FSH yang tinggi. Hal ini diakibatkan oleh rendahnya hormon inhibin yang disekresi oleh testis sehingga terjadi umpan balik yang negatif pada hipotalamus dan hipofisis anterior.

## 2.9 Konsentrasi Hormon Steroid Pada Jaringan Prostat

Tak terdapat perbedaan yang bermakna antara jaringan prostat pada penderita BPH dan jaringan prostat normal untuk kadar estron, estradiol dan estriol. Tetapi testosteron dan 5-alpha-DHT meningkat pada jaringan prostat penderita BPH (Bartsch et al, 1989) seperti tercantum pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4:** Konsentrasi hormon steroid pada jaringan prostat

Rata-rata umur (tahun)	Pria Normal (ng/g) 23 ± 2	Pria dengan BPH (ng/g) 71 ± 9
Testosteron	0,17 ± 0,03	0,69 ± 0,44
Dihydrotestosteron	2,50 ± 0,90	7,00 ± 2,90
Estron	0,14 ± 0,04	0,10 ± 0,03
Estradiol	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Estriol	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,01
Progesterone	0,061±0,005	0,059±0,022

Sebagai pembandingan atas apa yang diperoleh oleh Bartsch et al (1989) dengan peneliti lain, dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 2.5: Kadar testosteron dalam jaringan prostat**

	Prostat Normal (ng/g)	BPH (ng/g)
Wenderoth et al (1982)	0,25 ± 0,08	0,34 ± 0,06
Bartsch et al (1987)	0,25 ± 0,12	0,69 ± 0,44
Bartsch et al (1989)	0,17 ± 0,03	0,69 ± 0,44
Griffiths et al (1996)	-	0,23

**Tabel 2.6: Kadar dihidrotestosteron dalam jaringan prostat**

	Prostat Normal (ng/g)	BPH (ng/g)
Wenderoth et al (1982)	1,02 ± 0,47	4,24 ± 0,45
Bartsch et al (1987)	4,20 ± 0,70	7,00 ± 2,90
Bartsch et al (1989)	2,50 ± 0,90	7,00 ± 2,90
Griffiths et al (1996)	-	4,43

Pada Tabel 2.5 dan Tabel 2.6 Wenderoth et al (1982) dan Bartch (1987 dan 1989) juga mendapatkan kadar testosteron yang meningkat pada jaringan prostat penderita BPH.

**Tabel 2.7: Kadar progesteron dalam jaringan**

	Prostat Normal (ng/g)	BPH (ng/g)
Bartsch et al (1987)	0,058 ± 0,005	0,059 ± 0,022
Bartsch et al (1989)	0,061 ± 0,005	0,059 ± 0,022

Tidak terdapat perbedaan kadar progesteron pada jaringan prostat normal dibandingkan dengan jaringan prostat penderita BPH.

**Tabel 2.8: Kadar estradiol dalam jaringan prostat**

	Prostat Normal (ng/g)	BPH (ng/g)
Bartsch et al (1987)	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,02
Bartsch et al (1989)	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Griffiths et al (1996)	-	0,026

Pada penelitian Bartsch et al (1987 dan 1989) tidak didapatkan peningkatan hormon estradiol secara bermakna dalam jaringan prostat penderita BPH.

Kadar DHT pada jaringan BPH adalah 4 kali lebih tinggi dari pada jaringan prostat normal (Wenderoth et al, 1982).

DHT didapatkan lebih banyak pada area peri-uretral dimana BPH terjadi (Bartsch et al, 1989).

Pengukuran kadar DHT pada jaringan normal perlu mendapatkan perhatian, karena sering terjadi terlalu rendah hasilnya. Biasanya jaringan normal didapatkan dari autopsi.



Inkubasi jaringan prostat pada 37<sup>o</sup> C meskipun untuk waktu yang singkatpun (kurang dari 2 jam), kadar DHT sudah akan amat menurun (Bartsch et al 1989).

## 2.10 Reseptor Pada Prostat

Pada umumnya hormon mempunyai reseptor pada nukleus sel target. Reseptor ini merupakan suatu protein yang mempunyai titik tangkap (*binding site*) dengan afinitas yang tinggi terhadap hormon yang spesifik. Kompleks hormon-reseptor akan mengaktivasi DNA dan selanjutnya dengan proses transkripsi dan translasi terbentuk mRNA dan *growth factor* yang mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan sel (Darnell et al, 1986; Suryo, 1989; Duke et al, 1995; Griffiths et al, 1996)

Tabel 2.9: Reseptor androgen pada prostat

	Prostat Normal		B P H	
	Reseptor Sitoplasama (fmol/g)	Reseptor Nukleus (fmol/g)	Reseptor Sitoplasama (fmol/g)	Reseptor Nukleus (fmol/g)
Daxenbichler et al (1982)	2239 ± 353	185 ± 120	2251 ± 1698	826 ± 382
Bartsch et al (1987)	2192 ± 300	261 ± 226	2710 ± 1453	641 ± 440

Reseptor androgen pada jaringan meningkat pada penderita BPH (Bartsch et al, 1987).

Tabel 2.10: Reseptor estrogen pada prostat

	Prostat Normal		B P H	
	Reseptor Sitoplasama (fmol/g)	Reseptor Nukleus (fmol/g)	Reseptor Sitoplasama (fmol/g)	Reseptor Nukleus (fmol/g)
Daxenbichler et al (1982)	382 ± 367	Tak terdeteksi	Tak terdeteksi	Tak terdeteksi
Bartsch et al (1987)	433 ± 274	Tak terdeteksi	Tak terdeteksi	Tak terdeteksi

Reseptor estrogen tak terdeteksi pada jaringan prostat penderita BPH (Bartsch et al, 1987).

Jumlah reseptor androgen pada BPH lebih banyak dari pada jaringan prostat normal. Reseptor androgen terutama (bukan semuanya) terdapat pada nukleus epitel jaringan BPH (Bartsch et al, 1987; Romijn, 1989; Griffiths et al, 1996).

Peranan reseptor androgen pada BPH belum jelas. Yang jelas adanya reseptor androgen, dapat di-ekspresi efek androgenik (Romijn, 1989).

Jadi androgen dan mungkin estrogen, mungkin tersangkut pada etiologi BPH. Belum dapat disingkirkan bahwa hormon steroid berperan sebagai *permissive role* (Romijn, 1989).

Pada usia lanjut dimana testosteron menurun dan estrogen meningkat di dalam serum, estrogen mensensitifkan pertumbuhan prostat sebagai efek DHT (Cotran et al, 1989; Griffiths, 1996).

## 2.11 Pengaruh Kastrasi

Dibandingkan dengan prostat normal, pada kelenjar prostat anjing yang dikastrasi, ukuran otot polosnya berkurang/atrofi (G. Aumuller in Ackermann, 1989; Cotran et al, 1989). Tapi dengan pemberian 3 alpha-androstenediol (suatu androgen), otot polos yang atrofi menjadi normal kembali (Aumuller, 1989).

Pada hewan yang dikastrasi, pemberian estradiol menyebabkan otot polos prostat mengalami degenerasi lemak. Hal yang sama juga terjadi dengan pemberian androgen karena androgen praktis dimetabolisme menjadi estrogen oleh enzim aromatase (Aumuller, 1989).

Pada anjing yang dikastrasi, terjadinya BPH dapat diinduksi dengan androgen. Efeknya dapat dipercepat oleh 17-beta-estradiol. Jadi mungkin terdapat sinergisme antara androgen dan estrogen (Cotran et al, 1989; McConnell, 1996).

Kastrasi pada tikus jantan meningkatkan konsentrasi LH dalam serum 22 kali dan FSH 2,4 kali, dua minggu setelah kastrasi (Kitahara et al., 1990).

## 2.12 Peranan Otot Polos Prostat

*Prostatic Growth Factors* mengatur proliferasi sel. *Growth Factors* berasal dari otot polos prostat yang terdapat

dalam stroma (Aumuller, 1989; Griffiths et al, 1996).

Otot polos prostat mengandung *alpha-adrenoreceptor* dan di-inervasi oleh saraf adrenergik (Aumuller, 1989; Lepor, 1996).

Diduga bahwa perubahan situasi hormonal pada usia tua menyebabkan meningkatnya jumlah sel otot polos yang teraktifkan atau tersintesa. Hal ini mempengaruhi interaksi epitel dengan stroma dan mempengaruhi terjadinya BPH (Aumuller, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991).

Pada BPH pertumbuhan jaringan terutama oleh jaringan stroma. Ditemukan sel otot polos yang aktif yang mungkin memegang peranan dalam patogenesis terjadinya BPH. Dilihat dari ultrastrukturnya otot polos pada BPH terdapat peningkatan secara nyata jumlah endoplasmik retikulum, mitochondria serta Golgi apparatus (Bartsch et al, 1989).

Sel otot polos merupakan sel dengan multi fungsi yang dapat men-sintesa kolagen, elastin, myosin serta glycosaminoglycans. Pada BPH terdapat produksi kolagen yang berlebihan (Belum diketahui apakah merupakan penyebab atau akibat dari fungsi stroma). Pada anjing aktivasi otot polos menginduksi pertumbuhan stroma (Bartsch et al, 1989).

Mikroanatomi asesori organ seks pria termasuk prostat terdiri dari dua jaringan yaitu epitel dan otot polos. Kedua bagian ini dipisahkan oleh jaringan ikat atau lamina propria.

Pada BPH yang berkembang penuh didapatkan rasio 5:1

antara jaringan otot atau stroma fibromuskuler terhadap epitel. Pada jaringan prostat bagian ventral yang mengalami regresi pada tikus dewasa yang dikastrasi, terjadi peningkatan katan kolagen pada pemberian DHT (Mawhinney, 1989).



### 2.13 Sensitivitas Hormon Pada Jaringan Stroma Prostat.

Reseptor estrogen terdapat lebih banyak di sel stroma dari pada di sel epitel. Jadi 17-beta-estradiol memegang peranan penting merangsang pertumbuhan bagian stroma. Estrogen berada di atas androgen dalam mengatur fungsi bagian stroma.

Enzim *5-alpha reductase* (yang mempengaruhi pembentukan DHT) terutama berada di stroma dan aktivitasnya lebih banyak di stroma. Ternyata aktivitas *5-alpha reductase* pada BPH 3 kali lebih besar dibandingkan dengan stroma prostat normal. Jadi jaringan stroma sensitif terhadap estrogen maupun androgen (Bartsch et al, 1989; Griffiths et al, 1996).

Androgen merangsang fibroblas untuk memproduksi jaringan kolagen sehingga terjadi lipatan-lipatan yang diperlukan untuk pertumbuhan epitel. Kolagen dipecah oleh enzim kolagenolitik yang diproduksi oleh sel-sel kelenjar (Aumuller, 1989).

Metabolisme androgen bertanggung jawab terhadap terjadinya BPH spontan sebab menyangkut terbentuknya dihydrotestosteron pada jaringan BPH (Bartsch et al, 1989).

## 2.14 Teori Interaksi Epitel-Stroma Dalam Perkembangan BPH

Menurut Aumuller (1989) pada perkembangan BPH terdapat 3 buah faktor:

### 1. Faktor pertumbuhan:

SDGF (*Stromally Derived Growth Factor*)

EDGF (*Epithelially Derived Growth Factor*)

### 2. Faktor inhibisi:

EDIF (*Epithelially Derived Inhibiting Factor*).

Ketiga faktor tersebut bersama-sama memodulasi ekspresi gen dalam prostat selama perkembangan maupun fungsinya setelah dewasa.

Bila salah satu dari faktor pertumbuhan (SDGF atau EDGF) meningkat, struktur prostat menjadi hiperplastik.

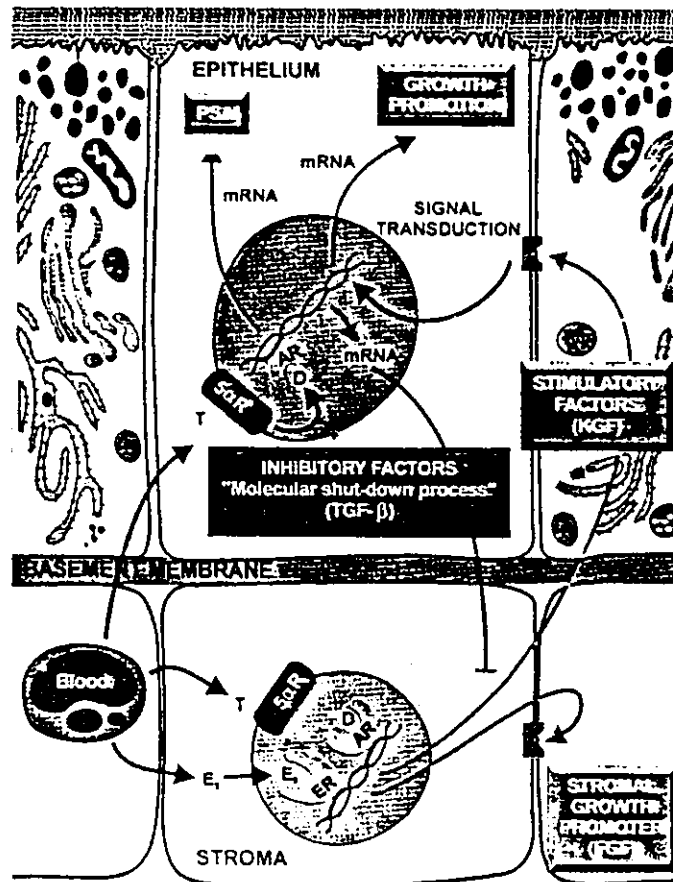
Bila SDGF meningkat, epitel menjadi hiperplastik.

Bila EDGF meningkat, stroma menjadi hiperplastik.

Bila testosteron meningkat, EDIF meningkat sedangkan SDGF menurun, ini mencegah replikasi kedua macam tipe sel (epitel dan stroma).

Pada hipotesis ini, sel stroma terutama otot polos, morfologi dan fungsinya stabil. Bila ada perubahan situasi hormonal, terjadi perubahan pada otot polos (Aumuller, 1989).

Secara lebih terperinci Griffiths et al (1996) menjelaskan pengaruh berbagai *growth factor* yang mempengaruhi pertumbuhan prostat (Gambar 2.6).



Gambar 2.6: Interaksi epitel-stroma (Griffiths et al, 1996)

DHT diperlukan untuk proliferasi sel prostat tetapi DHT tidak secara langsung mempengaruhi pertumbuhan jaringan. DHT mempengaruhi pembentukan faktor-faktor yang merangsang pertumbuhan seperti *epidermal growth factor* (EGF), *keratinocyte growth factor* (KGF) dan *insulin-like growth factor* (IGF) yang selanjutnya merangsang proliferasi sel prostat. Elemen stroma memegang peranan penting dalam mengatur fungsi dan pertumbuhan epitel. Reseptor androgen didapatkan pada bagian stroma dan epitel sedangkan reseptor estrogen terutama terdapat pada bagian stroma.

Pada awal pertumbuhan prostat (masa pubertas sampai umur 20 tahun) *stromally derived growth factor* (SDGF) memegang peranan yang penting untuk pertumbuhan epitel dan sistem duktusnya pada prostat. Bila ukuran dewasa telah tercapai terjadi proses homeostasis dengan terbentuknya *growth inhibitory factor* seperti *transforming growth factor-beta* (TGF-beta) yang menghambat proliferasi sel epitel agar tidak tumbuh terus.

Jadi pertumbuhan prostat tergantung pada keseimbangan antara *growth stimulatory factor* dan *growth inhibitory factor*. Terjadinya BPH dapat diakibatkan oleh terlalu aktifnya *growth stimulatory factor* dan berkurangnya efek TGF-beta.

Untuk pertumbuhan stroma, *fibroblast growth factor* (FGF) yang berperan. DHT dan estradiol bersifat sinergistik merangsang dan memperkuat efek FGF. Hal ini juga perlu



dipertimbangkan dalam menelusuri patogenesis BPH.

Gleason et al (1993) menjelaskan bahwa pada jaringan yang mengalami inflamasi terjadi pelepasan *platelet derived growth factor*. Terjadinya BPH bisa juga melalui mekanisme ini.

#### 2.15 Teori *Stem Cells* Pada BPH

Menurut Isaacs (1989) bila dilakukan kastrasi pada saat lahir, tak terjadi pertumbuhan prostat. Bila kastrasi dilakukan setelah dewasa, prostat akan mengecil.

Jadi androgen diperlukan pada fase pertumbuhan prostat dan juga pada fase pemeliharaan (*maintenance*) dimana proliferasi sel sama dengan jumlah sel yang mati.

Androgen diperlukan secara kontinyu untuk merangsang stimulasi sel serta menghambat derajat kematian sel. Androgen lebih banyak berperan pada hambatannya pada kematian sel.

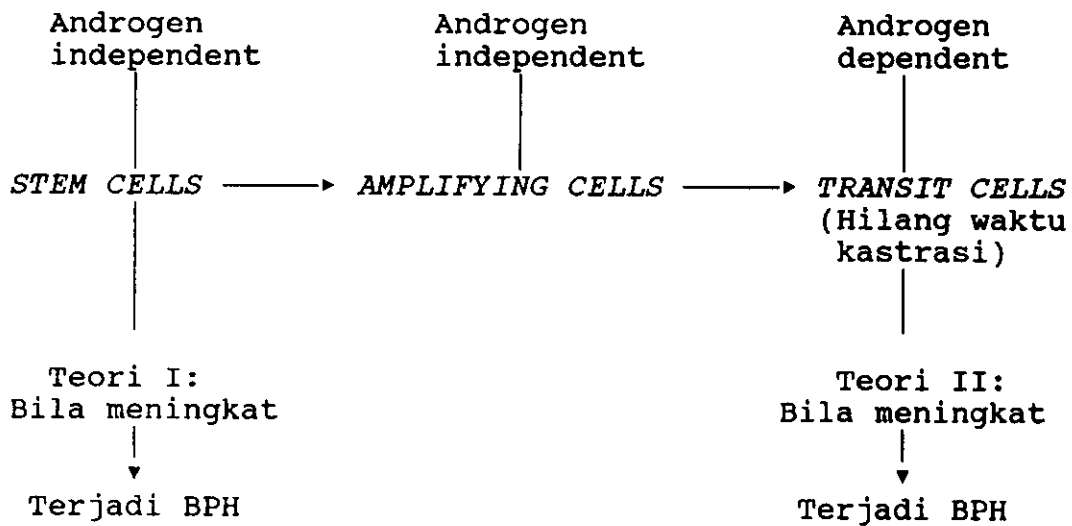
Hal ini terbukti bahwa bila dilakukan kastrasi ukuran prostat akan mengecil dan berhenti pada suatu keadaan.

Jadi sel prostat terdiri dari 2 macam sel:

1. *Androgen dependent cells* (Mati setelah kastrasi).
2. *Androgen independent cells* (Bertahan setelah kastrasi).

Pada tikus yang dikastrasi, pemberian testosteron hingga konsentrasinya dalam serum 2 kali dari konsentrasi

testosteron tikus yang tak dikastrasi, jumlah sel prostat yang terbentuk tak akan melebihi jumlah sel pada tikus yang intak.



Gambar 2.7: Teori Stem Cells

Jumlah sel prostat tak akan melebihi jumlah sel dalam batas kritisnya dan testosteron tak dapat menginduksi pertumbuhan sel prostat hingga di atas normal. Yang mengatur batas tertinggi kandungan sel pada suatu jaringan adalah jumlah *self-renewing stem cells* yang terdapat pada jaringan tersebut.

Pada awalnya *stem cells* sensitif pada androgen, tapi bila telah terbentuk semua, menjadi independen terhadap androgen.

Jadi BPH secara teoritis bisa diakibatkan oleh mening-

katnya *stem cells* atau sel transit.

Tercapainya jumlah maksimal *stem cells* pada:

1. Tikus : Umur 50 hari
2. Anjing : Umur 2 tahun

Bila dilakukan pemberian androgen sebelum tercapainya jumlah maksimal *stem cells* pada tikus, *stem cells* berproliferasi lebih cepat, tapi tak akan melebihi jumlah *stem cells* yang maksimal.

Pada anjing pemberian androgen dan sedikit estradiol, terjadi pertumbuhan prostat yang berlebihan (BPH).

Pada manusia belum diketahui.

Pada kastrasi, prostat (yang normal maupun yang hipertrofi) akan mengalami involusi dan akan mengalami restorasi kembali setelah pemberian androgen. Proses restorasi berjalan lebih cepat dari pada proses involusi.

Pada anjing pemberian androgen dosis tinggi meningkatkan semua tingkat sel (*stem cells*, *amplifying* dan *transit cells*).

Pada manusia penelitian dengan BPH yang di-involusikan dengan LH-RH, fase restorasinya 3 kali lebih cepat dari pada fase involusinya.

Pada BPH yang terjadi spontan, terjadi peningkatan ketiga macam sel (*stem cells*, *amplifying cells* dan *transit cells*).

BPH pada anjing dan manusia, tak mungkin hanya *stem cells* nya saja yang meningkat, sebab bila *stem cells* saja

yang meningkat, harus terdapat fenotip yang sama antara BPH dan prostat normal. Nyatanya terdapat perbedaan biokimia yang menyangkut metabolisme androgen, reseptor androgen, derajat metilasi tempat cytosine dalam DNA, *secretory protein* (misalnya asam fosfatase).

Dibandingkan dengan prostat normal, pada BPH *stem cells* meningkat dan ratio antara *stem cells*, *amplifying* dan *transit cells* berbeda.

### 2.16 Prostate Specific Antigen (PSA)

*Prostate specific antigen* (PSA) merupakan suatu glikoprotein yang banyak terdapat dalam sitoplasma sel epitel prostat. Dalam keadaan normal kadar PSA rendah dan meningkat pada adenokarsinoma prostat dan BPH. Nilai normal PSA adalah 0-4 ng/ml (Brawer, 1991).

Pada mulanya dikira PSA merupakan bahan yang spesifik pada prostat dan hanya terdapat pada kaum pria. Tetapi ternyata didapatkan juga pada wanita. PSA bisa ditemukan pada kelenjar peri-uretral pada pria dan wanita, kelenjar pada anus, kelenjar keringat, kanker payudara serta dalam air susu ibu (Diamandis & Yu, 1997; Sokoll & Chan, 1997).

PSA terdapat pada prostat yang normal, BPH dan kanker prostat.

PSA merupakan protease yang diproduksi oleh sel epitel

kelenjar prostat (Zisman et al, 1995).

PSA disekresi ke dalam lumen saluran prostat secara eksositosis dan akan mencapai serum dengan difusi ke dalam kapiler atau melalui saluran limfe (Sokoll & Chan, 1997).

Berat molekul PSA antara 26.000-34.000 tergantung dari cara analisis yang dipakai (Sokoll & Chan, 1997).

PSA disekresikan kedalam cairan seminal dan berfungsi untuk mencairkannya. Ekspresi gen PSA meningkat pada pubertas dan menurun bila androgen dihilangkan. Ekspresi PSA distimulasi oleh androgen. PSA disebut sebagai *marker* yang spesifik untuk epitel prostat baik yang normal maupun yang malignan (Hanks et al, 1993; Montie & Meyers, 1997; Sokoll & Chan, 1997).

Perubahan PSA dan *PSA velocity* ada hubungannya dengan pertumbuhan / jumlah epitel kelenjar prostat. Jadi evaluasi kadar PSA berguna untuk mengevaluasi hasil pengobatan BPH (Cadedu et al, 1995).

Kanker prostat dapat meningkatkan kadar PSA serum, tetapi hanya 34 % dari penderita yang mengalami peningkatan ini. Jadi ada faktor-faktor yang lain yang ikut berperan dalam peningkatan PSA.

Manipulasi kelenjar prostat termasuk pemijatan, USG transrektal dan biopsi dapat menginduksi peningkatan kadar PSA untuk sementara. Pada BPH, prostatitis dan batu prostat terjadi juga peningkatan kadar PSA. Pembesaran prostat (peningkatan volume prostat) dan inflamasi pada prostat

merupakan dua faktor terpenting yang menyangkut peningkatan kadar PSA pada pria yang secara klinis tak menderita kanker prostat (Nadler et al, 1995).

PSA dapat mempengaruhi meningkatnya pertumbuhan sel dengan mempengaruhi *insulin-like growth factor* (IGF) (Sokoll & Chan, 1997).

### 2.17 BPH Pada Hewan

Pada studi perbandingan prostat tikus dan anjing didapatkan bahwa pada anjing, dengan meningkatnya usia dapat terjadi BPH spontan. BPH bisa diinduksi dengan androgen. Pada tikus tak bisa terjadi BPH spontan dan tak dapat diinduksi secara eksperimental (Isaacs, 1989).

Pada mammalia hanya manusia dan anjing diketahui yang dapat menderita BPH secara spontan (Cotran et al, 1989; Walsh, 1992).

### 2.18 Respons Imun

Respons imun merupakan respons tubuh terhadap imunogen, yang dibentuk oleh serangkaian proses yang kompleks. Respons imun yang timbul dapat berupa respons seluler dan humoral. Pengaturan respons ini dilakukan oleh *immune response gene* (*Ir-gene*), yang berada di lokus *major histocompatibility complex* (MHC) (Roitt et al, 1989; Putra, 1993, 1997).

Imunogen yang masuk ke dalam tubuh akan mendapat perlawanan dari ketahanan tubuh alami (*innate immunity*) yang tidak spesifik dan ketahanan tubuh adaptif (*adaptive immunity*) yang spesifik. Bila ketahanan tubuh alami tidak dapat mengatasi imunogen tersebut, maka perlawanan dilanjutkan oleh ketahanan tubuh adaptif. Kedua bentuk ketahanan ini saling memperkuat untuk menjaga homeostasis sistem dalam tubuh. Imunogen ini akan menyebabkan reaksi inflamasi non imunogenik, yang lebih banyak diperankan oleh fagosit. Antigen yang telah dihancurkan oleh fagosit, pada umumnya menjadi fragmen-fragmen yang merupakan antigen dengan epitop yang baik. Dengan demikian fagosit juga melakukan fagositosis imunogenik atau lebih tepat dikatakan fagosit memproses antigen yang menghasilkan epitop antigen yang baik. Antigen yang telah diproses oleh fagosit ini ditampilkan dipermukaan fagosit bersama dengan molekul MHC, yang selanjutnya dikenal oleh limfosit T (Kresno, 1984; Stites et al, 1987; Bratawidjaja, 1988; Roitt et al, 1989; Putra, 1993; Subowo, 1993; Putra, 1997).

Estrogen dan testosteron dapat mempengaruhi respons imun tubuh. Kedua-duanya umumnya bersifat immunosupresif (Michael & Chapman, 1990).

*Prostate specific antigen* (PSA) merupakan suatu glikoprotein yang terdapat terutama dalam sitoplasma sel-sel epitel prostat (Brawer, 1991, 1996; Sokoll & Chan, 1997).

PSA dengan berat molekul yang besar (26.000-34.000) dapat mempengaruhi respons imun tubuh.

Mekanisme efektor imun, antara lain (Terr, 1991):

1. Netralisasi sisi toksik dari bakteri atau bahan kimia, sehingga mencegah kerusakan yang ditimbulkan sisi toksik tersebut.
2. Sitotoksisitas, aktivitas ini dilakukan melalui *complement induced lysis* atau *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC).
3. *Cytostimulation*, autoantibodi mengaktifkan reseptor sel tubuh sehingga metabolisme sel meningkat.
4. Inflamasi imunologik, yaitu reaksi dari limfosit T atau antibodi dengan antigennya yang mampu menyebabkan penambahan sel radang dan mediator kimia. Reaksi inflamasi imunologik ini meliputi CMI (*cell mediated immunity*), *immune complex*, *IgE Immediate phase*, dan *cutaneous basophil hypersensitivity*.

### 2.18.1 Respons imunologik seluler

Respons ini berupa proliferasi dan diferensiasi populasi sel yang dikenal sebagai limfosit T. Limfosit T ini berubah menjadi sel-sel yang dapat menghancurkan antigen secara langsung atau dengan cara mengeluarkan limfokin. Sel ini disebut sel T-efektor (T-sitotoksik). Disamping itu



populasi limfosit ini dapat juga berubah menjadi sel-sel yang mengatur produksi antibodi oleh sel B atau sel plasma dan juga mengatur aktivitas sel efektor. Sel-sel ini disebut limfosit T-penolong (*helper, Th*) dan limfosit T-penekan (*suppressor, Ts*).

CD4 yaitu sel Th (*T-helper*)

CD8 yaitu sel Tc/s (*T-cytotoxic/suppressor*).

Sel Th dapat dibedakan pula atas sel Th1, Th2 dan Th0. Sel Th1 menyangkut *the phagocytic-dependent host response*, mengaktifkan makrofag dan ada hubungannya dengan reaksi hipersensitivitas (*delayed type hypersensitivity, DTH*). Sel Th2 menyangkut *the phagocytic-independent host response* dan berperan kuat terhadap respons pembentukan antibodi. Sel Th0 belum jelas, mungkin mewakili berbagai populasi dari sel efektor (Romagnani, 1996, 1997).

Estrogen dapat menghambat perkembangan sel T di dalam timus. Hal ini tak terjadi pada pemberian progesteron (Rijhsinghani et al, 1996).

### 2.18.2 Respons imunologik humoral

Respons ini berupa perubahan populasi limfosit B menjadi sel plasma yang dapat melepaskan antibodi ke dalam darah dan berikatan dengan antigen yang masuk dan membentuk kompleks yang mengaktifasi komplemen. Akibatnya adalah pengh-

curan kompleks tersebut.

Kelompok limfosit yang tidak tergolong limfosit T maupun B, yaitu kelompok sel *null*, akan berikatan dengan antibodi yang melapisi permukaan sel sasaran kemudian menghancurkan sel tersebut.

### 2.18.3 Antibodi

Antibodi adalah imunoglobulin (Ig) yang merupakan golongan protein yang dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen. Antibodi yang terbentuk secara spesifik ini akan mengikat antigen baru lainnya yang sejenis.

**Jenis imunoglobulin:**

#### a. Imunoglobulin G (IgG)

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum dan merupakan 75% dari semua imunoglobulin. IgG terdapat dalam berbagai cairan tubuh termasuk cairan serebrospinal dan urin. IgG dapat menembus plasenta. IgG juga berperan pada imunitas seluler karena dapat merusak antigen seluler melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik *killer cell* (sel K), eosinofil atau

neutrofil. Sel K merupakan efektor dari *antibody dependent cellular cytotoxicity cell* (ADCC). ADCC tidak hanya merusak sel tunggal tetapi juga mikroorganisme multiseluler seperti telur skistosoma. Peranan efektor ADCC ini penting pada penghancuran kanker, penolakan transplan dan penyakit autoimun. Kadar IgG meningkat pada infeksi kronik dan penyakit autoimun.

#### **b. Immunoglobulin A (IgA)**

IgA ditemukan dalam jumlah sedikit dalam serum, tetapi kadarnya tinggi dalam cairan sekresi saluran nafas, saluran cerna, saluran kemih, air mata, keringat, ludah dan air susu dalam bentuk IgA sekretori (sIgA). IgA dapat menetralkan toksin atau virus dan mencegah terjadinya kontak antara toksin atau virus dengan sel sasaran. Kadar IgA yang tinggi dalam serum didapatkan pada infeksi kronik saluran nafas dan cerna, seperti tuberkulosis, sirosis alkoholik dan kolitis ulseratif.

#### **c. Immunoglobulin M (IgM)**

Kebanyakan sel B mengandung IgM pada permukaannya sebagai reseptor antigen. IgM dibentuk paling dahulu pada respons imun primer dibanding dengan IgG, karena itu kadar IgM yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini.

#### d. **Imunoglobulin D (IgD)**

IgD didapatkan dalam kadar yang sangat rendah dalam sirkulasi. Fungsi utama IgD belum diketahui benar, tapi diketahui bahwa IgD mempunyai aktivitas antibodi terhadap beberapa jenis antigen, misalnya insulin, penisilin, toksoid difteri, antigen nukleus dan antigen tiroid.

#### e. **Imunoglobulin E (IgE)**

IgE didapatkan dalam serum dalam jumlah yang amat sedikit. IgE dibentuk setempat oleh sel plasma dalam selaput lendir saluran nafas dan cerna. Kadar IgE yang tinggi didapatkan pada alergi, infeksi cacing, skistosomiasis, trikinosis dan diduga berperan pada imunitas parasit. IgE pada alergi dikenal sebagai antibodi reagin.

#### **2.18.4 Autoimunitas dan BPH**

Menurut Baker (1991) terdapat 2 faktor utama dalam perkembangan autoimunitas pada manusia yaitu:

1. Terdapatnya ekspresi *human leucocyte antigen* (HLA) yang tak semestinya. Autoimunitas biasanya dimulai oleh adanya proses inflamasi yang biasanya disebabkan oleh infeksi.
2. Tersangkutnya *anti-idiotypic antibodies*.

Etiologi BPH belum jelas. Mengingat adanya organ lain yang mengalami hiperplasia seperti kelenjar tiroid (penyakit Graves), timus (myasthenia gravis) dan gangguan limfoid pada paru merupakan proses autoimunitas, Zisman et al (1995) melakukan penelitian tentang kemungkinan adanya proses autoimunitas ini pada BPH. Ternyata didapatkan peningkatan IgG anti PSA pada BPH. Proses pembentukan autoantibodi perlu dipertimbangkan sebagai salah satu rantai dalam patogenesis BPH yang multikompleks ini.

### **2.19 Faktor Genetik dan BPH**

Pada penelitian yang dilakukan pada keluarga penderita BPH yang telah dioperasi (prostatektomi) ternyata mereka yang ada hubungan keluarga dengan penderita BPH mempunyai risiko akan menderita BPH 4 kali dibandingkan dengan kelompok kontrol. Bagi saudara kandung penderita tersebut risiko ini meningkat menjadi 6 kali. Jadi terdapat kemungkinan adanya gen yang mempunyai predisposisi untuk terjadinya BPH yang lebih awal. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut (Sanda et al, 1994).

### **2.20 Pengobatan BPH**

Pengobatan yang lazim dilakukan dewasa ini adalah prostatektomi dan diseksi transurethral (Chandrasoma &

Taylor, 1991).

Cara pengobatan lain yang pernah dicoba antara lain:

1. Dengan ablasi androgen:
  - a. Secara operasi (kastrasi).
  - b. Dengan pemberian LH-RH agonis (Buserelin) sehingga reseptor LH di hipofisis anterior menjadi jenuh dan *exhausted* (Schroder et al, 1989; McConnell, 1996).
  - c. Dengan pemberian estrogen yang akan menghambat LH-RH di hipotalamus dan selanjutnya menekan sekresi LH di hipofisis anterior. Rendahnya LH akan mengurangi sekresi testosteron oleh testis (Rochani, 1993).
2. Dengan anti androgen (Cyproterone acetate) dan anti estrogen (Tamoxifen) (Tenaglia & DiSilverio, 1989; McConnell, 1996).
3. Dengan aromatase *inhibitor* (Testolactone) dengan dasar pertimbangan bahwa aromatase inhibitor menghambat aktivitas aromatase dalam mengubah testosteron menjadi estradiol (Tunn et al., 1989; McConnell, 1996).
4. Dengan pengobatan non-hormonal yang konservatif antara lain Antagonis kalsium, *alpha-adrenergic blocker* serta obat penurun kolesterol (Dreikorn, 1989; Lepor, 1996).

## 2.21 Menentukan Umur Monyet Dengan Gigi

Dilakukan penelusuran literatur tentang hubungan antara umur monyet dan susunan giginya karena pada penelitian ini monyet (*Macaca fascicularis*) dipakai sebagai hewan coba.

Susunan gigi susu monyet adalah 2-1-2 (incisivus, caninus, dan molar). Incisivus muncul pada umur 6 minggu, caninus dan molar 1 pada umur 12-14 minggu sedangkan molar 2 pada umur 23-24 minggu.

Susunan gigi permanen monyet adalah 2-1-2-3 (incisivus, caninus, premolar dan molar). Jumlah seluruhnya 32 buah seperti pada manusia (Marshall, 1965).

Munculnya gigi permanen (Schultz, 1965):

Incisivus 1 dan 2	: Umur 31-38 bulan.
Caninus	: Umur 46-49 bulan.
Premolar 1 dan 2	: Umur 46-49 bulan.
Molar 1	: Umur 16-24 bulan.
Molar 2	: Umur 42 bulan.
Molar 3	: Umur 79-90 bulan.

Spermatozoa mulai diproduksi pada umur 41 bulan.

Desensus testis menjadi permanen setelah monyet berumur 5,5 tahun (Schultz, 1965).

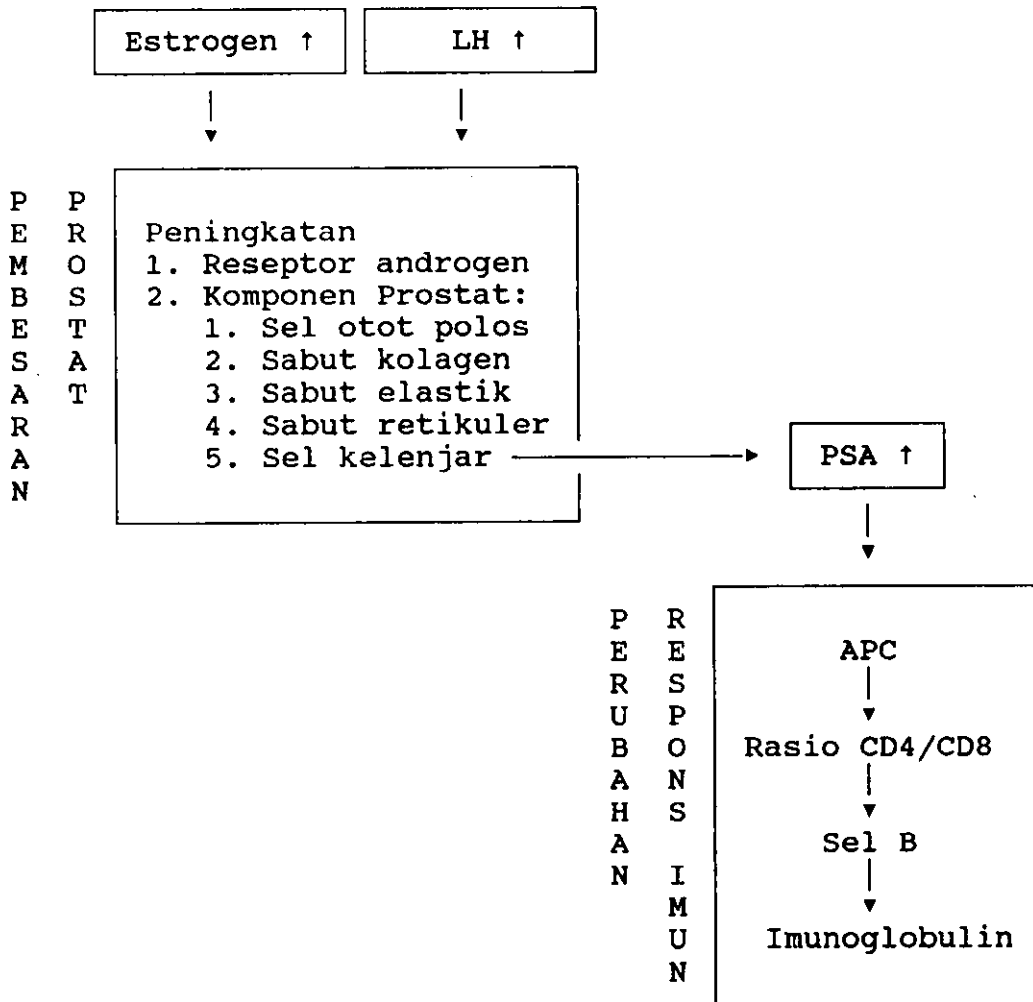
Monyet jantan dewasa muda yang gigi permanennya sudah tumbuh semua kecuali molar 3 dengan komposisi gigi 2-1-2-2 (28 buah gigi) berumur antara 46-79 bulan. Pada umur ini organ reproduksi sudah berfungsi mengingat bahwa spermatozoa mulai diproduksi pada umur 41 bulan.



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:

- LH = *Luteinizing hormone*
- PSA = *Prostate specific antigen*
- APC = *Antigen presenting cells*
- CD4 = *Sel Th, T-helper*
- CD8 = *Sel Tc/s, T-cytotoxic/suppressor*

Pada usia lanjut kadar testosteron darah menurun. Hal ini menyebabkan terjadi mekanisme umpan balik yang negatif pada hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga LH meningkat. Testosteron yang rendah juga menyebabkan kadar estrogen menjadi relatif tinggi dibandingkan dengan kadar testosteron.

Untuk mendapatkan keadaan seperti di atas, dilakukan penelitian dengan membuat model pada hewan coba, dengan pemberian estrogen dan LH.

Penelitian dilakukan berdasarkan konsep patobiologik dan imunopatobiologik. Konsep patobiologik untuk mengungkap pengaruh peningkatan kadar estrogen dan peningkatan kadar LH pada komponen prostat (kelenjar, otot polos dan jaringan ikat) dan PSA. Konsep imunopatobiologik untuk mengungkap hubungan peningkatan PSA dengan perubahan respons imun.

Pada pemberian estrogen dan pada pemberian LH terjadi peningkatan reseptor androgen dan komponen prostat (otot polos, kelenjar, sabut kolagen, elastik dan retikuler) serta diiringi oleh peningkatan PSA (*Prostate Specific Antigen*) yang diproduksi oleh epitel kelenjar prostat.

PSA sebagai imunogen dapat mempengaruhi respons imun berupa perubahan APC (*antigen presenting cells*) dan subset limfosit T yaitu sel Th (*T-helper*, CD4) dan sel Tc/s (*T-cytotoxic/suppressor*, CD8). Pengaruh subset limfosit T dinyatakan dengan rasio CD4/CD8. Limfosit T mempengaruhi

aktivitas limfosit B yang akan menjadi sel plasma yang selanjutnya memproduksi imunoglobulin.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

1. Peningkatan kadar hormon estrogen dalam darah dapat meningkatkan komponen prostat (Reseptor androgen, sabut kolagen, elastik, retikuler, sel otot polos dan kelenjar).
2. Peningkatan kadar LH dalam darah dapat meningkatkan komponen prostat.
3. Peningkatan PSA dapat menimbulkan perubahan respons imun di darah.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni dengan rancangan penelitian *THE PRETEST-POSTTEST CONTROL GROUP DESIGN*.

Dasar pertimbangannya adalah karena memenuhi kriteria:

1. Ada perlakuan: Semua unit eksperimen pada kelompoknya mendapatkan perlakuan yang sama.
2. Randomisasi: Hewan coba secara random dibagi dalam kelompok-kelompok, sehingga masing-masing unit eksperimen diketahui mendapat kesempatan yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
3. Terdapat kelompok kontrol / perlakuan banding.

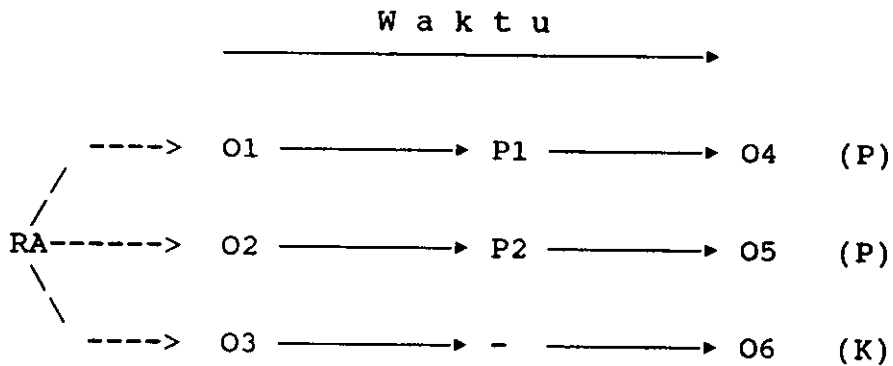
#### 4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

##### a. Populasi

Populasi yang dipakai pada penelitian ini adalah monyet jantan (*Macaca fascicularis*) dewasa muda. Sinonimnya adalah: Monyet pemakan ketam (*Crab eating macaque*),

monyet ekor panjang, *bedes* (Jatim), *kethek* (Jateng), *kunyuk* (Sunda).

Sampel diambil secara purposif dari populasinya dan secara random dimasukkan dalam kelompok-kelompok.



Keterangan:

RA = *Random allocation*

P1 - P2 = Perlakuan yang diberikan pada unit eksperimen

O1 - O6 = Pengukuran pada unit eksperimen

K = Kelompok kontrol

P = Kelompok dengan perlakuan

#### b. Sampel

Unit sampel adalah monyet jantan (*Macaca fascicularis*) dewasa muda. Dipilih monyet jantan yang gigi permanennya sudah tumbuh semua kecuali molar 3. Komposisi giginya adalah 2-1-2-2 (28 buah gigi). Monyet ini berumur antara 46-79 bulan. Pada umur ini organ reproduksi sudah berfungsi meng-

ingat bahwa spermatozoa mulai diproduksi pada umur 41 bulan (Marshall, 1965; Schultz, 1965).

Dipilih hewan coba dengan berat badan sekitar 7,5 kg.

### c. Besar Sampel (*Sample Size*)

Menurut Higgins dan Klinbaum (1985), besar sampel dihitung berdasarkan rumus:

$$n = \frac{1}{1 - f} \times \frac{2 (Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2}$$

Xc = Nipura kelompok kontrol

Xt = Nipura kelompok eksperimen (yang diperkirakan)

Sc = Simpang baku kontrol

f = Proporsi yang gagal

$\alpha$  = Tingkat kemaknaan (Kesalahan tipe I)

Setelah  $\alpha$  (alpha) ditentukan, dihitung  $Z\alpha$  yang dapat dibaca dari tabel distribusi normal.

$\beta$  = Kesalahan tipe II. Setelah ditentukan dihitung  $Z\beta$  dari tabel distribusi normal.

Berdasarkan data penelitian Strobl et al (1989):

$$\begin{array}{llll} Xc = 0,54 & Xt = 0,65 & Sc = 0,08 & f = 0,02 \\ \alpha = 0,05 & Z\alpha = 1,96 & & \\ \beta = 0,10 & Z\beta = 1,28 & & \end{array}$$

Berdasarkan rumus tersebut di atas, didapatkan  $n = 12$ .  
Dibulatkan menjadi 12.

Dalam penelitian ini dipakai 12 hewan coba untuk masing-masing kelompok.



#### d. Unit Analisis

Sebagai unit analisis adalah darah dan kelenjar prostat hewan coba.

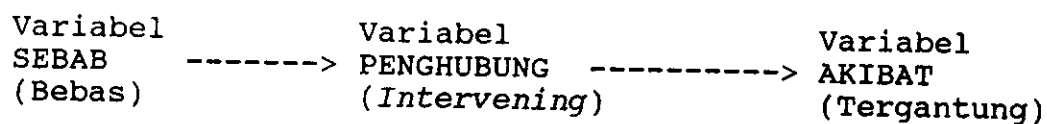
Pada sampel darah diperiksa estradiol, *luteinizing hormone* (LH), kadar IgA, IgG, IgM, *prostate specific antigen* (PSA), sel leukosit, sel limfosit dan subset nya (CD4, CD8).

Pemeriksaan dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan.

Besar kelenjar prostat dimonitor dengan ultrasonografi (USG).

Setelah otopsi, jaringan prostat ditimbang dan diukur volumenya. Dengan pembuatan preparat histologi dan teknik pewarnaan khusus, dianalisis kepadatan reseptor androgen, jaringan otot polos, sabut kolagen, sabut elastik, sabut retikuler dan kelenjar.

### 4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional



Semua variabel dinyatakan dalam skala rasio.

Penggolongan variabel tergantung pada tahap analisis statistik yang dipakai:

#### 1. Variabel bebas:

1. Kadar estrogen dalam serum.
2. Kadar LH dalam serum.
3. Kadar PSA dalam serum.

#### 2. Variabel tergantung:

1. Otot polos pada prostat.
2. Kelenjar pada prostat.
3. Sabut kolagen pada prostat.
4. Sabut elastik pada prostat.
5. Sabut retikuler pada prostat.

Otot polos, kelenjar, sabut kolagen, retikuler, elastik dan otot polos: Jumlah kotak dalam gratikule yang terisi per lapangan pandang mikroskop.

6. Reseptor androgen pada prostat.
7. AFC (*Antigen Presenting Cells*) dalam darah yang mencakup eosinofil, basofil, neutrofil dan monosit.



8. IgA dalam serum.
9. IgG dalam serum.
10. IgM dalam serum.
11. Rasio CD4/CD8 dalam darah.

Pada analisis diskriminan, variabel APC, IgA, IgG, IgM dan rasio CD4/CD8 berkedudukan sebagai variabel bebas.

3. **Variabel penghubung (*Intervening*):** Merupakan variabel antara, proses terjadinya hipertrofi prostat di dalam kelenjar prostat, antara lain peningkatan jumlah reseptor hormon, proliferasi jaringan stroma dan epitel.
3. **Variabel random:** Variabel yang diabaikan.
  1. Asal-usul hewan coba.
  2. Pernah tidaknya terjadi infeksi pada alat reproduksi.
4. **Variabel kendali:** Variabel yang terkontrol.
  1. Umur yang sama.
  2. Species yang sama.
  3. Makanan dan suasana lingkungan yang sama.

#### 4.4 Bahan dan Materi Penelitian

Sebagai bahan penelitian dipakai hewan coba yaitu monyet jantan (*Macaca fascicularis*) dewasa muda.

#### 4.5 Bahan dan Alat

1. Obat-obatan :

Estradiol

LH

2. Reagensia dan bahan laboratorium :

Estradiol Kit

LH Kit

PSA Kit

Kit untuk memeriksa Limfosit dan subsetnya.

Kit pemeriksaan reseptor dengan metode Avidin-Biotin.

3. *Disposable tube* untuk RIA, *foil aluminium*, kertas saring.

4. Spektrofotometer.

5. Mikroskop.

6. Alat suntik, pipet, *dry ice* dan perlengkapan laboratorium lainnya.

Pemeriksaan sampel darah dilakukan pada Laboratorium Makmal Endokrinologi RSUD Dr. Soetomo, Laboratorium Klinik Prodia dan Laboratorium *Tropical Disease Research Center* (TDRC) Fakultas Kedokteran Unair. Pemeriksaan histologis dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Unair. Pewarnaan imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Patologi RS Pusat Pertamina Jakarta. Pemeriksaan ultrasonografi (USG) dilakukan di Klinik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Unair.

## 4.6 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

### 4.6.1 Penelitian Pendahuluan

Sebelum penelitian yang sesungguhnya dilaksanakan, dilakukan lebih dahulu penelitian pendahuluan untuk mengetahui apakah tindakan perlakuan hormonal memang dapat meningkatkan ukuran kelenjar prostat dan kapan kira-kira penelitian ini dapat diakhiri.

Untuk ini dipakai 2 ekor hewan coba. Seekor hewan coba diberi estradiol dan yang lainnya diberi LH. Ternyata setelah 1 bulan, dengan pemeriksaan USG diketahui ada peningkatan ukuran kelenjar prostat. Lebih nyata lagi setelah 2 bulan.

Setelah ini barulah penelitian yang sesungguhnya dilaksanakan.

### 4.6.2 Pemeliharaan Hewan Coba

#### Kandang

Hewan coba ditempatkan dalam kandang yang terbuat dari kerangka besi siku berlubang dan dinding yang terbuat dari kawat kandang ayam. Setiap hewan coba ditempatkan dalam masing-masing kandang tersendiri.

Ukuran kandang: Lantai berukuran 50 cm x 80 cm dan

tinggi 80 cm. Pembuatan kandang ini disesuaikan dengan petunjuk Smith & Mangkoewidjaja (1988) agar kandang monyet sebaiknya mempunyai luas lantai minimal  $0,4 \text{ m}^2$  dan tinggi 77-80 cm.

Pada kandang terdapat sebuah pintu yang dapat dikunci. Dinding belakang kandang berlapis dua. Lapisan bagian dalam dapat digeser dan diberi tangkai pendorong. Dinding ini dipakai untuk menjepit hewan coba saat akan diberi perlakuan (disuntik) atau pada saat akan dianestesi untuk pemeriksaan ultrasonografi (USG). Jadi kandang hewan coba merupakan 'kandang jepit'.

Di dalam masing-masing kandang disediakan sebuah botol yang diikat erat sebagai tempat minum. Pada bagian bawah kandang (bagian luar) ditempatkan wadah untuk menampung kotoran hewan coba.

Disediakan juga kandang-kandang kecil berukuran lantai 30 cm x 30 cm dan tinggi 50 cm untuk pengangkutan ke Klinik Hewan untuk pemeriksaan USG.

### **Pemberian Makanan**

Sesuai dengan nasihat yang diperoleh dari Kepala Bagian Dapur Kebun Binatang Surabaya, setiap hewan coba diberi jatah makanan per hari sebagai berikut:

1. Pisang 20 buah (1 1/2 sisir, sekitar 0,75 kg)
2. Pepaya 1 potong 200 g.

3. Sawo 1 buah 35 g.
4. Timun 1 potong 55 g.
5. Telur ayam 1/2 butir.
6. Kangkung 1 ikat kecil.

Monyet membutuhkan konsumsi enersi 45-50 kal/kg/hari (Smith & Mangkoewidjaja, 1988).

#### 4.6.3 Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba dikelompokkan ke dalam 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 12 ekor hewan coba:

1. Kelompok 1 : Kelompok perlakuan dengan estradiol.
2. Kelompok 2 : Kelompok perlakuan dengan LH.
3. Kelompok 3 : Kelompok kontrol.

Sebelum penelitian dilakukan, semua hewan coba dibiarkan beradaptasi dengan tempat, suasana lingkungan dan makanan yang diberikan. Masa adaptasi minimal selama 2 minggu.

Pada awal penelitian dilakukan:

1. Penimbangan berat badan.
2. Pengambilan darah awal.

Darah vena setiap hewan coba diambil (2 kali dengan selang waktu 1 jam) dan ditempatkan dalam 2 tabung:

- a. 10 ml dalam tabung tanpa anti koagulan, disentrifusi dan diambil serumnya.
  - b. 1 ml dalam tabung dengan EDTA untuk pemeriksaan darah lengkap.
3. Dengan ultrasonografi (USG) dilakukan pemeriksaan ukuran kelenjar prostat: Penampang kranio-kaudal, penampang transversal dan penampang anterior posterior.

### **Pemberian Perlakuan**

#### **1. Kelompok 1 (Kelompok perlakuan dengan estradiol)**

Pada kelompok ini diberi suntikan dengan estadiol valerate (10 mg/ml) dalam bentuk larutan minyak. Pada setiap hewan coba diberikan suntikan 0,08 ml (0,8 mg) / kg berat badan secara intramuskuler 2 minggu sekali.

Pemberian dosis ini berdasarkan pertimbangan bahwa dosis estadiol valerate pada manusia dengan berat badan sekitar 50 kg adalah 1 ml (10 mg) dua minggu sekali (0,02 ml/kg berat badan). Jadi pemberiannya pada hewan coba (0,08 ml/kg berat badan) merupakan dosis yang ditingkatkan untuk dapat memberikan efek yang lebih cepat.

Mengingat hewan coba Kelompok 2 mendapatkan suntikan 3 kali seminggu sedangkan Kelompok 1 hanya 2 minggu sekali, maka agar terdapat perlakuan yang sama pada semua kelompok hewan coba, maka hewan coba Kelompok 1 juga diberikan suntikan tambahan dalam bentuk plasebo berupa larutan

fisiologik sehingga jumlah total suntikan adalah 3 kali seminggu.

## 2. Kelompok 2 (Kelompok perlakuan dengan LH)

Pada kelompok ini diberi suntikan dengan LH (75 IU/ml). Pada setiap hewan coba diberikan suntikan 0,04 ml (3 IU) LH/kg berat badan secara intramuskuler 3 kali seminggu. Pemberian dosis ini berdasarkan pertimbangan bahwa dosis LH pada manusia dengan berat badan sekitar 50 kg adalah 1 ml (75 IU) dua minggu sekali (0,02 ml/kg berat badan). Jadi pemberiannya pada hewan coba (0,04 ml/kg berat badan) merupakan dosis yang ditingkatkan untuk dapat memberikan efek yang lebih cepat.

## 3. Kelompok 3 (Kelompok Kontrol)

Agar setiap hewan coba mendapatkan perlakuan yang sama dengan kelompok yang lain, maka hewan coba kelompok 3 juga diberikan suntikan plasebo berupa larutan garam fisiologik sehingga jumlah total suntikan adalah 3 kali seminggu secara intramuskuler.

## Akhir Perlakuan

Setelah perlakuan diberikan selama 4 bulan, penelitian ini diakhiri dengan melakukan penimbangan, pengambilan sampel darah, pemeriksaan USG seperti yang dilakukan pada

awal penelitian. Selanjutnya dilakukan eutanasi pada hewan coba.

### **Pelaksanaan Eutanasi dan Preparasi Prostat**

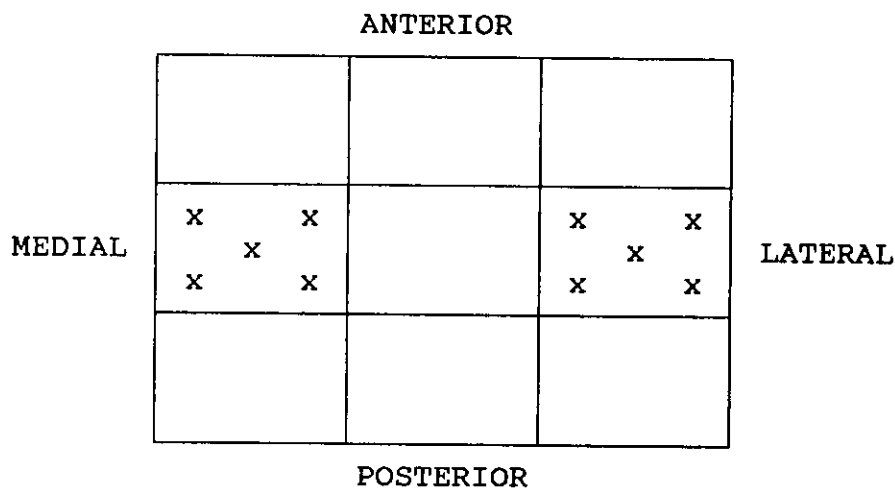
1. Hewan coba dianestesi dengan suntikan pentobarbital 30 mg/kg berat badan secara intramuskuler.
2. Dilakukan prostatektomi.
3. Hewan coba di-eutanasi dengan penyuntikan pentobarbital 50 mg/kg berat badan (Smith, 1965; Smith & Mangkoewidjaja, 1988).
4. Kelenjar prostat dipreparasi dan ditimbang.
5. Ukuran prostat: Diukur penampang kranio-kaudal, transversal dan anterior-posterior, serta tebal prostat bagian kanan dan kiri.
6. Volume prostat diukur dengan memasukkannya ke dalam gelas beker 50 ml yang diletakkan dalam posisi miring dan penuh berisi larutan garam fisiologik. Volume cairan yang tumpah dari gelas beker ditampung dan diukur.
7. Prostat yang telah dikeluarkan dipotong menjadi dua bagian yang simetris kanan dan kiri secara longitudinal dengan pisau (*cutter*) yang tajam. Prostat yang sebelah dibungkus dengan *foil* aluminium dan dibekukan pada temperatur  $-80^{\circ}\text{C}$ . Bagian ini dipersiapkan untuk pemeriksaan imunohistokimia. Bagian lainnya difiksasi dalam larutan formalin 10 % untuk pembuatan sediaan histologik.



Terhadap prostat hewan coba yang pertama, bagian kiri dibekukan dan bagian kanan dimasukkan dalam larutan formalin. Untuk prostat hewan coba berikutnya, bagian kanan dibekukan dan bagian kiri dimasukkan dalam larutan formalin. Demikian selanjutnya secara silih berganti.

8. Bagian prostat yang difiksasi dengan formalin dipotong lagi menjadi dua bagian yang simetris secara transversal. Pada penampang transversal inilah dilakukan pemotongan dengan mikrotom untuk pembuatan sediaan histologik. Pada sediaan histologik dilakukan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*), MA (*Mallory Azan*), VvG (*Verhoeff van Giesen*), D-PAS (*Diastase - Periodic Acid Schiff*) dan Impregnasi Perak (*Gridley's reticulum stain*).

Penghitungan kepadatan jaringan dilakukan pada bagian lateral dan medial prostat, masing-masing pada 5 lapangan pandang mikroskop dengan pembesaran 100 kali dan diambil nilai rerata.



Pada setiap lapangan pandang dilakukan perhitungan dengan *gratikule*. Dari hasil sediaan histologi ini dilakukan perhitungan kepadatan kelenjar, otot polos, sabut kolagen, retikuler dan elastik dengan menghitung jumlah kotak dalam *gratikule* yang terisi.

9. Pada bagian prostat yang dibekukan dilakukan pembuatan sediaan histologis dan dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk mendeteksi sel-sel yang mengandung reseptor androgen. Pada setiap lapangan pandang mikroskop dengan pembesaran 100 kali, dengan *gratikule* dihitung jumlah sel yang mengandung reseptor androgen.

#### 4.7 Analisis Data

Data dianalisis dengan *multivariate analysis / multivariate tests of significance*.

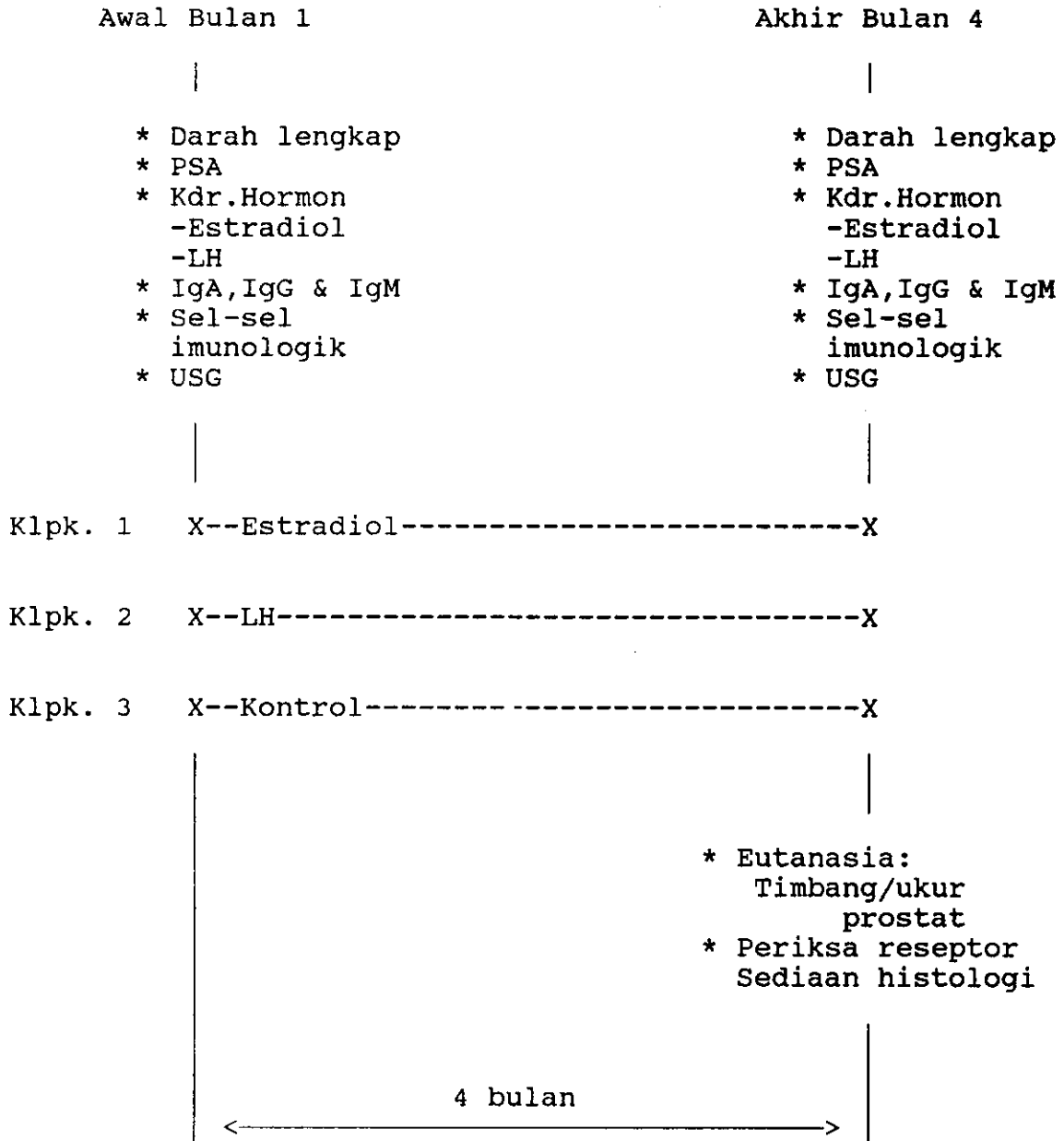
Dasar pertimbangan :

1. Hewan coba terbagi atas kelompok-kelompok.
2. Efek perlakuan *pre* dan *post* dalam setiap kelompok.
3. Harus diuji statistik hubungan efek perlakuan yang satu dengan efek perlakuan lainnya antar kelompok.

**Tahapan analisis:**

1. Uji homogenitas untuk menguji apakah sampel berasal dari populasi yang homogen.
2. Uji randomisasi/normalitas *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah data pada penelitian ini masih menunjukkan distribusi yang normal.
3. Uji manova untuk membuktikan ada perbedaan peningkatan kadar hormon estrogen dan kadar LH pada kelompok yang diberi hormon estrogen dan pada kelompok yang diberi LH.
4. Uji multi-regresi untuk membuktikan peningkatan kadar hormon estrogen dan LH dapat menimbulkan perubahan komponen prostat.
5. Uji regresi untuk analisis perubahan kelenjar pada prostat terhadap perubahan pada PSA.
6. Uji anova untuk analisis perbedaan perubahan kadar PSA pada kelompok 1 dan 2.
7. Uji regresi untuk membuktikan peningkatan kadar PSA dapat menimbulkan perubahan respons imun.
8. Analisis diskriminan untuk menguji dan menentukan variabel respons imun yang merupakan variabel pembeda yang kuat.
9. Pembuatan pola imunopatobiologik dan penafsirannya.

Bagan Penelitian



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Deskripsi Subyek Penelitian

Sebagai hewan coba adalah monyet (*Macaca fascicularis*) jantan dewasa muda.

Berdasarkan atas kriteria hewan coba dan besar sampel yang telah ditetapkan, telah dilakukan pengamatan variabel terhadap 36 ekor hewan coba yang terbagi atas 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 12 ekor:

1. Kelompok 1: Diberi estrogen.
2. Kelompok 2: Diberi LH.
3. Kelompok 3: Kontrol.

## 5.2 Nilai rerata dan simpang baku (SB) variabel

Tabel 5.1: Nilai rerata dan simpang baku (SB) variabel komponen serum dan prostat

## KOMPONEN SERUM

Variabel	Satuan	Kelompok 1		Kelompok 2		Kelompok 3	
		Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
Estr-Pre	pg/ml	25.717	10.531	21.673	9.658	15.742	4.309
Estr-Post	pg/ml	1169.042	658.032	9.707	6.010	15.675	4.266
LH- Pre	mIU/ml	0.151	0.174	0.167	0.212	0.053	0.046
LH- Post	mIU/ml	0.036	0.033	0.760	0.751	0.059	0.049
PSA- Pre	ng/ml	1.388	0.277	1.778	0.381	1.752	0.416
PSA- Post	ng/ml	1.701	0.346	1.856	0.355	1.827	0.404
IgA- Pre	mg/dl	88.167	37.419	77.083	29.106	62.250	28.166
IgA- Post	mg/dl	60.500	36.296	74.500	26.449	68.417	29.895
IgG- Pre	mg/dl	849.000	12.173	823.917	13.433	807.500	20.883
IgG- Post	mg/dl	824.667	18.188	830.000	10.054	822.917	22.625
IgM- Pre	mg/dl	157.083	45.965	123.917	26.366	125.500	29.337
IgM- Post	mg/dl	117.417	30.228	126.167	23.178	125.250	35.945
APC- Pre	*	2.426	1.147	2.558	1.255	4.126	1.449
APC- Post	*	3.222	1.028	3.979	1.398	2.976	1.342
CD4- Pre	**	0.558	0.040	0.569	0.079	0.554	0.044
CD4- Post	**	0.351	0.078	0.504	0.092	0.545	0.065
CD8- Pre	**	0.302	0.029	0.312	0.051	0.299	0.020
CD8- Post	**	0.202	0.041	0.257	0.042	0.293	0.037
CD48-Pre	***	1.856	0.097	1.834	0.087	1.852	0.059
CD48-Post	***	1.739	0.187	1.975	0.305	1.862	0.118

## KOMPONEN PROSTAT

Variabel	Satuan	Kelompok 1		Kelompok 2		Kelompok 3	
		Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
Vol.pros	ml	2.338	0.429	1.692	0.282	1.416	0.428
Brt.pros	g	2.505	0.452	1.833	0.257	1.519	0.443
R.Andr-A	****	1184.333	228.246	1174.500	211.322	922.167	142.455
R.Andr-B	****	1196.250	255.876	1245.333	186.281	995.500	135.419
Kelenj-A	*****	37.983	3.215	32.208	2.070	27.117	3.077
Kelenj-B	*****	40.292	3.477	34.367	2.256	29.683	3.540
Kolag -A	*****	11.792	2.596	10.817	3.129	8.000	1.090
Kolag -B	*****	10.583	2.935	9.392	1.960	7.092	0.774
Retik -A	*****	5.767	0.653	5.808	0.848	4.033	0.705
Retik -B	*****	5.942	0.895	5.725	1.160	3.767	0.996
Elast -A	*****	2.975	0.588	3.142	0.342	2.650	0.476
Elast -B	*****	2.992	0.920	3.267	0.462	2.492	0.494
Otot -A	*****	24.317	5.023	20.908	3.044	15.908	1.561
Otot -B	*****	21.942	5.208	18.092	4.283	13.400	1.805

A = Bagian tepi prostat  
B = Bagian medial prostat

## Keterangan:

- \* ) APC: Jumlah sel APC per lapangan pandang mikroskop.
- \*\* ) CD4, CD8: Ratio jumlah sel terhadap jumlah limfosit.
- \*\*\* ) CD48 : Ratio CD4/CD8
- \*\*\*\* ) Reseptor Androgen: Jumlah reseptor per lapangan pandang mikroskop.
- \*\*\*\*\* ) Kelenjar, sabut kolagen, retikuler, elastik, otot polos: Jumlah kotak dalam gratikule yang terisi per lapangan pandang mikroskop.

### 5.3 Hasil Uji Homogenitas

Karena data yang diperoleh akan dilakukan analisis statistik dengan menggunakan *Multivariate Tests of Significance* maka terhadap data yang diperoleh dilakukan terlebih dahulu uji homogenitas dengan menggunakan uji *IIDN (Independently and Identically Distributed in Normal Distribution)* yang meliputi uji normalitas, uji independen dan uji identik (Box, 1978).

Tabel 5.2: Hasil uji normalitas

Variabel	Significance level
CD4	0.922943
CD8	0.328674
IgA	0.497118
IgG	0.957535
IgM	0.267830
Estrogen	0.116006
LH	0.055666
PSA	0.216715
Monosit	0.084543
Eosinofil	0.009423
Basofil	0.328008
Neutrofil	0.363865
Res. Androgen	0.693269
Kelenjar	0.997284
Kolagen	0.358659
Retikuler	0.358854
Elastik	0.369747
Otot polos	0.235276

Hasil uji ini ternyata menunjukkan adanya normalitas, terdapatnya korelasi antar-sampel dan identik.

Data dan grafik selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9.



#### 5.4 Hasil Uji Perbedaan Variabel Pada Bagian Perifer dan Medial Kelenjar Prostat

Pada sediaan histologi prostat dilakukan pengamatan dan penghitungan variabel reseptor androgen dan komponen prostat (kelenjar, otot polos, sabut kolagen, retikuler dan elastik) pada bagian tepi (perifer) dan bagian tengah (medial) prostat.

Karena pengamatan dilakukan pada prostat diambil pada 2 posisi yang berbeda ini maka dilakukan uji statistik apakah ada perbedaan atau tidak pada kedua posisi tersebut.

Uji statistik: Manova

Variabel : Komponen prostat (kelenjar, otot polos, sabut kolagen, retikuler dan elastik).

Hasil uji manova menunjukkan nilai Wilks sebesar 1,000 ( $p > 0,05$ ) dan pada uji univariat untuk masing-masing variabel didapatkan juga derajat signifikan  $p > 0,05$ .

Jadi dengan demikian tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara data variabel pada bagian lateral dan medial prostat. Berdasarkan hal ini, maka data yang diperoleh pada pengamatan bagian lateral dan medial prostat digabungkan.

### 5.5 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok dan Antar Variabel

Untuk menguji adanya perbedaan antara kelompok 1 (Estrogen), kelompok 2 (LH) dan kelompok 3 (Kontrol) dilakukan uji manova.

Pada analisis variabel dalam serum, yang diuji ada 10 variabel yaitu estrogen, LH, PSA, limfosit, APC (eosinofil, basofil, neutrofil dan monosit), IgA, IgG, IgM, CD4 dan CD8. Pada uji multivariat didapatkan nilai Wilks dengan derajat signifikan  $p < 0,01$ .

Pada analisis variabel komponen prostat, yang diuji ada 6 variabel yaitu reseptor androgen, kelenjar, sabut kolagen, retikuler, elastik dan otot polos. Pada uji multivariat didapatkan nilai Wilks dengan derajat signifikan  $p < 0,01$ .

Dengan demikian ada perbedaan antar kelompok pada uji analisis untuk variabel komponen serum dan komponen prostat.

### 5.6 Hasil Uji Perbedaan Nilai Pre dan Post pada Kelompok

#### Kontrol

Dengan manova dilakukan analisis perbedaan nilai pre dan nilai post pada kelompok kontrol.

Pada uji manova untuk variabel estrogen, LH, PSA, limfosit, APC, IgA, IgG, IgM, CD4, CD8, rasio CD4/8, monosit, eosinofil, basofil dan neutrofil, ternyata didapatkan nilai Wilks 0,252 (derajat signifikansi 25,2 %). Ini berarti

tak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai *pre* dan nilai *post* untuk variabel-variabel tersebut pada kelompok kontrol.



### 5.7 Hasil Uji Perbedaan Berat dan Volume prostat

Uji statistik: Manova

Variabel : 1. Volume prostat  
2. Berat prostat

Tabel 5.3: Nilai rerata dan simpang baku (SB) volume dan berat prostat

Variabel	Sat	Kelompok 1		Kelompok 2		Kelompok 3	
		Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
Volume Prost.	ml	2.338	0.429	1.692	0.282	1.416	0.428
Berat Prost.	g	2.505	0.452	1.833	0.257	1.519	0.443

Hasil uji manova menunjukkan ada perbedaan berat dan volume prostat antara ketiga kelompok tersebut dengan amat bermakna ( $p < 0,001$ ).

### 5.8 Hasil Uji Perbedaan Peningkatan Kadar Hormon Estrogen dan Kadar LH pada Kelompok 1 dan Kelompok 2

Dengan pemberian estrogen pada hewan coba kelompok 1 dan pemberian LH pada kelompok 2 menyebabkan terjadinya

perubahan kadar estrogen dan LH pada kedua kelompok hewan coba.

Uji statistik: Manova

Variabel : 1. Rerata perubahan hormon estrogen  
2. Rerata perubahan LH

**Tabel 5.4: Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) kadar hormon estrogen dan LH**

Variabel	Sat.	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
Estrogen	pg/ml	1143.325	659.753	-11.907	11.469
LH	mIU/ml	-0.115	0.142	0.593	0.557

Pada uji manova ini didapatkan nilai Wilks ~ 0.000 ( $p < 0,001$ ).

Jadi ada perbedaan peningkatan kadar hormon estrogen dan kadar LH pada kelompok yang diberi hormon estrogen dan pada kelompok yang diberi LH.

Dengan demikian kelompok 1 mewakili kelompok hewan coba dengan kadar hormon estrogen yang tinggi dan kelompok 2 mewakili kelompok hewan coba dengan kadar LH yang tinggi.

### 5.9 Hasil Uji Peningkatan Kadar Hormon Estrogen dan Kadar LH Terhadap Nilai Rerata Komponen Prostat Pada Kelompok 1 dan Kelompok 2

Uji statistik : Multi-regresi

Variabel bebas : Rerata perubahan kadar hormon:

1. ▲ Estrogen
2. ▲ LH

Variabel tergantung: Rerata perubahan komponen prostat:

1. Reseptor androgen
2. Otot polos
3. Sabut kolagen
4. Sabut elastik
5. Sabut retikuler
6. Kelenjar

**Tabel 5.5: Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) kadar hormon serta nilai rerata dan simpang baku (SB) komponen prostat**

Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) kadar hormon.

Variabel	Sat.	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
Estrogen	pg/ml	1143.325	659.753	-11.907	11.469
LH	mIU/ml	-0.115	0.142	0.593	0.557

## Nilai rerata dan simpang baku (SB) komponen prostat

Variabel	Sat	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
Res.Androg.	*	1190.292	223.691	1209.917	189.712
Otot polos	**	23.129	5.042	19.500	3.363
Kolagen	**	11.187	2.727	10.104	2.341
Retikuler	**	5.854	0.531	5.767	0.600
Elastik	**	2.983	0.568	3.204	0.279
Kelenjar	**	39.138	3.304	33.287	2.001

## Catatan:

- \*) Reseptor Androgen : Jumlah reseptor per lapangan pandang mikroskop.  
 \*\*) Otot polos, sabut kolagen, retikuler, elastik, kelenjar: Jumlah kotak dalam gratikule yang terisi per lapangan pandang mikroskop.

## Hasil uji multiregresi:

	Kelompok 1	Kelompok 2
Var.bebas	▲ Estrogen	▲ LH
Var.tergantung	Komponen prostat	Komponen prostat
Multiple R	0,86350	0,80208

Dari hasil uji multi-regresi ternyata peningkatan kadar hormon estrogen pada kelompok 1 menimbulkan perubahan komponen prostat dengan *multiple R* 86,350 %. Jadi terdapat korelasi yang tinggi.

Peningkatan kadar LH pada kelompok 2 menimbulkan perubahan komponen prostat dengan *multiple R* 80,208 %. Ini juga menunjukkan korelasi yang tinggi.

### 5.10 Hasil Uji Nilai Rerata Kelenjar Pada Prostat Terhadap Perubahan PSA

Uji statistik : Regresi

Variabel bebas : Rerata perubahan PSA ( $\Delta$  PSA)

Variabel tergantung: Nilai rerata kelenjar

Tabel 5.6: Nilai rerata kelenjar dan rerata perubahan (post - pre) PSA

Variabel	Sat.	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
Kelenjar	*	39.138	3.304	33.287	2.001
PSA	ng/ml	0.313	0.165	0.078	0.133

\*) Kelenjar: Jumlah kotak dalam gratikule yang terisi per lapangan pandang mikroskop.

Hasil uji regresi: Didapatkan *multiple R* 0,45421.

Jadi terdapat korelasi yang kecil antara kelenjar pada prostat dan kadar PSA.

### 5.11 Hasil Uji Perbedaan kadar PSA pada Kelompok 1 dan Kelompok 2

Uji statistik: Anova

Variabel : Rerata perubahan PSA

**Tabel 5.7: Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) PSA**

Variabel	Sat.	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
PSA	ng/ml	0.313	0.165	0.078	0.133

Hasil uji anova: Didapatkan nilai Wilks sebesar 0,007 ( $p < 0,01$ ).

Jadi kadar PSA pada kelompok 1 dan kelompok 2 terdapat perbedaan yang bermakna dengan  $p < 0,01$ .

Dengan demikian maka kelompok 1 mewakili kelompok hewan coba dengan PSA yang tinggi dan kelompok 2 mewakili kelompok hewan coba dengan PSA yang rendah.

#### 5.12 Hasil Uji Perubahan PSA Terhadap Perubahan Respons Imun pada Kelompok 1 (PSA yang Tinggi) dan pada Kelompok 2 (PSA yang Rendah)

Uji statistik : Regresi

Variabel bebas : Rerata perubahan kadar PSA ( $\Delta$  PSA)

Variabel tergantung: Rerata perubahan respons imun:

1.  $\Delta$  APC
2.  $\Delta$  IgA
3.  $\Delta$  IgG
4.  $\Delta$  IgM
5.  $\Delta$  RCD48 (Rasio CD4/CD8)



Tabel 5.8: Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) PSA dan variabel respons imun

Variabel	Sat.	Kelompok 1 (PSA tinggi)		Kelompok 2 (PSA rendah)	
		Rerata	SB	Rerata	SB
PSA	ng/ml	0.313	0.165	0.078	0.133

Variabel	Sat.	Kelompok 1 (PSA tinggi)		Kelompok 2 (PSA rendah)	
		Rerata	SB	Rerata	SB
APC	*	0.789	1.109	1.404	1.872
IgA	mg/dl	-27.667	48.216	-2.583	22.581
IgG	mg/dl	-24.333	25.653	6.083	20.255
IgM	mg/dl	-39.667	59.724	2.250	36.696
RCD48	**	0.070	0.517	0.831	0.377

Catatan:

\*) APC : Jumlah sel APC per lapangan pandang mikroskop.

\*\*) CD48 : Ratio CD4/CD8

Hasil uji multi-regresi:

	Kelompok 1 (PSA tinggi)	Kelompok 2 (PSA rendah)
Multiple R	0,65920	0,64866

Dengan *multiple R* 0,65920 pada kelompok 1 dan 0,64866 pada kelompok 2 berarti ada korelasi antara kadar PSA dan respons imun.

### 5.13 Pembuatan Pola Immunopatobiologik

#### Analisis diskriminan

Uji statistik : Analisis diskriminan

Variabel bebas : 1. ▲ APC  
 2. ▲ IgA  
 3. ▲ IgG  
 4. ▲ IgM  
 5. ▲ Rasio CD4/CD8 (RCD48)  
 6. ▲ PSA

Variabel tergantung: Kelompok kategorik:

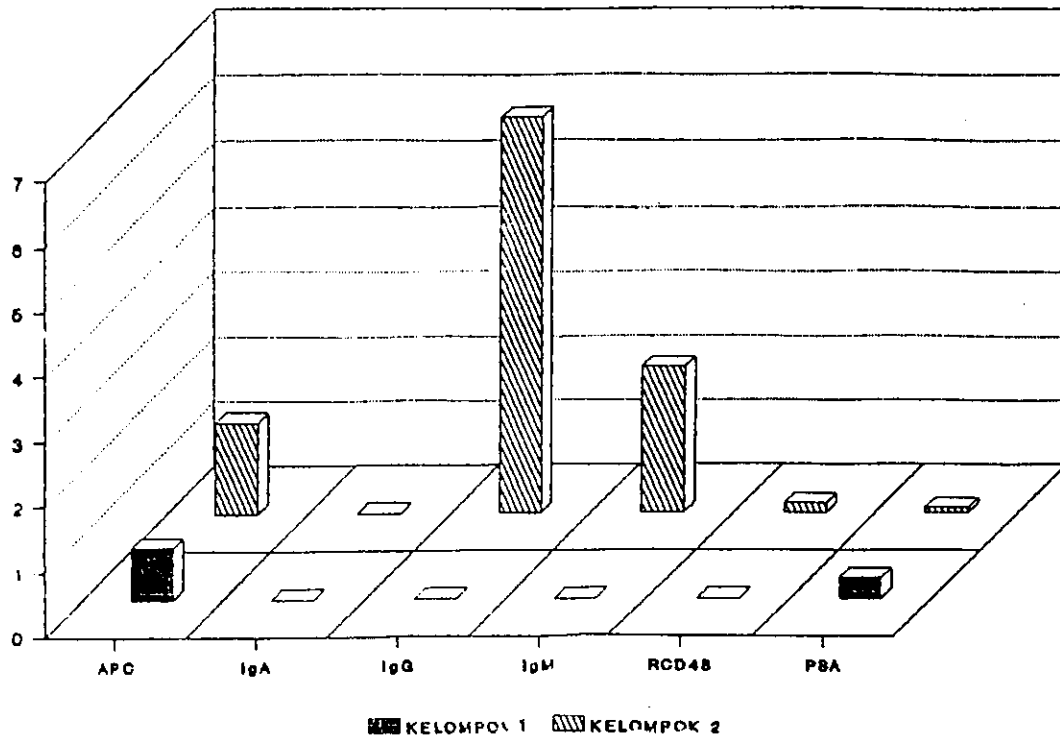
1. Kelompok 1 (PSA tinggi)
2. Kelompok 2 (PSA rendah)

Tabel 5.9: Rerata perubahan (*post - pre*) dan simpang baku (SB) PSA dan variabel respons imun

Variabel	Sat.	Kelompok 1		Kelompok 2	
		Rerata	SB	Rerata	SB
APC	*	0.789	1.109	1.404	1.872
IgA	mg/dl	-27.667	48.216	-2.583	22.581
IgG	mg/dl	-24.333	25.653	6.083	20.255
IgM	mg/dl	-39.667	59.724	2.250	36.696
RCD48	**	0.070	0.517	0.831	0.377
PSA	ng/ml	0.313	0.165	0.078	0.133

Catatan:

- \*) APC : Jumlah sel APC per lapangan pandang mikroskop.  
 \*\*) CD48 : Ratio CD4/CD8



Gambar 5.1: Grafik rerata perubahan APC, IgA, IgG, IgM, Rasio CD4/CD8 (RCD48) dan PSA

Kelompok 1: Estrogen tinggi.

Kelompok 2: LH tinggi.

Nilai pada grafik pola adalah rerata perubahan.

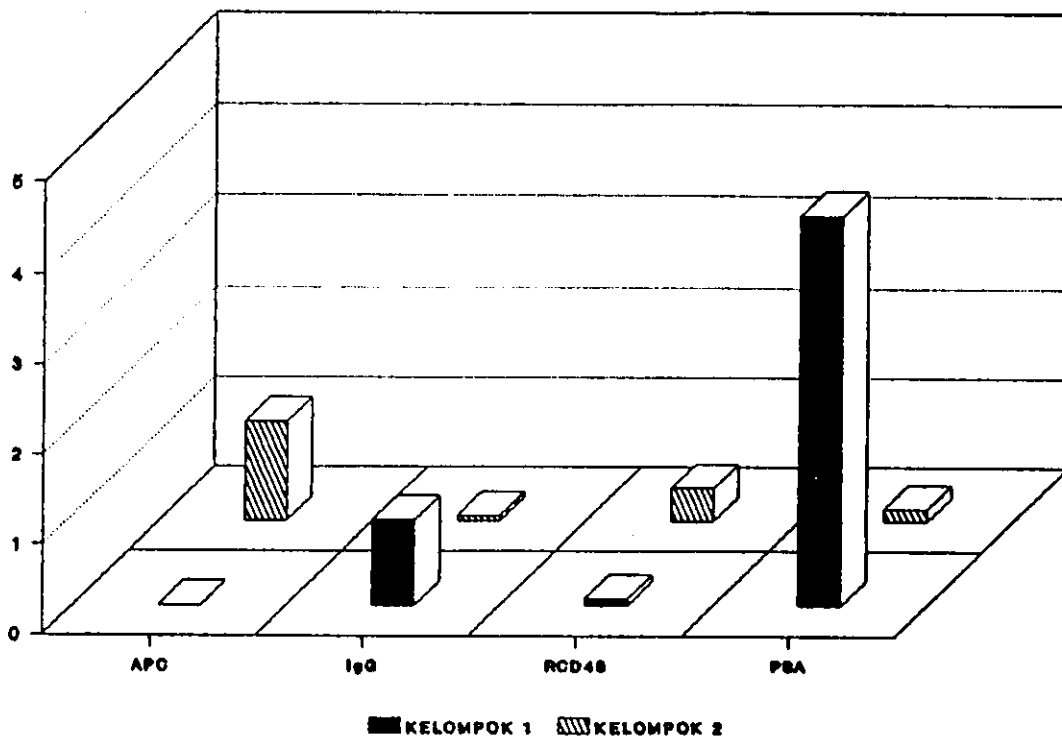
Dilakukan analisis diskriminan untuk variabel respons imun pada kelompok 1 dan kelompok 2.

Hasil analisis diskriminan:

Dari 6 variabel yang termasuk dalam uji ini ternyata variabel APC, IgG, rasio CD4/CD8 dan PSA merupakan variabel yang kuat sebagai pembeda, sedangkan IgA dan IgM tak termasuk sebagai variabel pembeda.

### 5.14 Pembuatan Pola Perubahan Respons Imun

Untuk dapat menjelaskan imunopatobiogenesis respons imun diperlukan pembuatan pola perubahan respons imun. Untuk ini nilai perubahan rerata setiap variabel dikalikan dengan nilai konstanta yang didapatkan pada analisis diskriminan.



Gambar 5.2: Grafik Pola Imunopatobiologik

Kelompok 1: Estrogen tinggi

Kelompok 2: LH tinggi

Nilai pada grafik pola adalah perubahan rerata dikalikan konstanta pada analisis diskriminan.

### 5.15 Penafsiran Pola

Pada kelompok 1 dengan pemberian estrogen terjadi peningkatan PSA yang tinggi yang berpengaruh terhadap peningkatan efek IgG. Peningkatan efek ini disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Terjadi penurunan APC karena peningkatan efek IgG mengemblok reseptor estrogen pada APC sehingga rangsangan proliferasi APC tak terjadi.

Pada kelompok 2 dengan pemberian LH terjadi peningkatan PSA yang rendah yang berpengaruh terhadap penurunan efek IgG. Penurunan efek ini disebabkan juga oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Terjadi peningkatan APC karena pada penurunan efek IgG tak terjadi pengeblokan reseptor LH pada APC sehingga tak terjadi hambatan proliferasi APC.

## BAB 6

## P E M B A H A S A N

Penelitian ini dilakukan untuk mengungkap patogenesis pembesaran prostat pada usia lanjut (*benign prostatic hyperplasia*, BPH) yang belum diketahui secara pasti (Ackermann, 1989; Cotran et al, 1989; Isaacs, 1989; Chandrasoma & Taylor, 1991; Griffiths et al, 1996). Pada usia lanjut saat sekresi testosteron sudah berkurang, 'seharusnya' kelenjar prostat akan mengecil (atrofi), tetapi yang terjadi malah sebaliknya. Akibat sekresi tetosteron yang rendah ini, akan terjadi umpan balik yang negatif pada hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga terjadi peningkatan sekresi *luteinizing hormone* (LH) (Tenaglia & DiSilverio, 1989; Gill, 1995; Santen, 1995; Guyton, 1996). Estrogen dalam plasma meningkat (baik secara absolut ataupun relatif) seiring dengan meningkatnya usia dan menjadikan prostat lebih sensitif terhadap dihidrotestosteron (DHT) (Cotran et al, 1989; Griffiths et al, 1996). Estrogen pada kaum pria diperoleh dari kelenjar suprarenal dan dari proses aromatisasi testosteron menjadi estrogen di dalam sel sertoli pada testis. Fibroblast pada kelenjar prostat penderita BPH juga mampu membuat estrogen (Romijn, 1989). Hal ini ikut mempengaruhi mengapa konsentrasi estrogen pada usia lanjut relatif lebih tinggi. Estrogen dan testosteron dapat mempengaruhi respons

imun tubuh (Michael & Chapman, 1990). *Prostate specific antigen* (PSA) yang merupakan produk sel epitel prostat pada penderita BPH juga meningkat (Zisman et al, 1995; Brawer, 1996; Sokoll & Chan, 1997). Keberadaan imunogen ini juga mempengaruhi respons imun tubuh.

Berpijak pada landasan ini dilakukan penelitian berdasarkan konsep patobiologik dan imunopatobiologik. Konsep patobiologik untuk mengungkap pengaruh peningkatan kadar estrogen dan peningkatan kadar LH pada komponen prostat (kelenjar, otot polos dan jaringan ikat) dan PSA. Konsep imunopatobiologik untuk mengungkap hubungan antara peningkatan PSA dengan perubahan respons imun yang diakibatkannya.

Untuk mendapatkan keadaan seperti di atas, dilakukan penelitian dengan membuat model pada hewan coba (*macaca fascicularis*) dengan pemberian estrogen dan LH pada kelompok yang berbeda.

#### **6.1 Peningkatan Kadar Estrogen pada Kelompok 1 dan Peningkatan Kadar LH pada Kelompok 2**

Dengan pemberian estrogen pada hewan coba kelompok 1 dan pemberian LH pada kelompok 2, terjadi perubahan kadar estrogen dan LH pada kedua kelompok hewan coba. Terjadi peningkatan kadar estrogen pada kelompok 1 dan peningkatan kadar LH pada kelompok 2 dengan amat bermakna ( $p < 0.0001$ ).



Pada kelompok 1 yang mendapatkan perlakuan dengan estrogen didapatkan kadar estrogen yang tinggi dengan kadar LH yang rendah. Kadar LH yang rendah ini diakibatkan oleh mekanisme umpan balik yang negatif dari estrogen terhadap hipotalamus dan hipofisis anterior. Dengan rendahnya kadar LH pada kelompok estrogen ini, maka estrogenlah yang dominan memegang peran dalam kelompok ini.

Sedangkan pada kelompok 2 yang mendapatkan perlakuan dengan LH didapatkan kadar LH yang tinggi dengan kadar estrogen yang rendah sehingga pada kelompok ini LH lah yang memegang peran yang dominan.

Dengan demikian kelompok 1 mewakili kelompok hewan coba dengan kadar hormon estrogen yang tinggi dan kelompok 2 mewakili kelompok hewan coba dengan kadar LH yang tinggi.

## 6.2 Pengaruh Peningkatan Kadar Estrogen dan Peningkatan

### Kadar LH pada Komponen Prostat

Dalam penelitian ini peningkatan kadar estrogen pada kelompok 1 dan peningkatan kadar LH pada kelompok 2, ternyata mempunyai korelasi yang tinggi dengan peningkatan komponen prostat yaitu reseptor androgen, otot polos, sabut kolagen, sabut elastik, sabut retikuler, kelenjar (*Multiple R* 0,86350 pada kelompok 1 dan 0,80208 pada kelompok 2).

Reseptor androgen meningkat baik pada kelompok 1 (kadar

estrogen tinggi) maupun pada kelompok 2 (kadar LH tinggi). Dengan peningkatan jumlah reseptor androgen ini prostat menjadi lebih peka terhadap pengaruh hormon androgen baik testosteron maupun DHT.

Peningkatan kompleks androgen-reseptor ini akan memacu pembentukan berbagai *growth stimulatory factor*, antara lain *epidermal growth factor* (EGF), *keratinocyte growth factor* (KGF) dan *insulin-like growth factor* (IGF). Pembentukan *growth factor* ini terjadi melalui proses transkripsi dan translasi yang selanjutnya mengaktivasi proliferasi komponen prostat baik stroma maupun epitel. Hal ini akan meningkatkan juga sekresi PSA sebagai produk dari epitel kelenjar (Griffiths et al, 1996).

Peningkatan reseptor androgen ini ternyata identik dengan peningkatan yang terjadi pada penderita BPH. Pada kondisi tersebut terdapat lebih banyak reseptor androgen pada jaringan BPH dari pada jaringan prostat normal (Daxenbichler et al, 1982; Bartsch et al, 1987, 1989; Griffiths et al, 1996).

Reseptor estrogen banyak terdapat pada stroma prostat (Griffiths et al, 1996). Keberadaan reseptor estrogen ini yang disertai dengan peningkatan kadar estrogen pada kelompok 1, akan terbentuk kompleks estrogen-reseptor yang lebih banyak. Keadaan ini selanjutnya ikut memacu pembentukan berbagai *growth factor* yang makin meningkatkan proliferasi komponen prostat.

Jadi dengan peningkatan kadar estrogen maupun LH akan memacu peningkatan komponen prostat secara tidak langsung melalui pembentukan *growth factor* ini.

Chandrasoma & Taylor (1991) melaporkan bahwa pada bagian sentral (periuretral) dari prostat merupakan bagian yang paling sensitif pada estrogen dan di bagian inilah yang sering mengalami proliferasi (BPH) pada usia lanjut. Sedangkan bagian perifer kelenjar prostat yang lebih sensitif pada androgen lebih cenderung terjadi karsinoma.

Penelitian ini menunjukkan terjadinya peningkatan otot polos sebagai bagian dari komponen prostat pada pemberian estrogen. Karena otot polos juga merupakan bagian dari stroma, maka hal ini dapat disebabkan oleh karena reseptor estrogen terdapat lebih banyak pada sel stroma prostat dari pada di sel epitel (Bartsch et al, 1989; Griffiths et al, 1996).

Menurut Bartsch et al (1989) sel otot polos merupakan sel dengan multi fungsi yang dapat mensintesa kolagen, elastin serta komponen jaringan ikat lainnya. Jadi peningkatan kolagen serta jaringan ikat lainnya dalam penelitian ini dapat merupakan akibat peningkatan otot polos dan bisa juga akibat langsung dari estrogen karena memang reseptor estrogen banyak terdapat pada stroma prostat.

### 6.3 Peningkatan Berat dan Volume Prostat

Pada uji manova didapatkan perbedaan berat dan volume prostat antara ketiga kelompok hewan coba dengan amat bermakna ( $p < 0,001$ ).

Berat dan volume prostat meningkat baik pada kelompok dengan kadar estrogen yang tinggi maupun pada kelompok dengan kadar LH yang tinggi. Peningkatan berat dan volume prostat ini lebih nyata pada kelompok dengan estrogen yang tinggi.

Peningkatan berat dan volume prostat ini merupakan pencerminan dari peningkatan komponen prostat (otot polos, sabut kolagen, sabut elastik, sabut retikuler dan kelenjar) yang telah dibuktikan secara statistik.

Pembesaran prostat yang sering dialami oleh pria berusia lanjut juga disertai dengan status hormonal yang mirip dengan keadaan pada penelitian ini, yaitu dengan kadar hormon estrogen yang tinggi dan LH yang tinggi pula.

Jadi estrogen yang tinggi maupun LH yang tinggi dapat meningkatkan berat dan volume prostat.

Para praktisi kedokteran masih ada yang melakukan pengobatan dengan estrogen pada penderita BPH. Ini berdasarkan teori bahwa estrogen akan menghambat sekresi LH (suatu mekanisme umpan balik yang negatif pada hipotalamus dan hipofisis anterior). Dengan berkurangnya sekresi LH maka rangsangan pada sel Leydig akan berkurang yang selanjutnya

akan berkurang pula sekresi testosteronnya. Dengan mekanisme ini diharapkan kelenjar prostat akan mengecil (Rochani, 1993). Karena pada penelitian ini pemberian estrogen justru menyebabkan berat dan volume prostat meningkat akibat peningkatan komponen prostat, maka pengobatan BPH dengan estrogen perlu dievaluasi kembali dan dilakukan penelitian lebih lanjut .

Telah diketahui bahwa kadar LH meningkat pada usia lanjut (Tenaglia & DiSilverio, 1989; Baxter, 1995; Gill, 1995; Santen, 1995; Guyton, 1996). Seperti pada pemberian estrogen, pemberian LH pada penelitian ini juga terjadi peningkatan reseptor androgen dan komponen prostat lainnya.

Untuk menerangkan mekanisme kerja LH pada prostat, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang menyangkut peran LH pada prostat, antara lain untuk mengetahui apakah ada reseptor LH pada prostat.

Peningkatan LH pada usia lanjut merupakan umpan balik yang negatif dari testosteron yang menurun. Kiranya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah untuk pencegahan BPH pada usia lanjut dapat diberikan testosteron untuk mempertahankan rasio yang baik antara testosteron dan estrogen serta untuk mencegah agar tak terjadi peningkatan LH.

#### 6.4 Pengaruh Peningkatan Kelenjar pada Prostat Terhadap Peningkatan PSA

Pada uji regresi ternyata peningkatan kelenjar prostat mempunyai korelasi yang kecil terhadap perubahan kadar PSA dalam serum. Pada uji regresi ini didapatkan nilai *multiple R* sebesar 0,45421. Korelasi yang tak besar ini dapat diakibatkan oleh karena variabel kelenjar adalah komponen jaringan sedangkan variabel PSA merupakan komponen dari serum. Interaksi antara jaringan dan serum terjadi secara bertahap.

PSA merupakan suatu glikoprotein yang diproduksi di dalam sitoplasma sel epitel prostat (Brawer, 1991; Zisman et al, 1995). Perubahan kadar PSA ada hubungannya dengan pertumbuhan dan jumlah epitel kelenjar prostat (Cadedu et al, 1995).

Reseptor androgen terutama berada pada sel epitel jaringan prostat (Romijn, 1989) dan pada penelitian ini terdapat peningkatan reseptor androgen. Jadi aktivitas epitel kelenjar juga ikut meningkat dengan terbentuknya lebih banyak kompleks androgen-reseptor.

PSA yang meningkat pada penelitian ini terutama terdapat pada kelompok yang diberi estrogen yang menyebabkan proliferasi kelenjar yang menonjol, sedangkan PSA merupakan produk kelenjar. Jadi peningkatan PSA merupakan salah satu pencerminan dari aktivitas kelenjar yang meningkat.

Karena dalam penelitian ini jumlah kelenjar prostat

meningkat, maka tidak tertutup kemungkinan bahwa **komelasi** ini bisa meningkat bila penelitian dilakukan dalam **jangka** waktu yang lebih lama.



#### 6.5 Perbedaan Kadar PSA pada Kelompok 1 (Estrogen Tinggi) dan Kelompok 2 (LH Tinggi)

Pada uji anova dengan perubahan rata-rata variabel PSA pada kelompok 1 (estrogen tinggi) dan kelompok 2 (LH tinggi) didapatkan nilai Wilks sebesar 0,007 ( $p < 0,01$ ). Jadi kadar PSA pada kelompok 1 dan kelompok 2 terdapat perbedaan yang amat bermakna.

Pada penelitian ini PSA amat meningkat terutama pada kelompok dengan kadar hormon estrogen yang tinggi. Pada kelompok ini peningkatan kelenjar pada prostat juga lebih tinggi dibandingkan dengan yang terjadi pada kelompok dengan LH tinggi.

Sebagaimana telah diketahui bahwa PSA merupakan hasil produk kelenjar (Brawer, 1991; Zisman et al, 1995). Jadi peningkatan PSA ini merupakan pencerminan dari jumlah dan aktivitas kelenjar yang meningkat.

Karena peningkatan kadar PSA pada kelompok 1 (estrogen) dan kelompok 2 (LH) terdapat perbedaan yang amat bermakna ( $p < 0,01$ ) maka kelompok estrogen mewakili kelompok hewan coba dengan PSA yang tinggi dan kelompok LH mewakili kelompok hewan coba dengan PSA yang rendah.

## 6.6 Perubahan Kadar PSA Terhadap Perubahan Respons Imun pada Kelompok Dengan PSA yang Tinggi dan pada Kelompok Dengan PSA yang Rendah

Pada uji regresi dengan perubahan rata-rata PSA sebagai variabel bebas dan perubahan rata-rata respons imun (APC, IgA, IgG, IgM dan rasio CD4/CD8) sebagai variabel tergantung, ternyata didapatkan *multiple R* sebesar 0,65920 pada kelompok 1 (PSA tinggi) dan 0,64866 pada kelompok 2 (PSA rendah). Dengan demikian terdapat korelasi antara kadar PSA dan respons imun pada kedua kelompok dengan PSA yang berbeda tersebut.

Berat molekul PSA antara 26.000-34.000 tergantung dari cara analisis yang dipakai (Sokoll & Chan, 1997). PSA dengan berat molekulnya yang besar memang potensial sebagai imunogen.

PSA disebut sebagai *marker* yang spesifik untuk epitel prostat baik yang normal maupun yang malignan (Hanks et al, 1993; Montie & Meyers, 1997; Sokoll & Chan, 1997). Peningkatan kadar PSA mencerminkan peningkatan kelenjar pada prostat akibat pemberian perlakuan.

Meskipun PSA juga didapatkan pada organ lain tapi tidaklah sebesar yang diproduksi oleh kelenjar prostat sehingga PSA dijadikan sebagai indikator adanya proliferasi sel pada prostat.



## **6.7 Perbedaan Pola Imunopatobiologik pada Perubahan PSA**

Untuk menjelaskan imunopatobiogenesis akibat perubahan PSA, dilakukan analisis dengan pembuatan grafik pola perubahan respons imun (pola imunopatobiologik). Pada pola ini ditampilkan variabel yang kuat sebagai variabel pembeda dan tampak kontribusi suatu variabel terhadap variabel lainnya.

### **6.7.1 Analisis diskriminan**

Sebagai tahap awal pembuatan grafik pola imunopatobiologik, terlebih dahulu dilakukan analisis diskriminan untuk menentukan variabel yang kuat sebagai pembeda.

Pada penelitian ini dilakukan analisis diskriminan untuk variabel respons imun (APC, IgA, IgG, IgM dan rasio CD4/CD8) serta PSA sebagai variabel bebas pada kelompok 1 (kelompok perlakuan dengan estrogen) dan kelompok 2 (kelompok perlakuan dengan LH). Dari 6 variabel yang termasuk dalam uji ini ternyata variabel APC, IgG, rasio CD4/CD8 dan PSA merupakan variabel yang kuat sebagai pembeda, sedangkan IgA dan IgM tak termasuk sebagai variabel pembeda.

### **6.7.2 Pola perubahan respons imun (Pola imunopatobiologik)**

Pada kelompok 1 dengan pemberian estrogen terjadi

peningkatan PSA yang tinggi yang berpengaruh terhadap peningkatan efek IgG. Peningkatan efek ini disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Terjadi penurunan APC karena peningkatan efek IgG mengblok reseptor estrogen pada APC sehingga rangsangan proliferasi APC tak terjadi.

Pada kelompok 2 dengan pemberian LH terjadi peningkatan PSA yang rendah yang berpengaruh terhadap penurunan efek IgG. Penurunan efek ini disebabkan juga oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Terjadi peningkatan APC karena pada penurunan efek IgG tak terjadi pengeblokan reseptor LH pada APC sehingga tak terjadi hambatan proliferasi APC.

Tampak dengan jelas adanya perbedaan respons imun antara kedua kelompok kategorik ini.

Terdapat hubungan yang tak terpisahkan antara rasio CD4/CD8 dengan kadar imunoglobulin (Ig). Sebagaimana diketahui, CD4 (T-helper, Th) merupakan limfosit yang dapat merangsang aktivitas sel limfosit B (sel B) untuk menjadi sel plasma yang selanjutnya mampu membuat antibodi (imunoglobulin). CD4 sendiri terdiri dari sel Th1 dan sel Th2. Akhir-akhir ini telah diidentifikasi juga adanya sel Th0. Sel Th1 berperan mengaktifkan makrofag dan ada hubungannya dengan reaksi hipersensitivitas (*delayed type hypersensitivity, DTH*). Sel Th2 berperan kuat terhadap respons pembentukan antibodi. Sel Th0 belum jelas, mungkin mewakili berbagai populasi dari sel efektor (Romagnani, 1996, 1997).

CD8 terdiri dari sel Tc (*T-cytotoxic*) dan sel Ts (*T-suppressor*). Jadi CD8 (Tc/s) mempunyai efek yang 'berlawanan' dengan CD4. Karena CD8 mengandung sel *T-suppressor*, maka CD8 merupakan limfosit yang dapat menekan/menghambat aktivitas sel B untuk menjadi sel plasma sehingga produksi imunoglobulin akan berkurang.

Karena efek CD4 dan CD8 yang 'bertentangan' terhadap aktivitas sel B ini, maka nilai nominal masing-masing sel limfosit T tersebut menjadi tidak begitu penting. Yang lebih penting adalah rasio CD4/CD8 dalam pengaruhnya terhadap aktivitas sel B.

Analisis imunopatobiogenesis akan menjadi lebih jelas bila secara laboratoris kita dapat membedakan sel Tc dengan sel Ts yang merupakan komponen CD8. Untuk ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

### 6.7.3 Pengaruh estrogen pada respons imun

Pada pemberian estrogen terjadi peningkatan PSA yang amat menonjol.

PSA yang meningkat perlu mendapatkan perhatian khusus karena PSA merupakan suatu glikoprotein yang terutama terdapat dalam sitoplasma sel epitel prostat. PSA terdapat juga pada jaringan lainnya (Brawer, 1996).

Pada penderita BPH konsentrasi PSA juga meningkat.

Peningkatan yang tinggi dari PSA biasanya terjadi pada carcinoma prostat dimana terjadi proses proliferasi / hiperplasia jaringan yang amat meningkat.

Jadi dari peningkatan PSA pada pemberian estrogen yang disertai dengan peningkatan komponen prostat, berarti dalam kelenjar prostat sedang terjadi proses proliferasi jaringan.

PSA yang merupakan suatu imunogen amat erat hubungannya dengan respons imun tubuh.

Pada grafik pola imunopatobiologik tampak bahwa pada kelompok 1 dengan pemberian estrogen terjadi peningkatan PSA yang tinggi. PSA yang tinggi ini mempunyai kontribusi yang besar pada peningkatan efek IgG (dengan efek negatif). Peningkatan efek ini disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Sebagaimana diketahui CD4 (*Th, T-helper*) terdiri dari sel Th1 dan sel Th2 sedangkan CD8 terdiri dari sel Tc (*T-cytotoxic*) dan sel Ts (*T-suppressor*). Penurunan rasio CD4/CD8 yang dapat menyebabkan peningkatan efek IgG pada kelompok ini, dapat diakibatkan oleh peningkatan sel Th2 yang disertai dengan peningkatan yang sangat tinggi dari sel Tc. Sel Th2 mempunyai peran yang menonjol pada respons imun humoral.

Terjadi penurunan APC karena peningkatan efek IgG terjadi pengeblokan reseptor estrogen pada APC sehingga rangsangan proliferasi APC tak terjadi. Dengan demikian pada kelompok yang diberi estrogen terjadi peningkatan PSA yang membangkitkan respons imun yang merugikan.

Zisman et al (1995) dalam penelitiannya pada penderita BPH mendeteksi juga adanya peningkatan IgG anti PSA. Hal ini menunjang dugaan adanya kemungkinan suatu proses autoimunitas pada BPH. Hal ini mengingatkan adanya penyakit lain yang disertai dengan proses hiperplasia jaringan seperti kelenjar tiroid (penyakit Graves), timus (myasthenia gravis) dan gangguan limfoid pada paru merupakan proses autoimunitas.

Estrogen memang dapat menghambat perkembangan sel T di dalam timus (Rijhsinghani et al, 1996).

Michael & Chapman (1990) melaporkan bahwa estrogen dapat bersifat immunosupresif dan dapat pula bersifat immunostimulan tergantung dari kadar estrogen dalam darah.

#### 6.7.4 Pengaruh LH pada respons imun

Pada grafik pola tampak bahwa pada kelompok 2 dengan pemberian LH terjadi peningkatan PSA yang rendah. PSA yang rendah ini mempunyai kontribusi yang rendah terhadap perubahan IgG. Perubahan IgG yang terbatas ini juga disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada rasio CD4/CD8. Peningkatan rasio CD4/CD8 yang dapat menyebabkan penekanan efek IgG pada kelompok ini, dapat diakibatkan oleh penurunan sel Th2 yang disertai pula dengan penurunan yang sangat besar dari sel Tc. Terjadi peningkatan APC karena pada penurunan efek IgG tak terjadi pengeblokan reseptor LH pada APC sehingga tak

terjadi hambatan proliferasi APC. Jadi pada kelompok yang diberi LH terjadi peningkatan PSA yang rendah yang membangkitkan respons imun yang tidak terlalu merugikan.

Penelitian ini dengan pemberian estrogen dan pemberian LH merupakan sebagai model pada hewan coba yang menyerupai keadaan yang terjadi pada penderita usia lanjut dalam usaha untuk menjelaskan patobiogenesis BPH dan imunopatobiogenesis yang terjadi.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsep patobiologik/imunopatobiologik terbukti dapat digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis prostat.
2. Pada pemberian estrogen dan pada pemberian LH terjadi peningkatan jumlah reseptor androgen dan komponen prostat (kelenjar, sel otot polos, sabut kolagen, elastik dan retikuler) yang mengakibatkan berat dan volume prostat meningkat.
3. Pada kelompok yang diberi estrogen terjadi peningkatan PSA yang diketahui merupakan imunogen, membangkitkan respons imun yang merugikan.  
Pada kelompok yang diberi LH terjadi peningkatan PSA yang rendah yang membangkitkan respons imun yang lebih baik dari kelompok yang diberi estrogen.

## 7.2 Saran

1. Pemberian estrogen dalam pengobatan BPH perlu dipertimbangkan kembali.
2. Keberadaan reseptor LH pada jaringan prostat perlu diteliti.
3. Perlu dilakukan penelitian apakah untuk pencegahan terjadinya BPH pada usia lanjut dapat diberikan testosteron untuk mencegah terjadinya peningkatan LH.
4. Perlu dikembangkan teknik laboratorium untuk dapat mendeteksi dan membedakan sel Tc (*T-cytotoxic*) dan sel Ts (*T-suppressor*).



DAFTAR PUSTAKA

Ackermann R, 1989. In Prostatic Hyperplasia. Edited by Ackermann R, Schroder FH, Walter de Gruyter, Berlin.

Aumuller G, 1989. Morphological aspects of the human prostate and the development of benign prostatic hyperplasia. In Prostatic Hyperplasia. Edited by Ackermann R, Schroder FH, Walter de Gruyter, Berlin, pp.12-21.

Baker JR, 1991. Endocrine Diseases. In Basic and Clinical Immunology. Edited by Stites DP & Terr AI, 7th Edition, Prentice-Hall International Inc., USA, pp.464-5.

Barry MJ, Boyle P, Fourcroy J, Garraway M, Gu FL, Harrison NW, Jacobsen SJ, O'Leary MP, Oishi K, Senge T, Tsukamoto T, Guess HA, 1996. Epidemiology and natural history of BPH. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G eds.) The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH), Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.21-36.

Bartsch G, Keen F, Daxenbichler G, Marth CH, Margreiter R, Brungger A, Sutter T, Rohr HP, 1987. Correlation of biochemical (receptors, endogenous tissue hormones) and quantita-

tive morphologic (stereologic) findings in normal and hyperplastic human prostates. *J.Urol.*, 137:561-564.

Bartsch G, Brungger A, Schweikert U, Hintner H, Hopfl R, Rohr HP, 1989. Benign prostatic hyperplasia: Morphometric studies in relation to the pathogenesis. Ed.:Ackermann R, Schroder FH, Prostatic Hyperplasia. Walter de Guyter, Berlin, pp.35-53.

Bartsch G, Keen F, Daxenbichler G, Marth CH, Margreiter R, Baxter JD, Frohman L, Felig P, 1995. Introduction to endocrine system. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds.) *Endocrinology and metabolism*, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, Inc., pp.3-22.

Box GEP, Hunter WG, Hunter JS, 1978. *Statistics of Experimenters. An Information to design, data analysis and model build.* New York: John Wiley & Sons.

Bratawidjaja KG, 1988. *Imunologi Dasar*, Fakultas Kedokteran U.I. Jakarta, hal 3-45.

Brawer MK, 1991. Prostate Specific Antigen. A Review. *Acta-Oncol.*, 30(2), pp.161-8.

Brawer MK, 1996. Assessment of current methods of determining serum prostate specific antigen levels in the early detection or screening for prostatic carcinoma. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G eds.) The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH), Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.371-381.

Brungger A, Sutter T & Rohr HP, 1987. Correlation of biochemical (receptors, endogenous tissue hormones) and quantitative morphologic (stereologic) findings in normal and hyperplastic human prostates. J Urol, 137: 561-564.

Cadedu JA, Pearson JD, Lee BR, Landis P, Partin AW, Epstein JI, Carter HB, 1995. Relationship between changes in prostate-specific antigen and the percent of prostatic epithelium in men with benign prostatic hyperplasia. Urology 45:795-800.

Chandrasoma P, Taylor CR, 1991. Concise Pathology. The Prostate. 1st.Ed. PrenticeHall Int.Inc., London, pp.757-759.

Coffey DS, 1992. The molecular biology, endocrinology, and physiology of the prostate and seminal vesicles. In (Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds). Campbell's Urology, 6th edition, Philadelphia: WB Saunders Co, pp.221-

226.

Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, 1989. Robbins Pathologic Basis of Diseases: Prostate and benign enlargement. 4th.Ed. W.B.Saunders Co. Philadelphia, pp.1116-1121.

Darnell J, Lodish H, Baltimore D, 1986. Molecular cell biology. New York: Scientific American Books, pp. 267-304, 667-714.

Daxenbichler G, Keen F, Bartsch G, 1982. Cytoplasmic and nuclear androgen, estrogen, and progesterone receptor control in normal and hyperplastic human prostate. Acta Endocrinologica, 99, Suppl.246, 125.

Diamandis EP, Yu H, 1997. The Urologic Clinics of North America 24:275-282

Duke JC, Wright A, Okret S, Gustafsson JA, 1995. Molecular mechanisms of hormone action: Regulation of target cell function by the steroid hormone receptor supergene family. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds.) Endocrinology and metabolism, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, Inc., pp.91-168.

Gann PH, Hennekens CH, Longcope C, Oftedahl WV, Grodstein F, Stampfer MJ, 1995. A prospective study of plasma hormone

levels, nonhormonal factors and development of benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 26:40-49.

Ganong WF, 1993. *Review of Medical Physiology*, 15th.Ed. Lange Med.Publ. Chicago. pp.397-425

Gardner WAJR, & Culberson DE 1987. Atrophy and proliferation in the young adult prostate. *J.Uro.*, 137: 53-56.

Gill GN, 1995. Biosynthesis, secretion and metabolism of hormones. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds.) *Endocrinology and metabolism*, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, Inc., pp.69-89.

Giovannucci E, Rimm EB, Chute CG, Kawachi I, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, 1995. Obesity and benign prostatic hyperplasia. *Amer J Epidemiol* 140:989-1002.

Gleason PE, Jones JA, Regan JS, Salvati DB, Eble JN, Lamph WW, Vlahos CJ, Huang WL, Falcone JF, Hirsch KS, 1993. Platelet derived growth factor (PDGF), androgens and inflammation: Possible etiologic factors in the development of prostatic hyperplasia. *J Urol* 149:1586-1592.

Grayhack JT, Lee C & Brand W, 1985. The effect of testicular irradiation on established BPH in the dog: Evidence of a

non-steroidal testicular factor for BPH maintenance. *J Urol*, 134: 1276-1281.

Griffiths K, Coffey D, Cockett A, Agnese DS, Ichikawa T, Krieg M, Lee C, Keehan WM, Schalken J, Sciarra F, Steiner G, Sugimura Y, Yamanaka H, 1996. The regulation of prostatic growth. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G eds.) *The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH)*, Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.73-108.

Grino PB, Griffin JE & Wilson JD, 1990. Testosterone at high concentrations interacts with the human androgen receptor similarly to dihydrotestosterone. *Endocrinol.*, 126: 1165-1172.

Guyton AC, 1996. *Textbook of Medical Physiology*. 9th.Ed. W.B.Saunders Co. Philadelphia, pp.925-1015.

Hald T, Brading AF, Elbadawi A, Homma Y, Horn T, Keuppens F, Light JK, Thuroff JK, Wein A, 1996. Pathology and pathophysiology. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G eds.) *The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH)*, Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.125-157.

Hanks GE, Myers CE, Scardino PT, 1993. Cancer of the prostate. In (DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds). Cancer: Principles and Practice of Oncology, 4th edition, Philadelphia: JB Lippincott, pp.1079-1081.

Higgins JE, Klinbaum AP, 1985. Introduction to randomized clinical trials. Family Health International, USA, pp.24-35.

Isaacs JT, 1989. Stem cell organization of the prostate and the development of benign prostatic hyperplasia. Ed.:Ackermann R, Schroder FH, Prostatic Hyperplasia. Walter de Gruyter, Berlin, pp.23-34.

James R, 1991. Endocrine Diseases. In Basic and Clinical Immunology. Edited by Stites DP, Terr AI, Prentice Hall Intern. Inc., Connecticut, pp.464-465.

Kithara S, Winters SJ, Attardi B, Oshima H and Troen P, 1990. Effects of castration on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion by pituitary cells from male rats. Endocrinol., 126: 2642-2649.

Kresno SB, 1984. Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Fakultas Kedokteran U.I. Jakarta, hal 4-15.

Lavieren LP, 1983. Wildlife management in the tropics, Bogor: School of Environmental Conservation Management, pp.49-72.

Lepor H, 1996. Rationale for alpha-blockade in BPH therapy. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G eds.) The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH), Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.531-537.

Marshall JA, 1965. The Teeth. In (Hartman CG, Straus WL, eds). The anatomy of rhesus monkey, New York: Hafner Publishing Co, pp.85-88.

Mawhinney M, 1989. The extracellular matrix and cellular proliferation in the etiology of benign prostatic hyperplasia. Ed.:Ackermann R, Schroder FH, Prostatic Hyperplasia. Walter de Gruyter, Berlin, pp.55-62.

Maximow AA, Bloom W, 1955. A textbook of histology, 6th edition, Philadelphia: WB Saunders Co., pp.461-489.

McConnell J, Akakura K, Akaza H, Bartsch G, Debruyne F, Kirby R, Mahler C, Macaluso MP, Tunn U, 1996. Hormonal treatment of benign prostatic hyperplasia. In (Cockett ATK, Khoury S, Aso Y, Chatelain C, Denis L, Griffiths K, Murphy G



eds.) The 3rd international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH), Manchecourt: Scientific Communication International Ltd, pp.499-516.

Michael SD, Chapman JC, 1990. The Influence of the Endocrine System on the Immune System. Immunology and Allergy of North America, 10:1.

Miller WL, Tyrell JB, 1995. The adrenal cortex. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds.) Endocrinology and metabolism, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, Inc., pp.585.

Montie JE, Meyers SE, 1997. Defining the ideal tumor marker for prostate cancer. The Urologic Clinics of North America 24:247-252.

Nadler RB, Humphrey PA, Smith DS, Catalona WJ, Ratliff TL, 1995. Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. J Urol 154:407-413.

Papapetrou PD, 1982. Circulating Alpha-Subunit of Glycoprotein Hormones in Normal Subjects and Its Relationship to the LH and SH Serum Levels. Acta Endocrinologica, 101, Sup.248, 1-2.

Partin AW, Oesterling JE, 1994. The clinical usefulness of prostate specific antigen: Update 1994. J Urol 152:1358-1368.

Putra ST, 1992. Dasar Immunopatologi dan Pengembangannya. Kursus Immunopatologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya.

Putra ST, 1993. Peran pemeriksaan imunohistokimia di bidang kedokteran, Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, hal.1-9.

Putra ST, 1993. Pewarnaan imunohistopatologik dan imunositopatologik untuk penelitian kedokteran, Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, hal.2-48.

Putra ST, 1993. Dasar imunopatologi dan perkembangannya. Media IDI 18:34-33.

Putra ST, 1997. Konsep patobiologi dan imun mukosal. In (Soeparto P, Judajana FM, Putra ST, Sudarmo SB, eds). Immunologi mukosal kedokteran., Surabaya: Graha Masyarakat Ilmiah Kedokteran (GRAMIK) FK UNAIR, hal 27-48

R. Jhsinghani AG, Thompson K, Bhatia SK, Waldschmidt TJ,



1996. Estrogen blocks early T cell development in the thymus. Am J Reprod Immunol 36(5):269-277. Abstr.

Rochani, 1993. Pembesaran Prostat Jinak, Edisi 1, Surabaya: Yayasan Penerbit IDI, hal.23.

Roitt IM, Brostoff J, Male DK, 1989. Immunology. Gower Medical Publishing, London.

Romagnani S, 1996. Short Analytical review. Th1 and Th2 in human diseases. Clinical Immunology and Immunopathology 80:225-235.

Romagnani S, 1997. The Th1/Th2 Paradigm. Immunology Today 18:263-266.

Romijn JC, 1989. Steroid hormones, receptors and benign prostatic hyperplasia. In Prostatic Hyperplasia. Edited by Ackermann R, Schroder FH, Walter de Gruyter, Berlin, pp.63-72.

Sanda MG, Beaty TH, Stutzman RE, Childs B, Walsh PC, 1994. Genetic susceptibility of benign prostatic hyperplasia. J Urol 152:115-119.

Santen RJ, 1995. The testis. In (Felig P, Baxter JD, Frohman

LA, eds.) Endocrinology and metabolism, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, Inc., pp.885-972.

Schroder FH, Bosch RJLH, Blom JHM, 1989. Androgen ablation in the treatment of stage II benign prostatic hyperplasia. In Prostatic Hyperplasia. Edited by Ackermann R, Schroder FH, Walter de Gruyter, Berlin, pp.131-137.

Schultz AH, 1965. Growth and development. In (Hartman CG, Straus WL, eds). The anatomy of rhesus monkey, New York: Hafner Publishing Co, pp.10-27.

Smith DC, 1965. Methods of euthanasia and disposal of laboratory animals. In (Gay WI, editor). Methods of animal experimentation, New York, pp. 167-195.

Smith JB, Mangkoewidjojo S, 1988. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. 1st edition, Jakarta: UI-Press, hal.219-232.

Sokoll LJ, Chan DW, 1997. Prostate Specific Antigen. The Urologic Clinics of North America 24:253-259

Stites DP, Stobo JD, Wells JV, 1987. Basic & Clinical Immunology. Prentice Hall Internat., Inc. London.

Strobl FJ, Gilmore CA & Levine JE, 1989. Castration induces luteinizing hormone (LH) secretion in hypophysectomized pituitary-grafted rats receiving pulsatile LH-releasing hormone infusions. *Endocrinol.*, 124: 1140-1144.

Subowo, 1993. *Imunobiologi*. Edisi 1, Bandung: Angkasa, hal.17-90.

Suryo, 1989. *Genetika manusia*. Ed.2, Yogyakarta: Gajah Mada University Press, hal.7-56.

Tenaglia R, DiSilverio F, 1989. Management of benign prostatic hyperplasia with antiandrogens and antiestrogens - clinical results (Review). In *Prostatic Hyperplasia*. In *Prostatic Hyperplasia*. Edited by Ackermann R, Schroder FH, Walter de Gruyter, Berlin, pp.123-129.

Terr AI, 1991. Mechanisms of Inflammation. In *Basic and Clinical Immunology*, edited by Stites DP, Terr AI, 7th edition, Prentice-Hall International Inc., USA, pp.131-140.

Tjokronegoro A, Lubis F, Samil RS, Setiabudy R, Oemijati S, 1996. Etik penggunaan hewan percobaan pada riset biomedis. Dalam (Oemijati S, Setiabudy R, Budijanto A, eds). *Pedoman etik penelitian kedokteran Indonesia*, Jakarta: Fakultas

Kedokteran Universitas Indonesia, hal.17-22.

Walsh PC, 1992. Benign Prostatic Hyperplasia. In (Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds). Campbell's Urology, 6th edition, Philadelphia: WB Saunders Co, pp.1009-1027.

Wenderoth UK, George FW, Wilson JD, 1982. Inhibition of alpha reductase in benign prostatic hyperplasia of dog. Acta Endocrinologica, 99, Suppl.246, 130.

Wenderoth UK, Griffin JE, Wilson JD (a), 1982. Normal and hyperplastic human prostates concentrate estradiol. Acta Endocrinologica, 99, Suppl.246.

Zainuddin M, 1988. Metodologi Penelitian. Surabaya.

Zisman A, Zisman E, Lindner A, Velikanov S, Siegel YI, Mozes E, 1995. Autoantibodies to prostate specific antigen in patients with benign prostatic hyperplasia. J Urol 154: 1052-1055.

L A M P I R A N

LAMPIRAN 1

CARA PEMBUATAN PREPARAT HISTOLOGI

TEKNIK 1

TEKNIK PEMBUATAN SEDIAAN MIKROSKOPIK (Teknik sayatan parafin)

Untuk membuat sediaan sayatan parafin, ada 4 tahap perlakuan:

1. Mempersiapkan jaringan.

- Pemberian label, nomer untuk identitas.
- Fiksasi bahan dengan buffer formalin.
- Banyaknya buffer formalin minimal 10 kali besar jaringan.

2. Memproses jaringan.

2.1 Dehidrasi (*dehydration*)

- a. Setelah difiksasi, dilakukan pencucian dengan air mengalir (15-24 jam)
- b. Jaringan dimasukkan ke etanol 80% (2 jam).
- c. Jaringan dipindahkan ke etanol 95% (2jam).
- d. Jaringan dipindahkan ke etanol 95% (1jam).
- e. Jaringan dipindahkan ke etanol absolut (3 kali masing-masing 1 jam).

## 2.2 Penjernihan (*clearing*)

- a. Jaringan dimasukkan ke xilol (2 kali masing-masing 1 jam).
- b. Jaringan dipindahkan ke xilol (2 jam) untuk menghilangkan sisa alkohol.

## 2.3 Penanaman (*impregnation*)

Jaringan dipindahkan ke histosec cair / parafin cair (tiga kali masing-masing 2 jam).

## 2.4 Pembuatan balok parafin (*embedding*)

Dilakukan pembuatan balok parafin.

3. Balok parafin disayat setebal 5-6 mikron dengan mikrotom putar. Sediaan ditempelkan pada gelas benda (*object glass*) dengan perekat *egg albumin* (untuk pewarnaan yang tidak menggunakan antibodi), atau perekat gelatin (untuk pewarnaan imunohistokimia). Kalau akan melihat imunoglobulin tidak menggunakan *egg albumin* tetapi menggunakan PPD mounting.
4. Pewarnaan (lebih rinci akan diuraikan pada teknik pewarnaan).

## TEKNIK 2

### PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN (HE) METODE HARRIS

Bahan warna hematoksilin:

Kristal hematoksilin	5	gram
Alkohol absolut	50	ml



Ammonium/potasium alum	100	gram
Asam merkuri merah	2,5	gram
Akuades	1000	gram

#### **Cara pembuatan larutan hematoksilin**

- a. Kristal hematoksilin dilarutkan dalam alkohol absolut.
- b. Potasium alum/ammonium alum dilarutkan dalam akuades dengan pemanasan.
- c. Kedua bahan dicampur dan dipanaskan sampai mendidih.
- d. Larutan ditambah dengan asam merkuri perlahan-lahan sampai berwarna ungu gelap.
- e. Larutan didinginkan dan ditambah dengan 2 ml - 4 ml asam asetat (glasial) setiap 100 ml larutan.
- f. Sebelum digunakan harus disaring dulu.

#### **Cara pembuatan larutan eosin (eosin alkohol 1%):**

- a. Eosin Y 1 gram dilarutkan dalam 20 ml akuades.
- b. Larutan (ad a) diencerkan dengan 80 ml alkohol 95%.
- c. Larutan yang akan digunakan (*working solution*) 1 bagian larutan eosin alkohol 1% diencerkan dengan 3 bagian alkohol 80%, dan ditambah 0,5 ml asam asetat (glasial) setiap 100 ml larutan.

#### **Cara pembuatan alkohol asam:**

Asam chlorida jenuh sebanyak 10 ml dilarutkan dalam 1000 ml alkohol 70% sampai homogen.

**Cara pembuatan ammonium air:**

Ammonium hidroksida 28% sebanyak 4 ml dilarutkan ke dalam 1000 ml air sampai homogen.

**Cara pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Harris:**

## 1. Deparafinisasi:

Sayatan yang sudah melekat di gelas obyek direndam didalam xilol (2 x 2 menit).

## 2. Hidrasi:

a. Sayatan dipindah ke alkohol absolut (2 x 1 menit).

b. Sayatan dipindah ke alkohol 95% (2 x 1 menit).

c. Sayatan dipindah ke air 10 menit.

## 3. Pewarnaan utama:

a. Pewarnaan hematoksilin (15 menit)

b. Pencucian dengan air (10 - 20 menit)

## 4. Deferensiasi:

a. Sayatan dicelupkan asam alkohol (3 - 10 celup)

b. Sayatan dicuci dengan air (20 menit)

c. Sayatan dibilas dengan Ammonium air (3 - 10 celup)

## 5. Pewarna pembeding:

Pewarna pembeding eosin (15 - 20 detik)

## 6. Dehidrasi:

a. Alkohol 95% (2 x 2 menit)

b. Alkohol absolut (2 x 2 menit)

## 7. Penjernihan:

Xilol (3 x 2 menit)

**8. Mounting:**

Oleskan Entellan dan letakkan gelas penutup.

**TEKNIK 3****PEWARNAAN PERIODIC ACID SCHIFF (PAS)**

Pewarnaan PAS mempunyai dua reagen:

1. Asam periodat (oksidator)
2. Reagen Schiff (indikator)

Untuk melihat karbohidrat yang terikat dalam antibodi (plasma).

**Cara pembuatan asam periodat:**

Asam periodat sebanyak 1 gram dilarutkan kedalam 100 ml air suling sampai homogen.

**Cara pembuatan reagen Schiff:**

Basa fuchsin sebanyak 1 gram dilarutkan kedalam 200 ml air suling dengan pemanasan sampai mendidih. Larutan didinginkan 50° C, ditambah kalium meta bisulfit 2 gram didinginkan sampai temperatur kamar. Larutan ini ditambah 2 ml HCl jenuh dan 0,2 gram norit. Larutan dikocok 1-2 menit, kemudian disaring dengan kertas saring sampai larutan tak berwarna. Penyimpanan dilakukan ditempat yang gelap pada temperatur 4° C. Reagen Schiff sebelum digunakan diuji dengan larutan formalin.

**Cara uji larutan Schiff:**

Larutan Schiff ditetesi 10 ml larutan formalin.

Larutan Schiff baik bila terjadi perubahan warna merah dengan cepat. Reagen Schiff rusak bila perubahan lambat atau berwarna biru.

**Cara pembuatan HCl normal:**

HCl sebanyak 83,5 ml diencerkan dengan 916,5 ml air suling.

2 ml HCl jenuh = 22,08 ml HCl normal ( $2 \times 916,5 \text{ ml} : 83,5$ ).

**Cara pewarnaan PAS:**

1. Deparafinisasi : Xilol (2 x 2 menit)
2. Hidrasi : Alkohol 95% (2 x 1 menit)  
Cuci dengan air.
3. Oksidasi : Asam periodat (5 menit)  
Cuci dengan air.
4. Pewarnaan dengan reagen Schiff (15 menit).  
Cuci dengan air mengalir sampai jaringan berwarna merah muda (10 menit).
5. Pengecatan dengan Hematoksilin Harris (6 menit). Cuci dengan air mengalir.
6. Diferensiasi:  
Asam Alkohol (3-10 celup) sampai jaringan berwarna merah muda.  
Ammonium Air (3-10 celup) sampai jaringan berwarna biru kembali.

Cuci dengan air (10 celup).

7. Dehirasi:

Alkohol 95% (2 menit)

Alkohol 95% (2 menit)

Alkohol absolut (2 menit)

Alkohol absolut (2 menit)

8. Penjernihan:

Xilol (2 menit)

Xilol (2 menit)

9. Mounting:

Olesi dengan Entellan dan ditutup dengan gelas penutup.

Pewarnaan Diastase-PAS pada dasarnya sama dengan pewarnaan PAS. Bedanya, sebelum dilakukan oksidasi dengan peroksidase sediaan diinkubasi dengan enzim diastase selama 1 jam pada tempertaur  $37^{\circ}$ , kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Diastase PAS tidak menghancurkan karbohidrat yang terikat.

#### TEKNIK 4

#### PEWRNAAN RETIKULIN DENGAN IMPRGNASI PERAK (GRIDLEY)

##### Cara pembuatan larutan amoniak perak:

Tambahkan 20 tetes larutan sodium hidroksida 10% ke tabung gelas (bebas asam) yang berisi 20 ml larutan perak nitrat 5%. Kemudian tambahkan ammonium hidroksida, tetes demi tetes sampai granula yang ada di dasar tabung tinggal sedikit.

Selanjutnya tambahkan akuades sampai 60 ml. Larutan ammonium hidroksida harus baru dibuat.

#### Cara pewarnaan

1. Deparafinisasi (xilol)
2. Hidrasi (alkohol)
3. Tetesi larutan asam periodat, 15 menit
4. Cuci dengan air mengalir
5. Bilas dengan larutan 25% perak nitrat, 30 menit
6. Cuci dengan air mengalir
7. Berikan larutan amoniak perak, 15 menit
8. Cuci dengan air suling secepatnya dan segera masukkan ke larutan formalin 30%, 3 menit
9. Cuci beberapa kali dengan akuades
10. Tuangkan lavender grey dalam larutan gold chloride
11. Celupkan dalam larutan formalin 4% selama 3 menit
12. Cuci dengan air mengalir
13. Fiksasi dalam larutan sodium thiosulfat 5% 3-5 menit
14. Cuci dengan air mengalir
15. Berikan pewarna banding untuk inti (Eosin)
16. Cuci dengan air mengalir
17. Lakukan dehidrasi dengan alkohol
18. Lakukan penjernihan dengan xilol
19. Mounting dengan Entellan

LAMPIRAN 2

## PEWARNAAN RESEPTOR

## Cara Avidin-Biotin Complex (ABC)

## Bahan &amp; Reagen

1. Irisan jaringan dari balok parafin.
2. Larutan PBS depo pH 7,4.

37,6 g  $K_2HPO_4$

7,4 g  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$

36,0 g NaCl

200 ml  $H_2O$

Bila larutan PBS depo ini akan digunakan, maka 40 ml larutan PBS depo diencerkan dengan akuades sampai 1000 ml larutan.

3. Aceton.
4. Vestastain antimouse IgG Kit (Vector Lab PK-4002).
5. 10 ml larutan Diaminobenzidine DAB (3 mg DAB/ml PBS).  
Bahan ini sebelum digunakan disimpan pada temperatur dingin. DAB diduga karsinogeneik.
6. Hidrogen peroksidase.
7. Larutan 0,5 %  $CuSO_4$
8. Xilol.
9. *PPd Mounting medium*.
10. Anti androgen (antibodi poliklonal).

## 11. Hematoksilin (Meyer).

### Cara Pewarnaan ABC

1. Irisan Balok parafin jaringan dilakukan deparafinisasi (xilol).
2. Hidrasi (alkohol).
3. Dilakukan pencucian dengan PBS.
4. Menyiapkan larutan:
  - a. 6 mikroliter *biotinylated anti mouse* yang dilarutkan dalam 1 ml PBS (larutan antibodi B).
  - b. 12 mikroliter reagen A dan 12 mikroliter reagen B larutkan dalam 1 ml PBS (larutan AB Complex atau ABC). Sebelum larutan ini digunakan, didiamkan selama 3 menit.
5. Berikan larutan antibodi B (antibodi sekunder) selama 30 menit.
6. Cuci dengan PBS.
7. Berikan larutan ABC selama 45-60 menit.
8. Menyiapkan larutan DAB: 10 ml DAB dan 10 mikroliter H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dicampur. Gunakan sarung tangan pada saat melakukan pembuatan larutan, dan semua alat yang terkena DAP dicuci dengan larutan HCl.
9. Sediaan ditetesi DAB sekitar 5-10 menit (sampai timbul warna coklat).
10. Cuci dengan air mengalir.
11. Berikan 0,5 % CuSO<sub>4</sub> selama 5-10 menit.



12. Cuci dengan air mengalir.
13. Diwarnai dengan Hematoksilin (Meyer), 6 detik.
14. Melakukan deferensiasi dengan air dan amonium air.
15. Kemudian melakukan dehidrasi, penjernihan dan mounting  
PPd Mounting medium dibuat dari:  
100 mg P-Phenyldiamine Chloride dilarutkan dalam 10 ml  
PBS, pH dibuat sekitar 10-11 (dengan menambahkan 1 M  
NaOH) dan tambahan 90 ml gliserol, pH dibuat 8,6. Simpan  
dalam tempat yang gelap dengan temperatur  $-20^{\circ}\text{C}$ . Sediaan  
diamati dengan mikroskop cahaya.

LAMPIRAN 3**PEMERIKSAAN IMMUNOGLOBULIN SERUM (IgA, IgG dan IgM)**

## Cara Pemeriksaan

1. 50 mikroliter serum ditambah 1000 mikroliter NaCl fisiologis, diaduk supaya homogen (Larutan 1).
2. 20 mikroliter larutan 1 ditambah 500 mikroliter reagen (Turbiquant) IgG (untuk pemeriksaan IgG) 20 mikroliter larutan 1 ditambah 200 mikroliter reagen (Turbiquant IgM (untuk pemeriksaan. Masing-masing larutan dimasukkan cuvet dan diaduk dengan vibrator supaya homogen.
3. Standarisasi alat Turbitimer dengan reagen kontrol.
4. Sediaan dalam cuvet diperiksa kadar dengan satuan gram/liter.

LAMPIRAN 4

## FLOW CYTOMETRY TECHNICON H-1 (TH-1)

Th-1 dapat digunakan untuk:

1. Pemeriksaan darah lengkap (automated complete blood count)
2. Pemeriksaan hitung jenis (automated white blood cells defferential)
3. Pemeriksaan subset limfosit

Prinsip kerja TH-1 untuk pengukuran sel darah putih

1. Metoda: ukuran sel dan akrifitas myeloperoxidase (mean peroxidase index)
2. Pembacaan pada sitogram-mean peroxidase index
3. yang diukur: neutrofol, basofil, eosinofil, monosit, total limfosit.
4. Pelaksanaan
  - a. dibuthkan sampel 1 ml darah+EDTA (diaduk pelan-pelan), kemudian dimasukkan pada pipa penghisap TH-1 (0,5 ml).
  - b. mesin TH-1 bekerja (kurang 1 menit), hasil dapat dilihat pada layar monitor kemudian dicetak.
  - c. dapat dilihat hasil cetak pada gambar diatas.

LAMPIRAN 5**CARA PENGUKURAN LIMFOSIT T DAN SUBSETNYA**

## I. Bahan dan Alat

## I.a. Alat

- Refrigerated centrifuge (wing) yang suhunya dapat diatur, khususnya pada temperatur ruangan ( $25^{\circ}\text{C} + 5^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu ( $2-8^{\circ}\text{C}$ ).
- PH meter
- Rak tabung dan kertas label
- Tabung pemusing (15 ml) dan tabung dengan EDTA
- Ice water bath ( $0-4^{\circ}\text{C}$ )
- Vortex mixer
- Mikropipet (5 - 100 mikroliter)
- Pipet Pasteur
- Mikroskop floresen yang mempunyai filter (excite = 488nm dan emits = 518nm)
- Object glass dan cover glass

## I.b. Bahan

- Sampel darah (5-10 ml) dalam EDTA
- Dulbecco's phosphate-buffered salin (PBS with serum) atau normal salin (PH 7.2-7.4)
- Ficoll-Hypaque (1.077 gr/ml)

- Aquades
- Reagen OKT4 dan OKT8 dengan fluorescein isothiocyanate (FITC)

## II. Cara Penyiapan Sediaan Limfosit

### 1. Penyiapan Sediaan Limfosit

- a. Sampel darah dengan EDTA (5-10 ml)
- b. Sampel darah dipusingkan dengan tabung sentrifusi 15 ml, kecepatan 2000 rpm, selama 15 menit dengan temperatur ruangan (25°C).
- c. Pengambilan lapisan *buffy coat*: Buang plasma dengan pipet Pasteur. Ambil lapisan *buffy coat* dengan pipet Pasteur dan ditempatkan pada tabung yang lain yang telah disiapkan dengan Dulbecco's Phosphate buffered saline (PBS dengan serum), tetapi dapat menggunakan normal saline (NS) dengan PH = 7.2-7.4 kira-kira 2 kali volume *buffy coat*.
- d. Siapkan tabung lain (15 ml) dengan 2 ml Ficoll-Hypaque (FH) dengan konsentrasi 1.077 gr/ml
- e. Tuangkan *buffy coat* yang telah ditambahkan PBS atau NS pelan-pelan dengan pipet Pasteur pada dinding tabung yang berisi Ficoll-Hypaque
- f. Selanjutnya, tabung FH dengan *buffy coat* dipusingkan: Kecepatan 3000-4000 rpm, selama 5-10 menit dengan temperatur ruangan. Timbul lapisan limfosit (berupa lapisan mirip awan).

- g. Pengambilan lapisan limfosit: Buang lapisan paling atas yang berisi sisa plasma dan larutan PBS atau NS. Ambil lapisan limfosit dengan pipet Pasteur, hati-hati jangan lapisan trombosit diatasnya. Lapisan limfosit tersebut dimasukkan dalam tabung lain.
- h. Pencucian lapisan limfosit. Pencucian dilakukan dengan menambahkan PBS atau NS sebanyak 5 ml, kemudian dipusingkan 3000-4000 rpm selama 5 menit (dilakukan 2 kali). Selanjutnya tuang larutan PBS atau NS untuk disisakan endapan suspensi limfosit.

## 2. Penglabelan Limfosit

- a. Tambahkan endapan suspensi limfosit dengan Pbs atau NS sebanyak 300 mikroliter, kemudian di vortex mixer.
- b. Setelah itu, bagi menjadi 3 yang masing-masing 100 mikroliter pada tabung yang berlabel OKT4, OKT8.
- c. Masing-masing tabung yang berlabel tersebut diberikan reagen OKT4 dan OKT8 sebanyak 10 mikroliter.
- d. Diinkubasi dalam ice water bath selama 15-30 menit.
- e. Setelah diinkubasi, kemudian tambahkan PBS atau NS yang dingin (2-8 °C) sebanyak 5 ml.
- f. Siapkan pemusing dalam suhu 2-8<sup>PO</sup>C.
- g. Pemusingan dilakukan selama 5 menit dengan kecepatan 3000-4000 rpm.
- h. Buang supernatan dan ulangi sekali lagi.
- i. Buang supernatan, kemudian buat masing-masing tabung

endapan suspensi limfosit tersebut sebesar 100 mikroliter dengan PBS atau NS dingin dan di vortex mixer supaya konsentrasinya homogen.

j. Dilakukan pengukuran pada mikroskop floresen.

3. Pelaksanaan Pengukuran Rasio Th dan Ts Terhadap Jumlah Total Limfosit

a. Ambil suspensi limfosit 10 mikroliter deletakkan diatas object glass dan tutup dengan cover glass.

b. Dipilih lima tembat lapang pandang pada sediaan.

c. Penghitungan :

- Tiap lapang pandang dihitung jumlah limfosit dengan mikroskop cahaya biasa (13.5 volt), kemudian cahaya biasa dimatikan dan dibuka tutup filter cahaya ultra violet untuk dihitung jumlah limfosit yang berpendar floresen.

- Penentuan jumlah limfosit yang dihitung, yaitu jumlah limfosit dalam luas lapang pandang mikroskop. sedangkan limfosit yang tampak  $\frac{3}{4}$  penampang sel dan  $\frac{1}{2}$  penampang sel yang letaknya pada separuh lapang pandang sebelah kanan pengamat dimasukkan dalam hitungan. Tetapi separuh lapang pandang sebelah kiri pengamat yang terlihat  $\frac{1}{2}$  penampang sel tidak dimasukkan hitungan.

- Ke lima hasil rasio: sel berpendar/total limfosit dijumlah dan dibagi lima.

LAMPIRAN 6**PEMERIKSAAN LUTEINIZING HORMONE (LH)****PRINSIP PROSEDUR:**

IMx LH assay berdasarkan pada teknologi Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA).

Reagens IMx LH dan sampel ditambahkan pada sel reaksi dengan urutan sebagai berikut:

- \* Probe/elektroda menyalurkan sampel, sample diluent dan anti-beta LH Coated Microparticles ke dalam 'incubation well' sel reaksi.
- \* LH terikat pada Anti-beta LH Coated Microparticles membentuk 'antibody-antigen complex'.
- \* Aliquot dari campuran reaksi yang mengandung 'antibody-antigen complex' yang terikat pada microparticles ditransfer pada glass fiber matrix. Microparticles terikat secara irreversibel pada glass fiber matrix.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Anti-alfa LH subunit specific Alkaline Phosphatase Conjugate dimasukkan ke dalam matrix dan terikat pada 'antibody-antigen complex'.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Substrat 4-Methylumbelliferyl Phosphate ditambahkan ke



dalam matrix dan terjadi fluoresensi yang diukur dengan MEIA optical assembly.

REAGENS:

Reagens IMx LH (No. 2239-20) terdiri dari:

1. 1 botol (6,5 ml) Anti-LH (Mouse, monoclonal) Coated Microparticles dalam buffer.

Presevatif: 0,1% Sodium Azide.

2. 1 botol (8,5 ml) Anti-LH (Goat): Alkaline Phosphatase Conjugate dalam buffer dengan protein stabilizer.

Konsentrasi minimum: 0,5 mikrogram/ml.

3. 1 botol (10 ml) 4-Methylumbelliferyl Phosphate, 1,2 mM dalam buffer.

Preservatif: 0,1% Sodium Azide

Reagens IMx LH (No. 2239-20) termasuk IMx LH Reagent Pack (100 test) dan sel reaksi (masing-masing 100).

LAMPIRAN 7**PEMERIKSAAN ESTRADIOL****PRINSIP PROSEDUR:**

IMx Estradiol assay berdasarkan pada teknologi Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA).

Reagens IMx Estradiol dan sampel ditambahkan pada sel reaksi dengan urutan sebagai berikut:

- \* Probe/elektroda menyalurkan sampel, Anti-Estradiol (Rabbit, polyclonal) Coated Microparticles dan buffer yang mengandung surfaktan ke dalam 'incubation well' sel reaksi membentuk suatu Antibody-Estradiol complex.
- \* Aliquot dari campuran reaksi yang mengandung estradiol yang terikat pada Anti-Estradiol Coated Microparticles ditransfer pada glass fiber matrix. Microparticles terikat secara irreversibel pada glass fiber matrix.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Estrogen-Alkaline Phosphatase Conjugate dimasukkan ke dalam matrix dan terikat pada 'antibody binding sites' yang masih belum terisi.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Substrat 4-Methylumbelliferyl Phosphate ditambahkan ke dalam matrix dan terjadi fluoresensi yang diukur dengan

MEIA optical assembly.

REAGENS:

Reagens IMx Estradiol 100 test (No. 2215-200) terdiri dari:

1. 1 botol (6,5 ml) Anti-Estradiol (Rabbit, polyclonal) Coated Microparticles dalam buffer dengan protein stabilizer.

Presevatif: 0,1% Sodium Azide.

2. 1 botol (10 ml) Estrogen-Alkaline Phosphatase Conjugate dalam buffer dengan protein stabilizer. Konsentrasi minimum: 1 mikrogram/ml.

3. 1 botol (10 ml) 4-Methylumbelliferyl Phosphate, 1,2 mM dalam buffer.

Preservatif: 0,1% Sodium Azide

4. 1 botol (13 ml) buffer mengandung surfaktan.

Preservatif: 0,1% Kathon.

LAMPIRAN 8**PEMERIKSAAN PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN (PSA)****PRINSIP PROSEDUR:**

IMx PSA assay berdasarkan pada teknologi Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA).

Reagens IMx LH dan sampel ditambahkan pada sel reaksi dengan urutan sebagai berikut:

- \* Probe/elektroda menyalurkan sampel, Anti-PSA Coated Microparticles dan Assay Diluent ke dalam 'incubation well' sel reaksi.
- \* Selama masa inkubasi campuran reaksi ini, PSA pada sampel terikat pada Anti-PSA Coated Microparticles membentuk 'antibody-antigen complex'.
- \* Aliquot dari campuran reaksi yang mengandung 'antibody-antigen complex' yang terikat pada microparticles ditransfer pada glass fiber matrix. Microparticles terikat secara irreversibel pada glass fiber matrix.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Anti-PSA: Alkaline Phosphatase Conjugate dimasukkan ke dalam matrix dan terikat pada 'antibody-antigen complex'.
- \* Matrix dicuci untuk menghilangkan bahan-bahan yang tak terikat.
- \* Substrat 4-Methylumbelliferyl Phosphate ditambahkan ke dalam matrix dan terjadi fluoresensi yang diukur dengan MEIA optical assembly.

## REAGENS:

Reagens IMx PSA 100 Tes (No. 2245-20) terdiri dari:

1. 1 botol (5,8 ml) Anti-PSA (Mouse, monoclonal) Coated Microparticles dalam buffer.

Presevatif: 0,1% Sodium Azide.

2. 1 botol (9,8 ml) Anti-PSA (Goat): Alkaline Phosphatase Conjugate dalam buffer dengan protein stabilizer. Konsentrasi minimum: 0,1 mikrogram/ml.

Preservatif: Bahan antimikrobia.

3. 1 botol (10 ml) 4-Methylumbelliferyl Phosphate, 1,2 mM dalam buffer.

Preservatif: 0,1% Sodium Azide

4. 1 botol (14 ml) Assay Diluent, buffered calf serum dengan protein stabilizer.

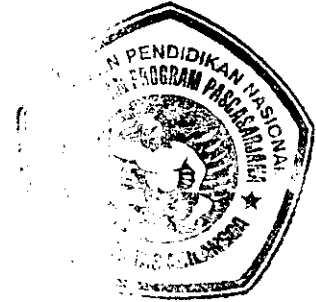
Preservatif: 0,1% Sodium Azide dengan bahan antimikrobia.

LAMPIRAN 9

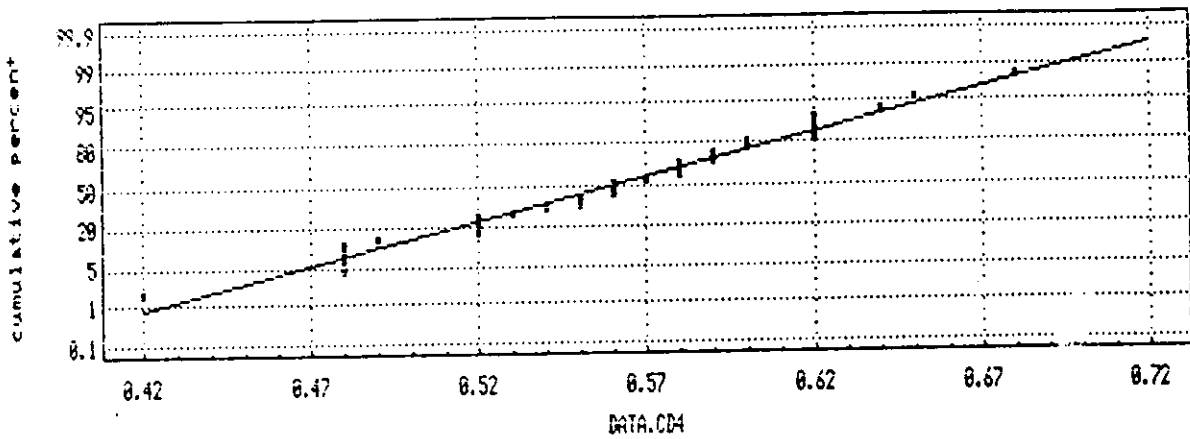
ANALISIS STATISTIK

9.1 Hasil uji randomisasi

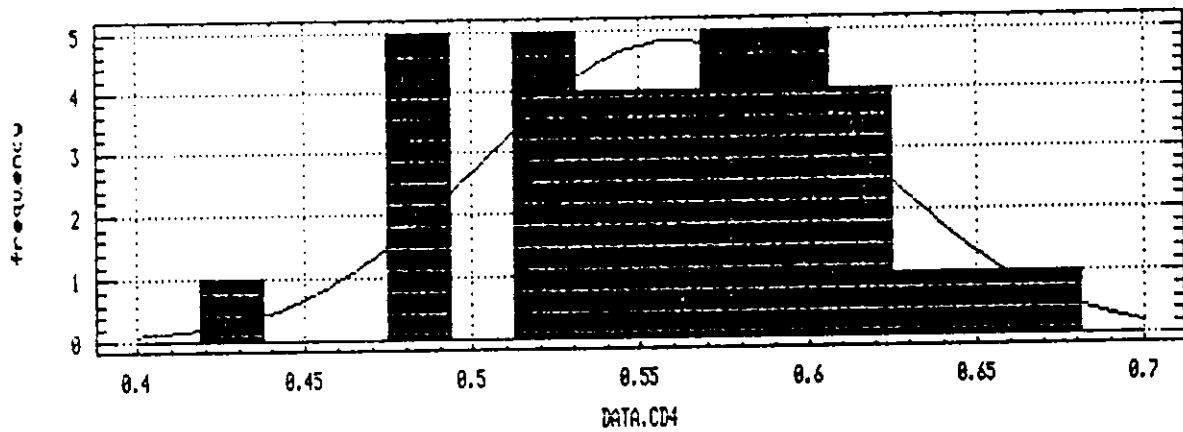
ates KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.0644607  
 ates KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0916458  
 ates overall statistic DN = 0.0916458  
 oriate significance level = 0.922943



Normal Probability Plot

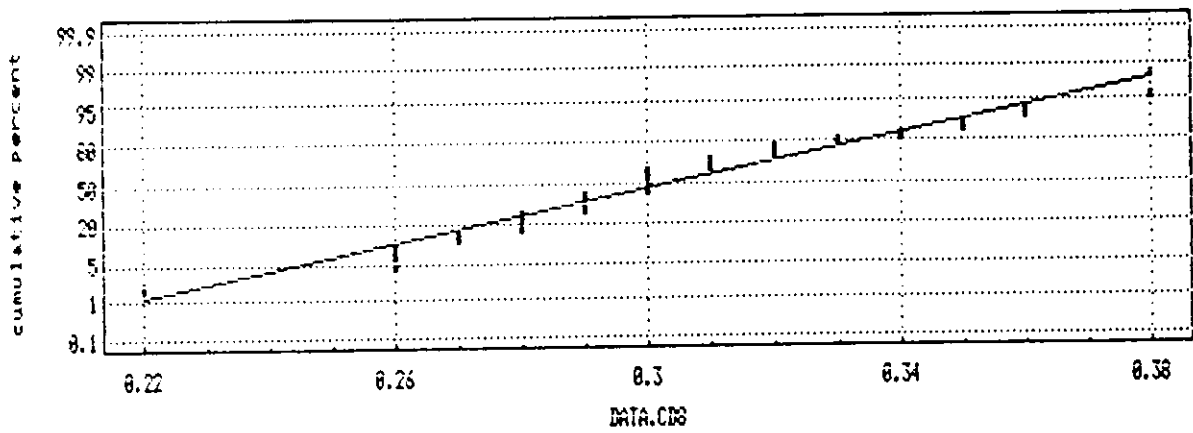


Frequency Histogram

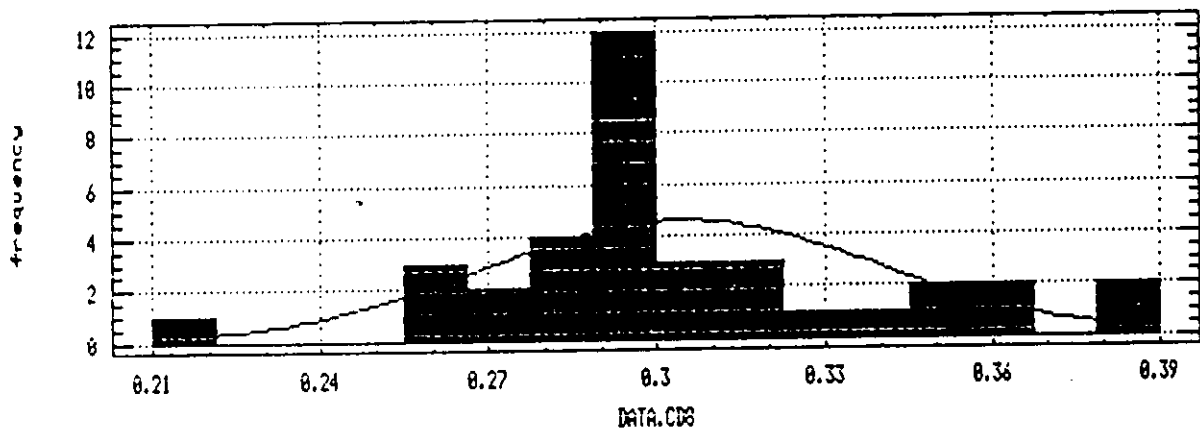


ated #OLMDEOROV statistic DPLUS = 0.158172  
ated #OLMDEOROV statistic DMINUS = 0.0797815  
ated overall statistic DN = 0.158172  
ate significance level = 0.328674

Normal Probability Plot

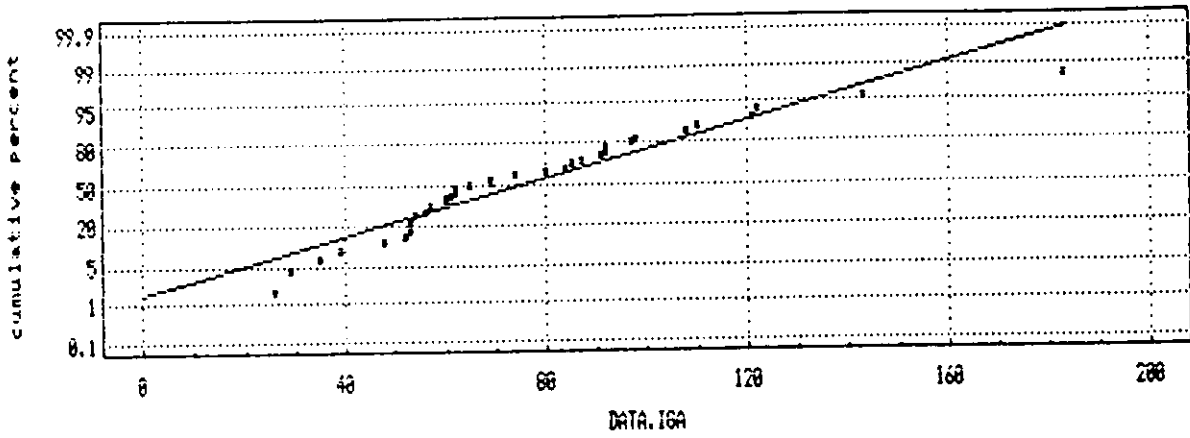


Frequency Histogram

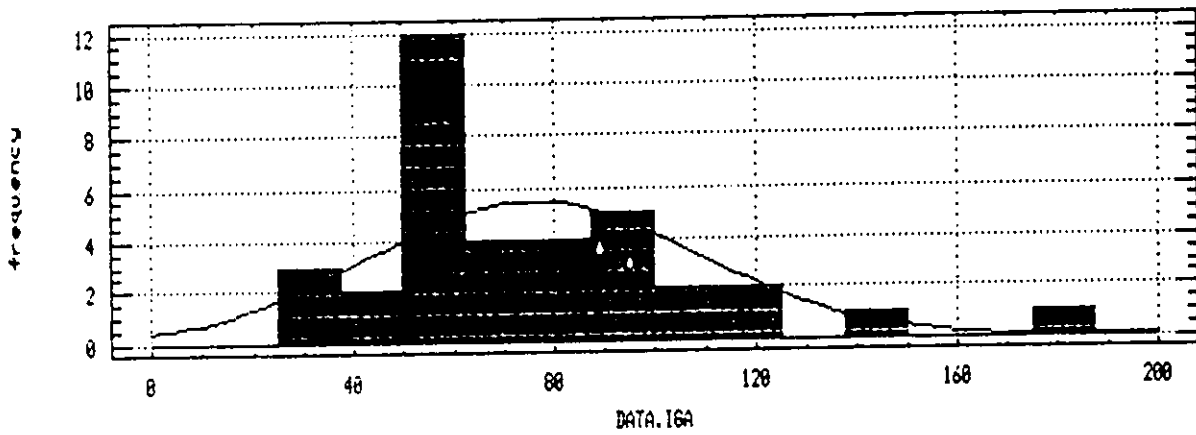


ated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.178235  
ated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0343953  
ated overall statistic DN = 0.139235  
xiate significance level = 0.497116

Normal Probability Plot



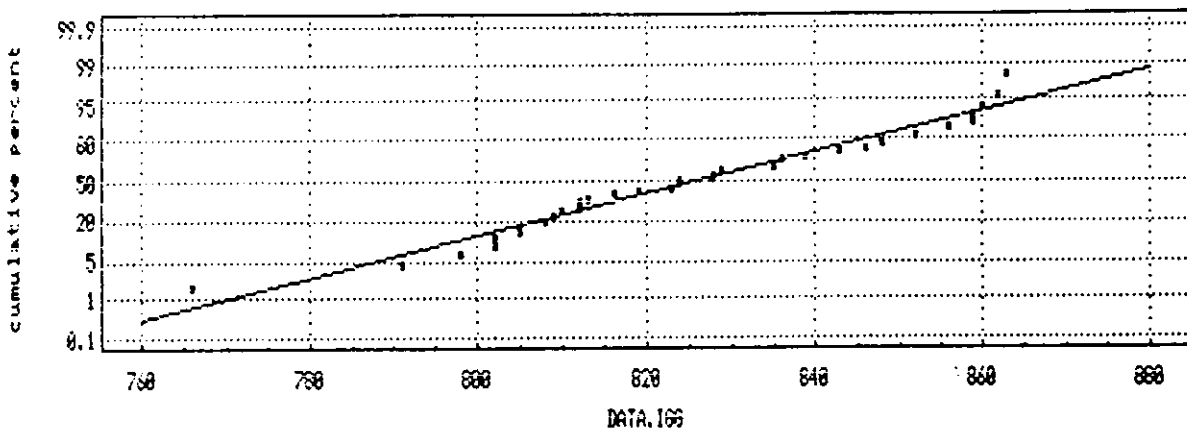
Frequency Histogram



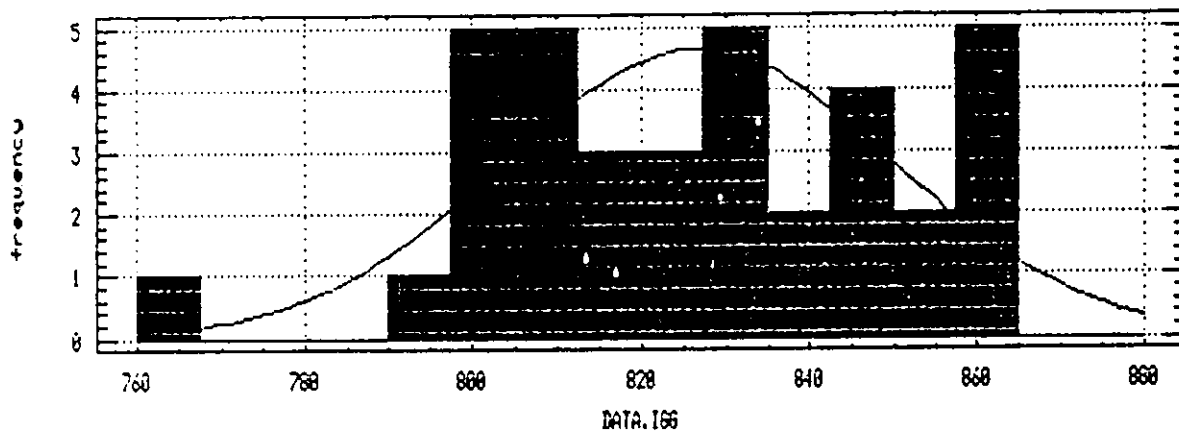


Date: 13JUN2009 statistic DPLUS = 0.0849182  
 Date: 13JUN2009 statistic DMINUS = 0.0733978  
 Date: overall statistic DN = 0.0849182  
 Approximate significance level = 0.957535

Normal Probability Plot

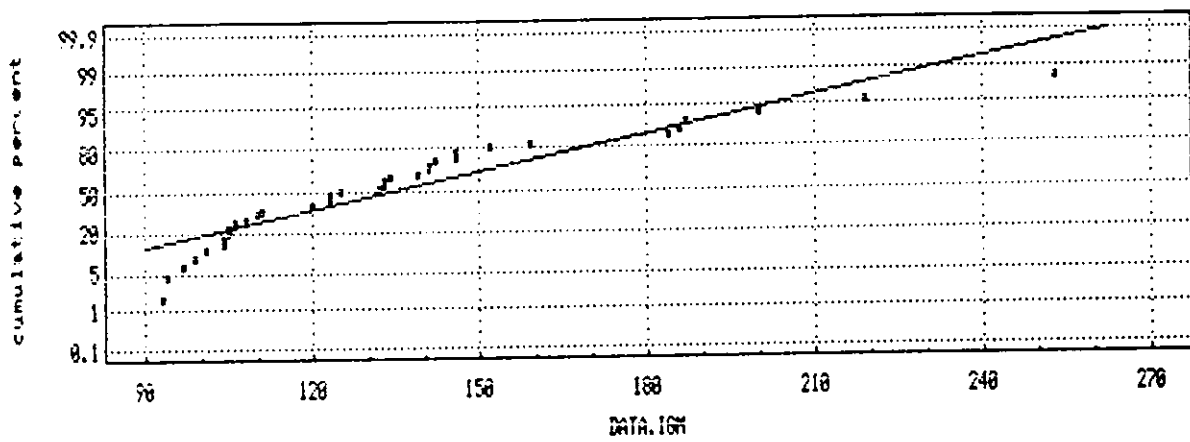


Frequency Histogram

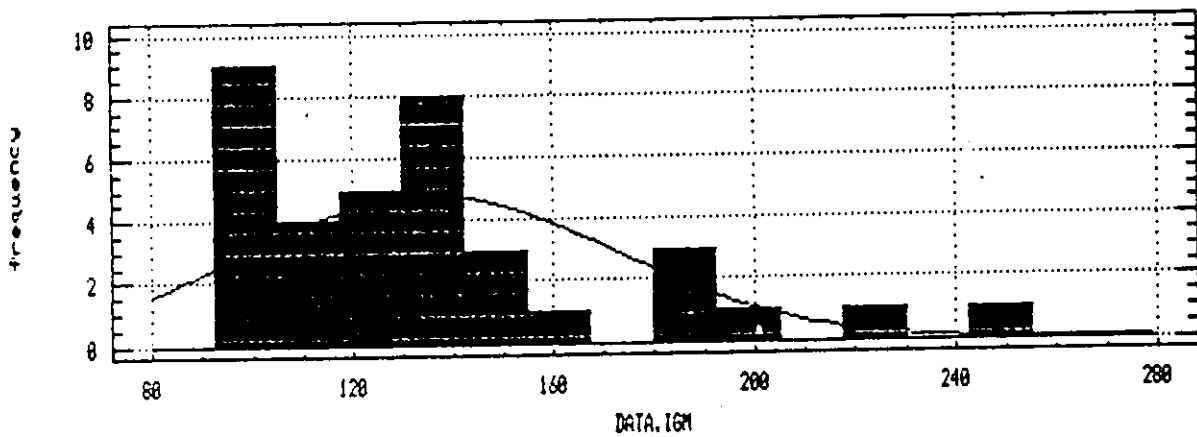


ated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.167005  
 ated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.127411  
 ated overall statistic DN = 0.167005  
 ate significance level = 0.26783

Normal Probability Plot

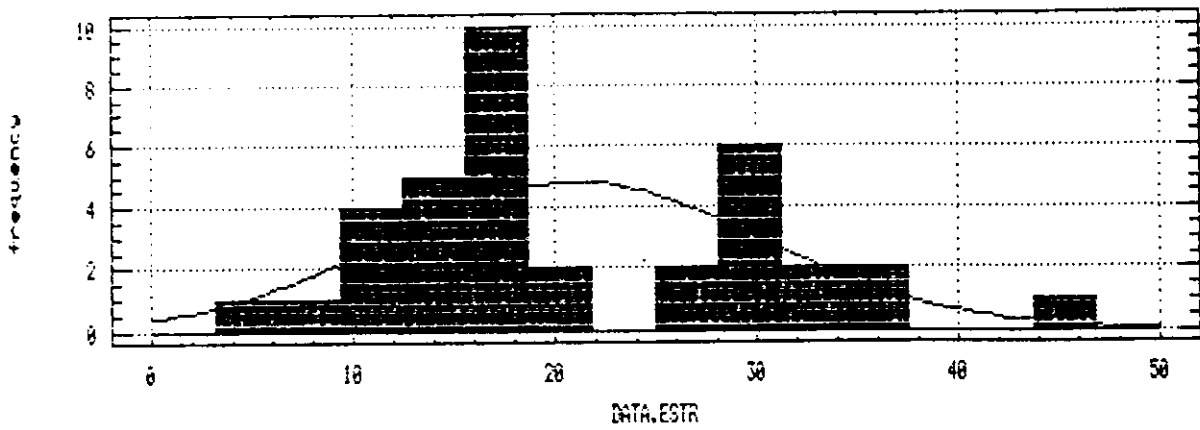


Frequency Histogram

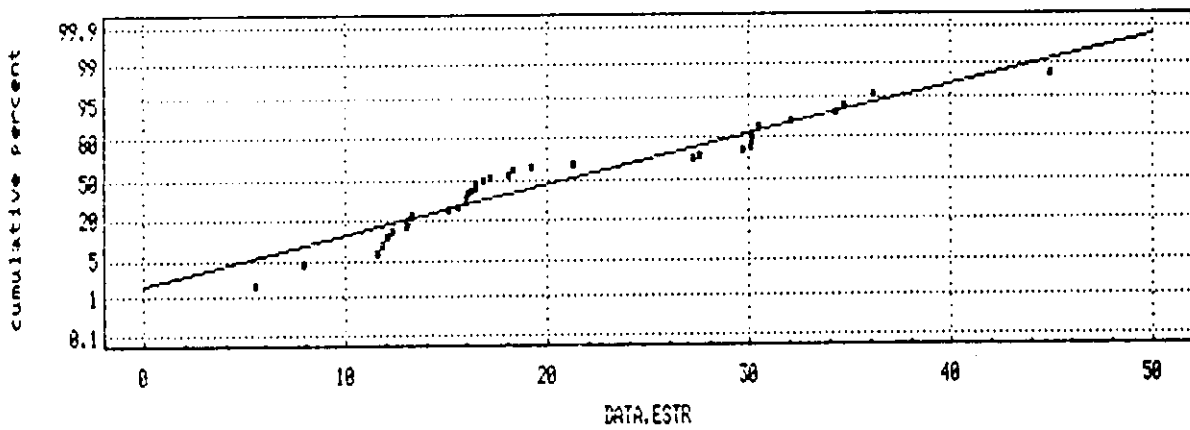


ated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.198853  
ated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.128494  
ated overall statistic DN = 0.198853  
ximate significance level = 0.116006

Frequency Histogram

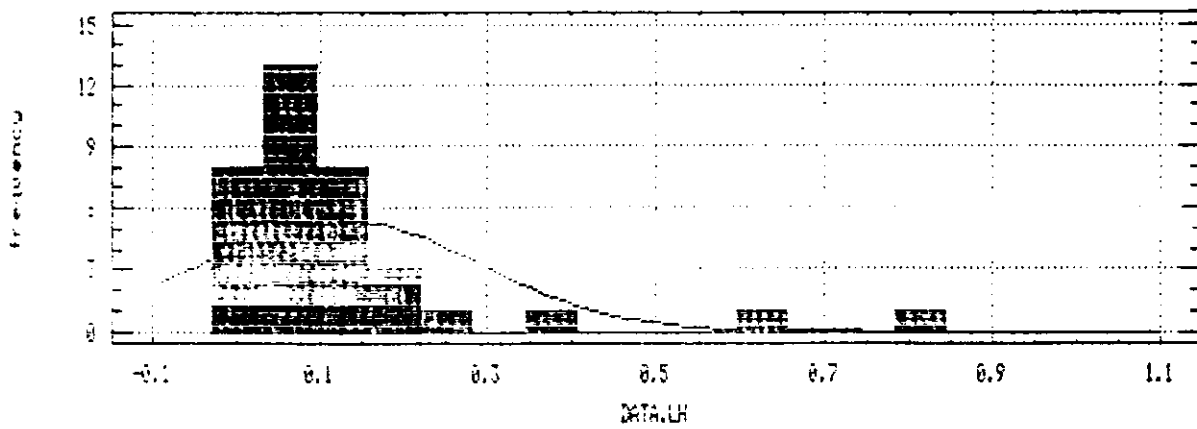


Normal Probability Plot

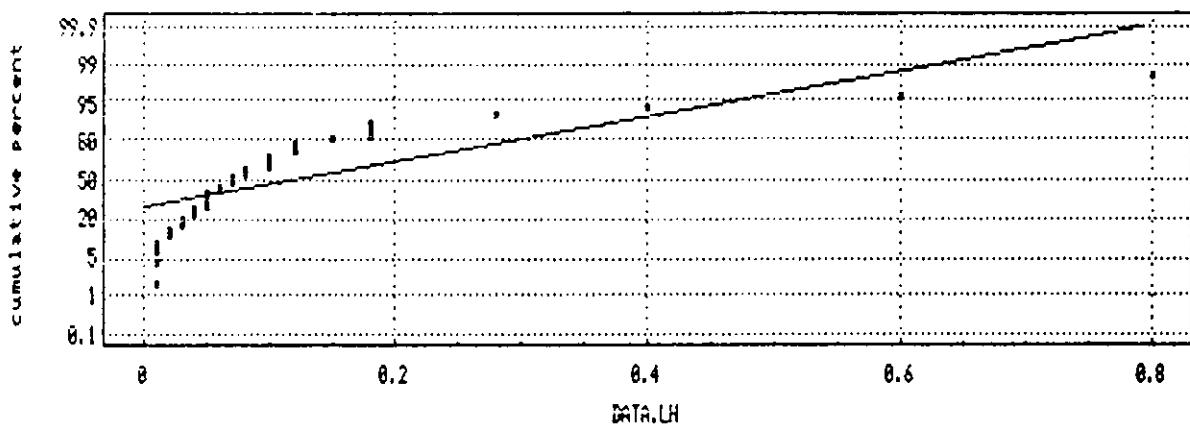


ated Kolmogorov statistic DPLUS = 0.285874  
 ated Kolmogorov statistic DMINUS = 0.245137  
 ated overall statistic DN = 0.285874  
 rimate significance level = 5.56552E-3

Frequency Histogram

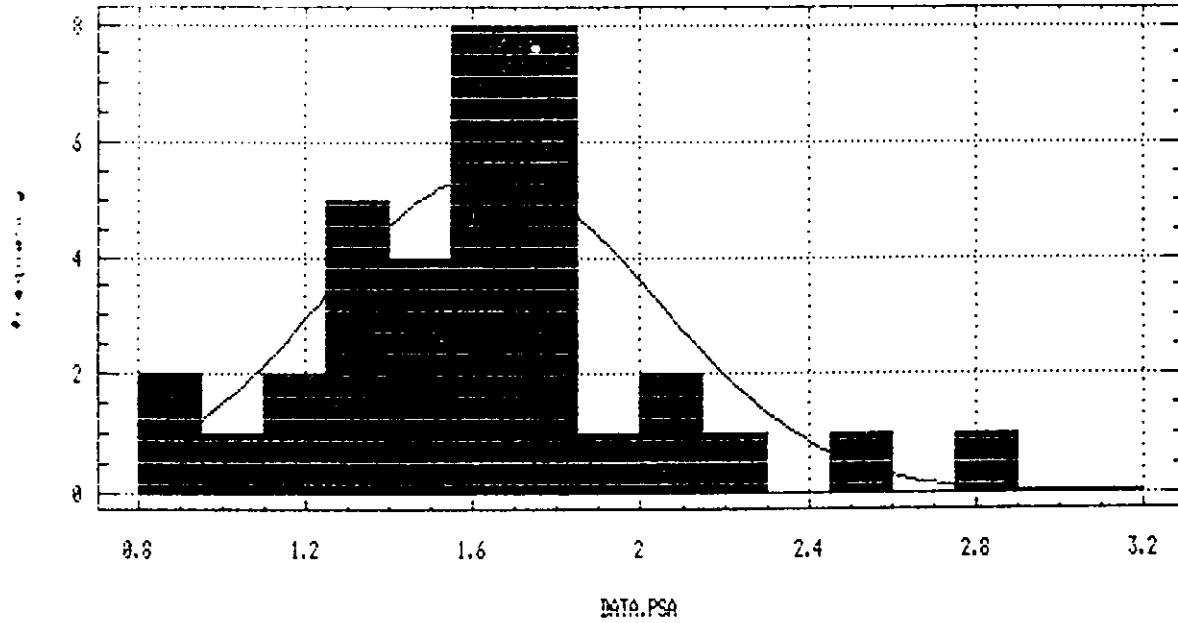


Normal Probability Plot

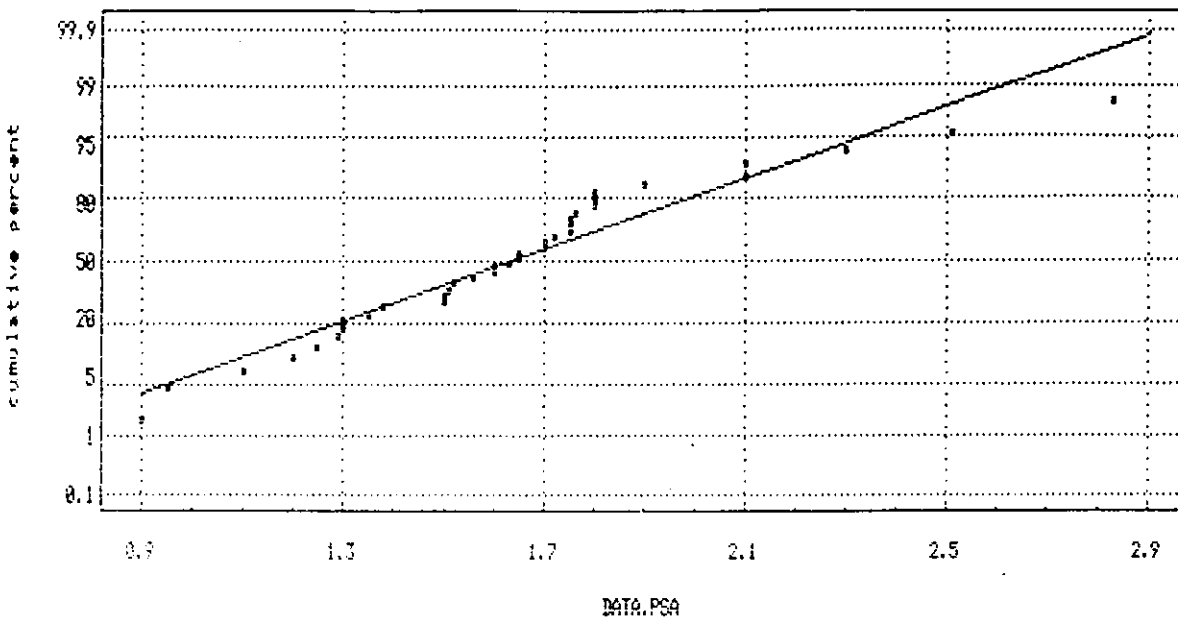


Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.175635  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0848344  
 Estimated overall statistic DN = 0.175635  
 Approximate significance level = 0.216715

Frequency Histogram

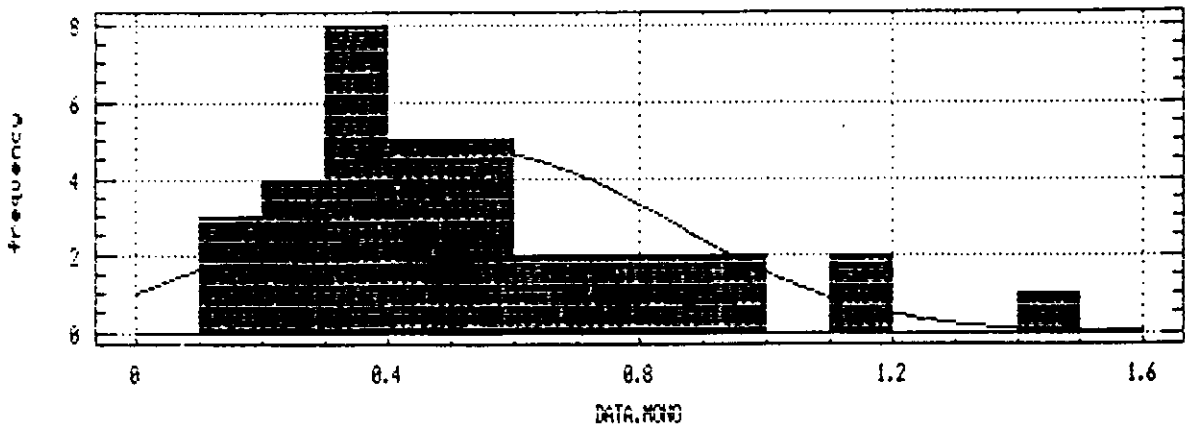


Normal Probability Plot

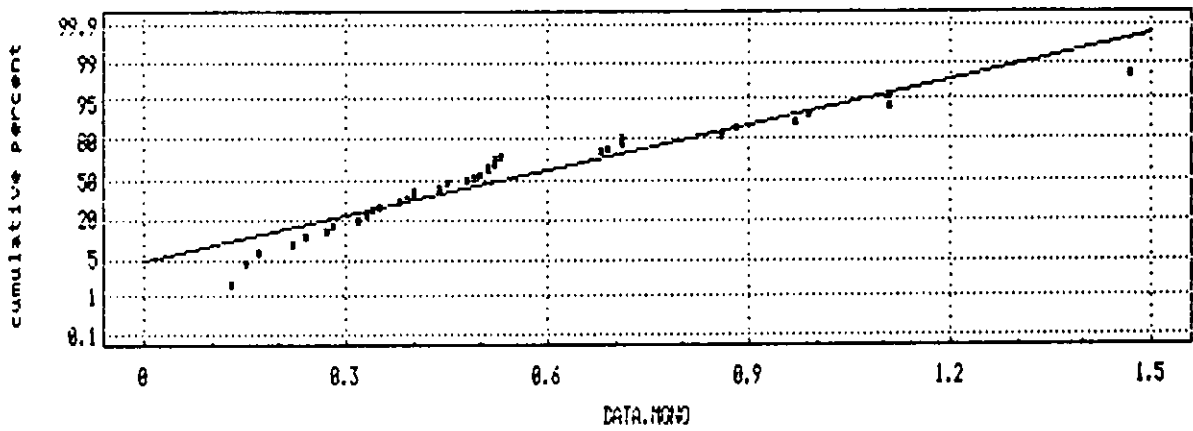


Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.209615  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0898244  
 Estimated overall statistic DN = 0.209615  
 approximate significance level = 0.0345431

Frequency Histogram

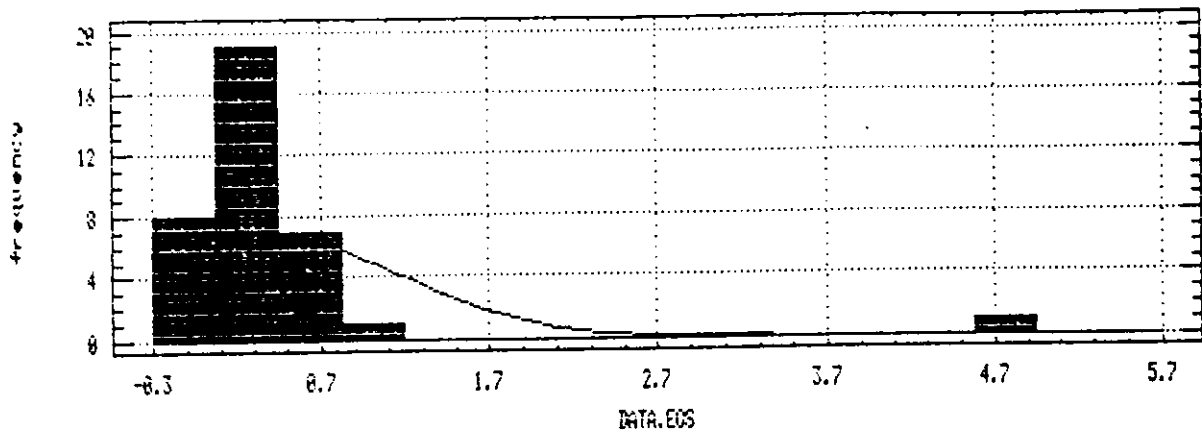


Normal Probability Plot

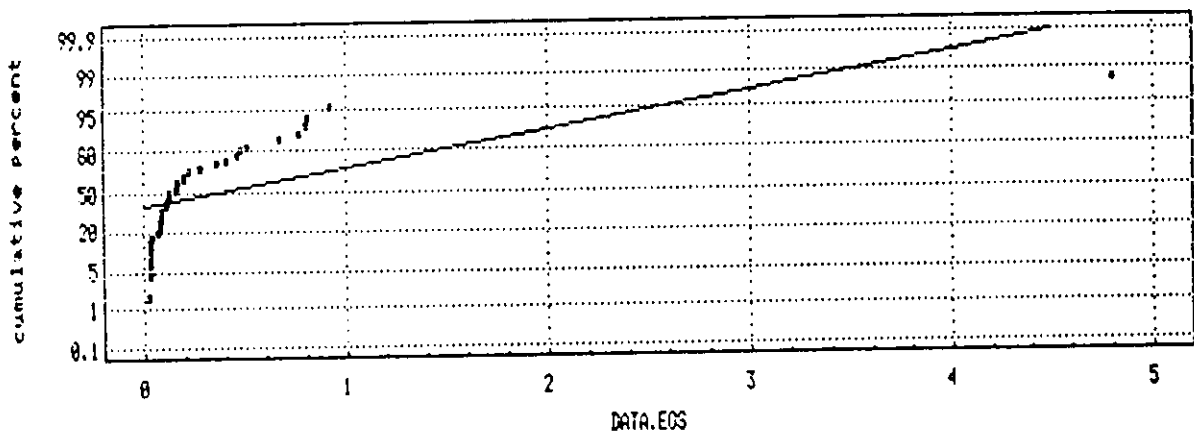


eated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.269091  
 eated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.326181  
 eated overall statistic DN = 0.326181  
 roximate significance level = 9.42257E-4

Frequency Histogram

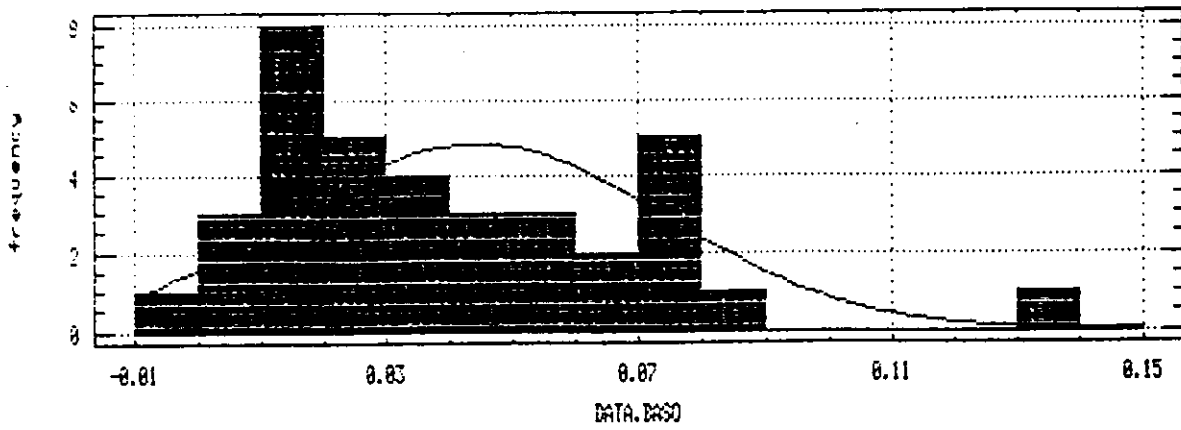


Normal Probability Plot

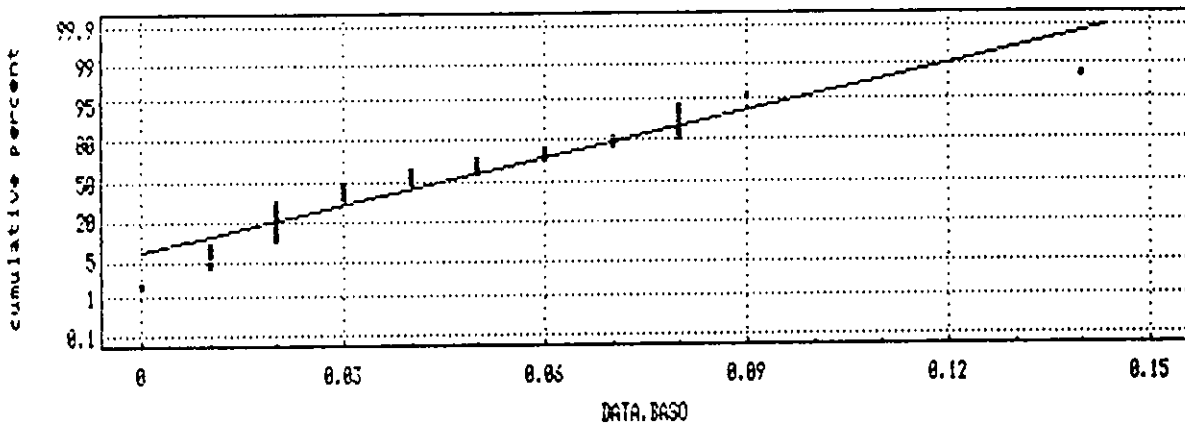


ated NORMSCORE statistic DPLUS = 0.158263  
ated NORMSCORE statistic DMINUS = 0.0961211  
ated overall statistic DN = 0.158263  
ate significance level = 0.328008

Frequency Histogram



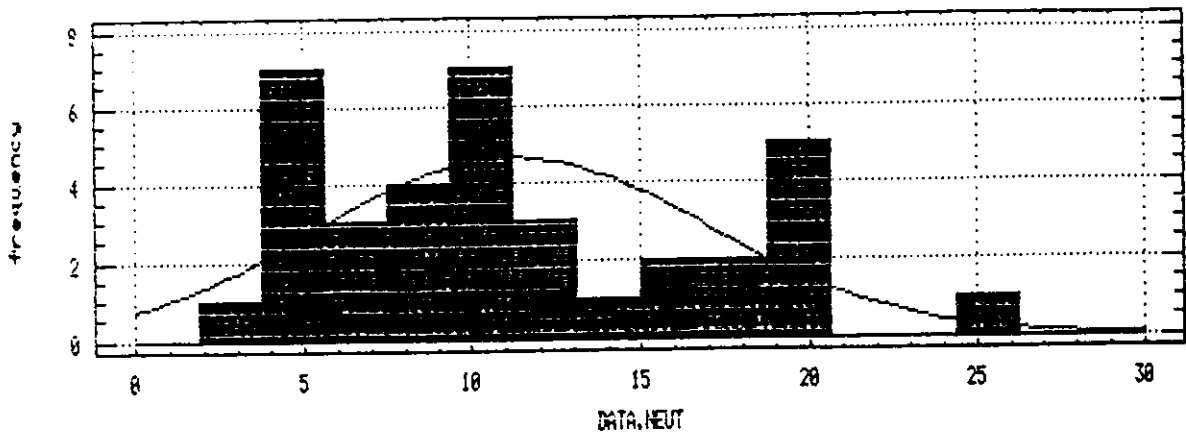
Normal Probability Plot



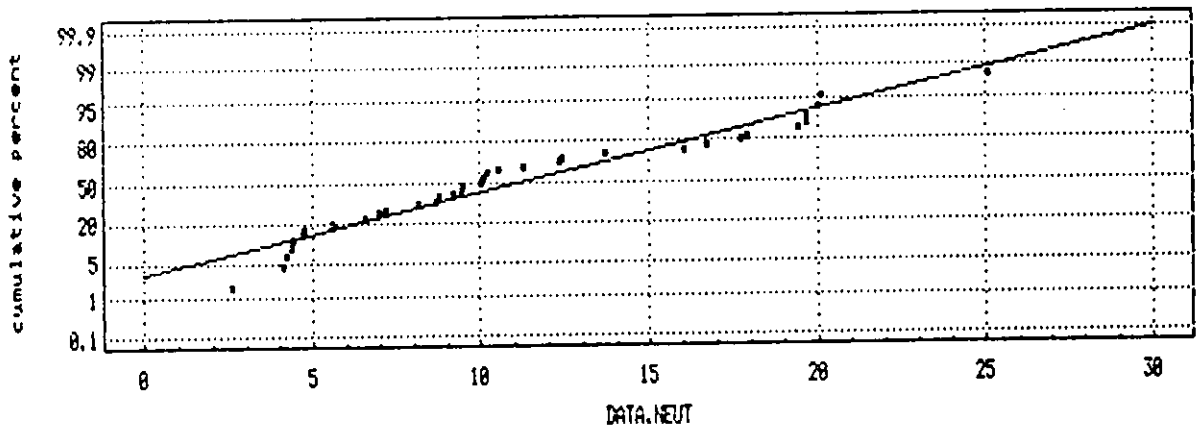


estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.153567  
estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0920885  
estimated overall statistic DN = 0.153567  
approximate significance level = 0.363865

Frequency Histogram

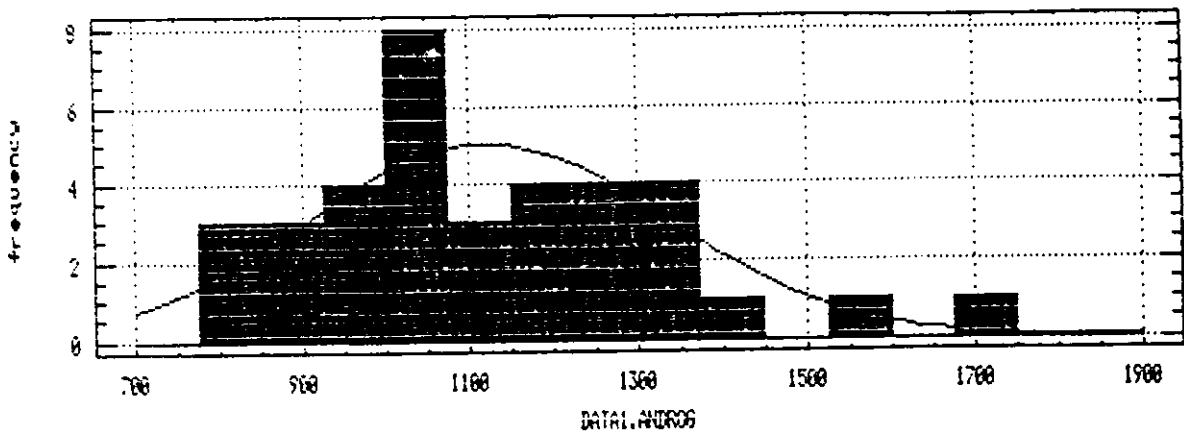


Normal Probability Plot

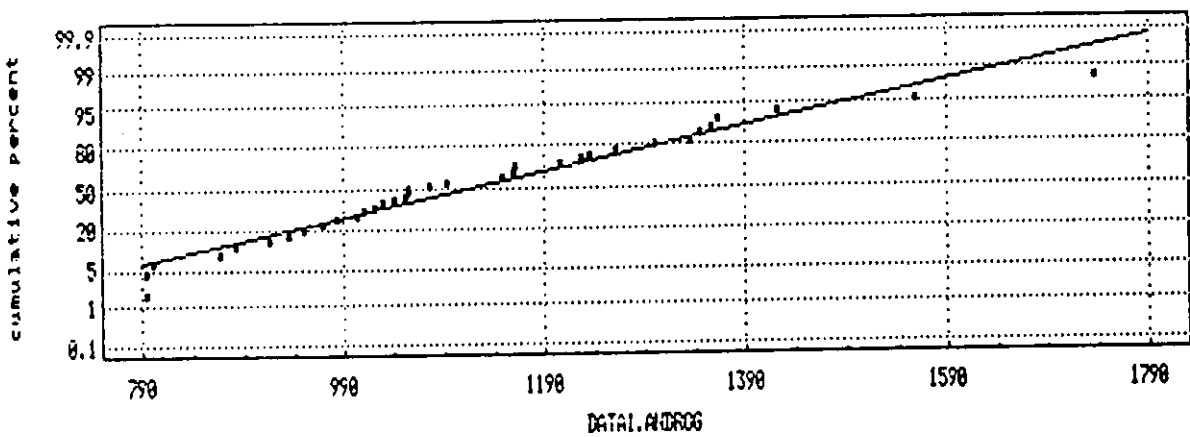


tested KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.118459  
 limited KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0645351  
 tested overall statistic DN = 0.118459  
 approximate significance level = 0.693269

Frequency Histogram

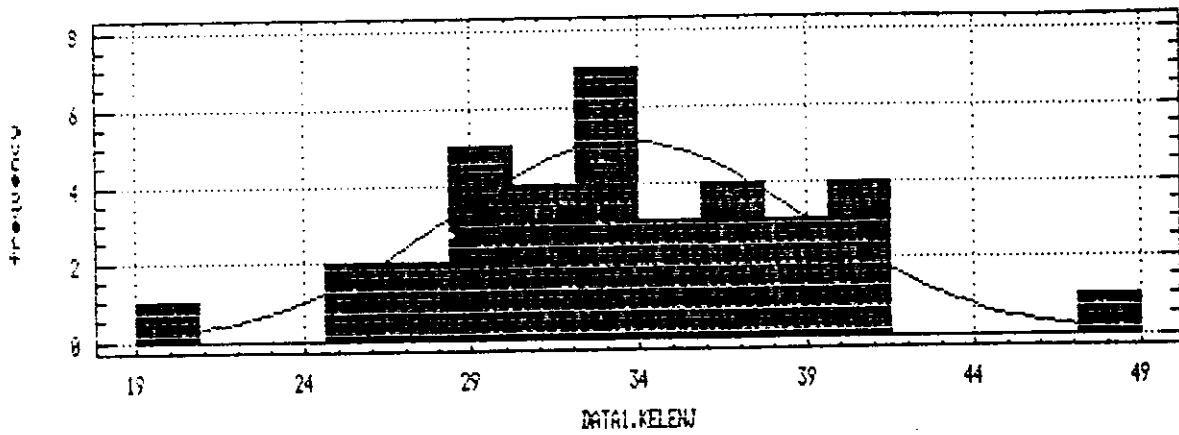


Normal Probability Plot

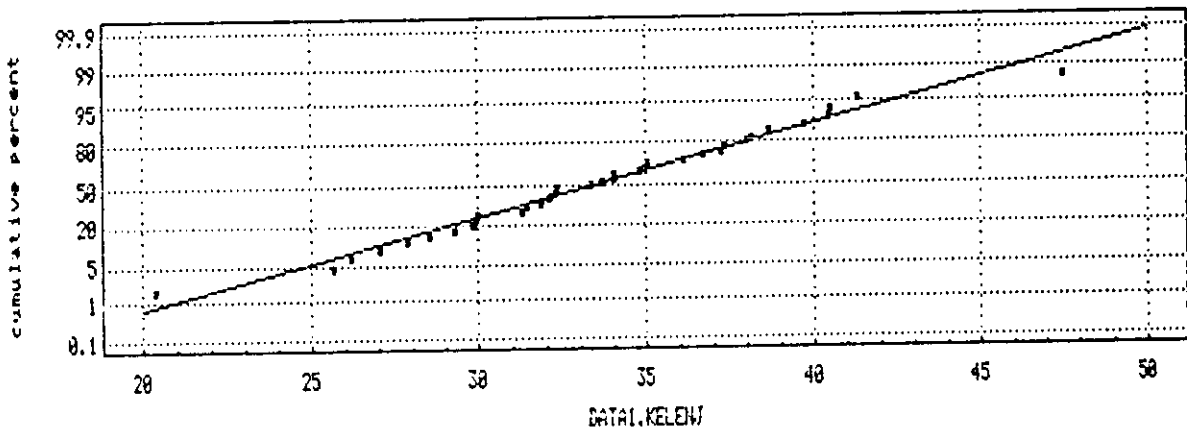


aated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.066513  
 aated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0530276  
 aated overall statistic DN = 0.066513  
 approximate significance level = 0.997284

Frequency Histogram

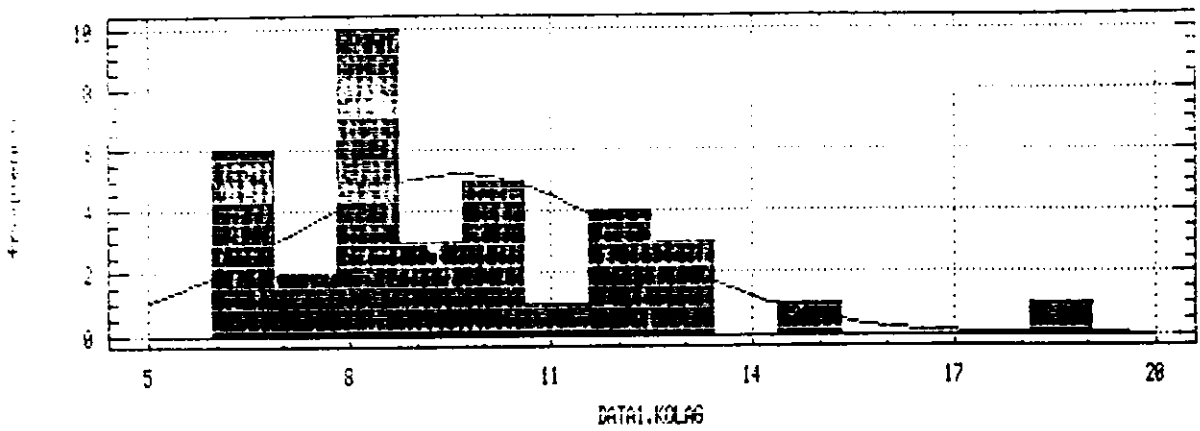


Normal Probability Plot

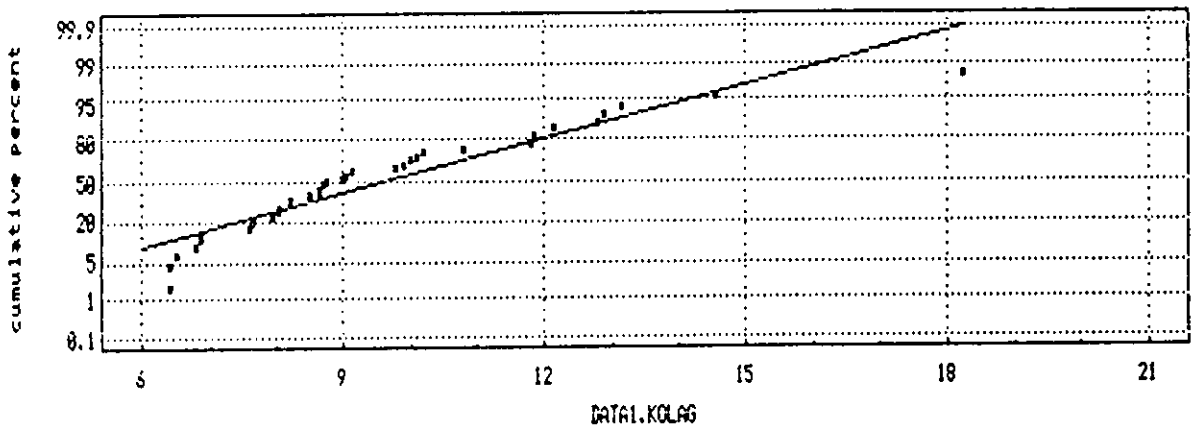


estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.154229  
estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.107322  
estimated overall statistic DN = 0.154229  
approximate significance level = 0.358659

Frequency Histogram

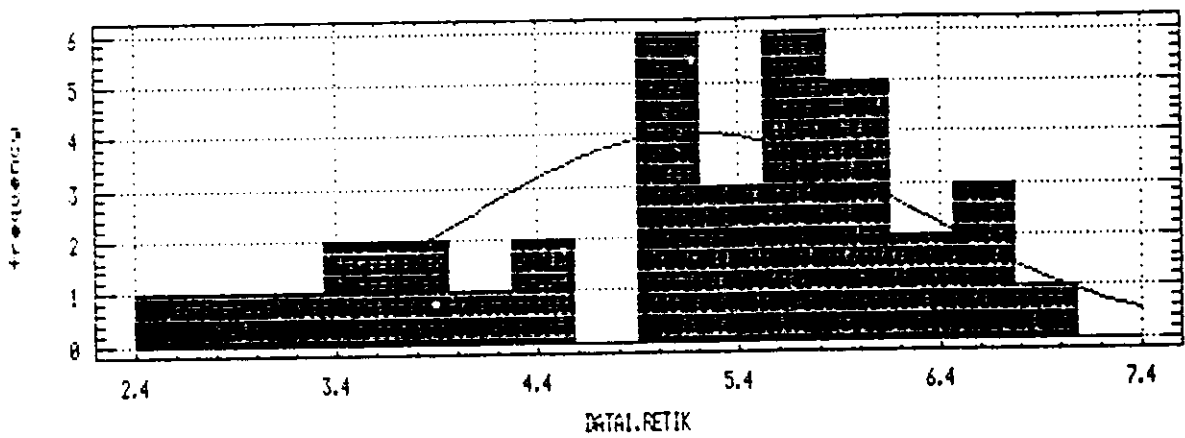


Normal Probability Plot

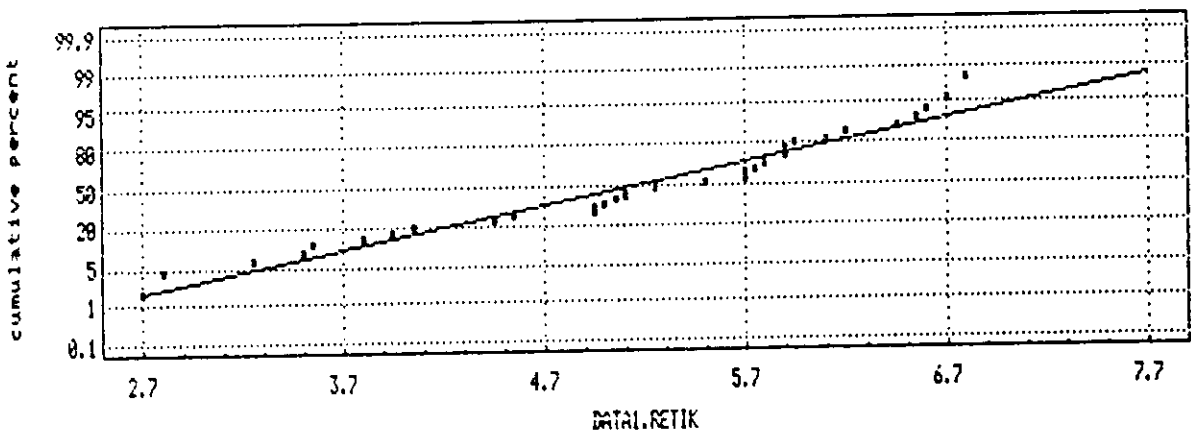


tested KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.0718446  
 tested KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.154204  
 tested overall statistic DN = 0.154204  
 approximate significance level = 0.358354

Frequency Histogram

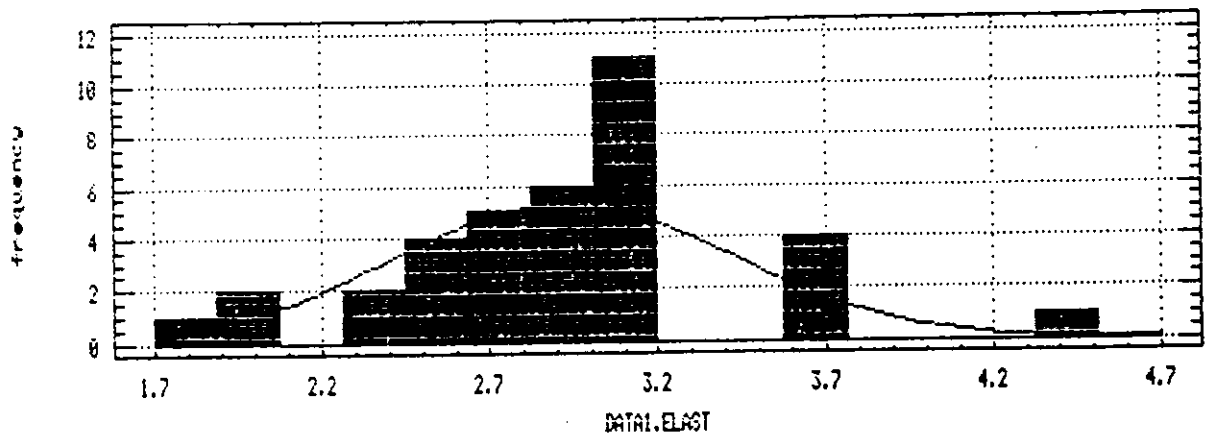


Normal Probability Plot

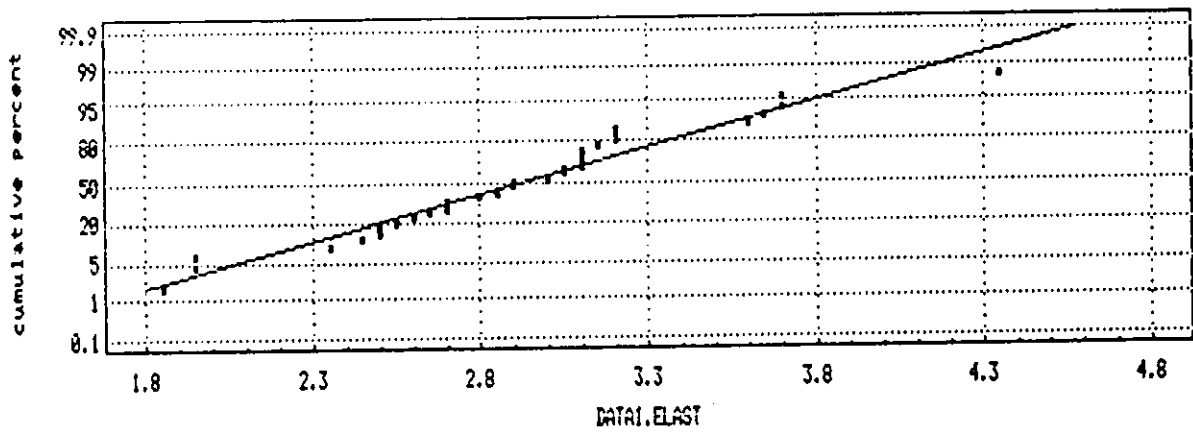


Estimated Kolmogorov statistic DPLUS = 0.152826  
 Estimated Kolmogorov statistic DMINUS = 0.0683133  
 Estimated overall statistic DN = 0.152826  
 Approximate significance level = 0.369747

Frequency Histogram

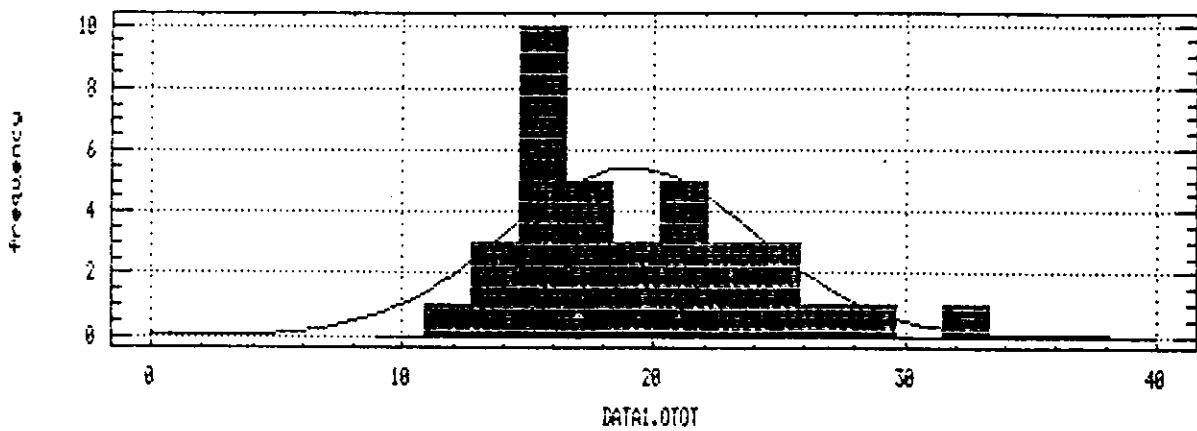


Normal Probability Plot

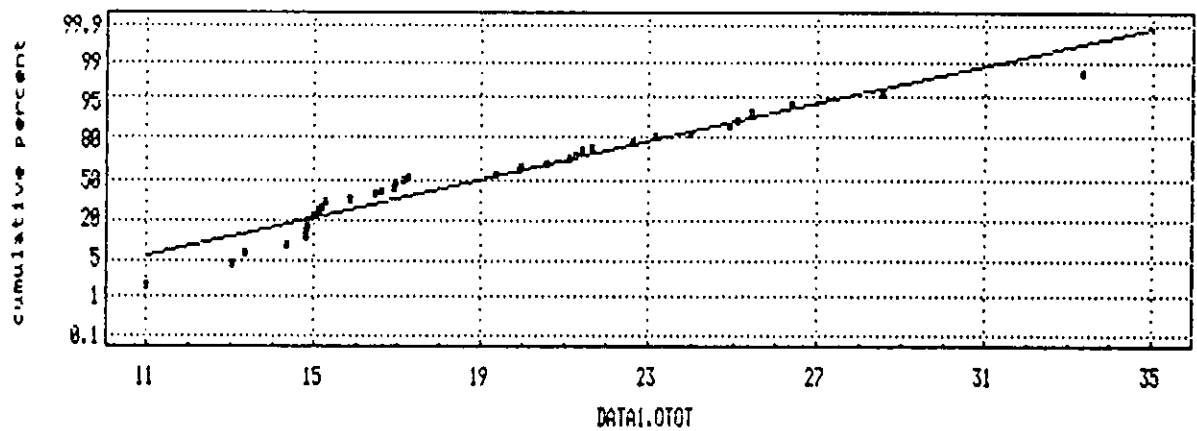


eated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.172341  
 eated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0868327  
 eated overall statistic DN = 0.172341  
 approximate significance level = 0.235276

Frequency Histogram



Normal Probability Plot



## 9.2 Hasil Uji Perbedaan Variabel Pada Bagian Perifer dan Medial Kelenjar Prostat

MAN ANDROGEN KELENJAR KOLAGEN RETIKUL ELASTIK OTOT BY GROUP(1,3) POSISI(1,2)/  
 pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

4/1

72 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 6 non-empty cells.

1 design will be processed.

Variable	CELL NUMBER					
	1	2	3	4	5	6
GROUP	1	1	2	2	3	3
POSISI	1	2	1	2	1	2

### Cell Means and Standard Deviations

Variable .. ANDROGEN

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	1184.333	228.246	12	1039.313	1329.354
POSISI	SERAT TENGAH	1196.250	255.876	12	1033.674	1358.826
GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	1174.500	211.322	12	1040.233	1308.767
POSISI	SERAT TENGAH	1245.333	186.281	12	1126.976	1363.691
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	922.167	142.455	12	831.655	1012.678
POSISI	SERAT TENGAH	995.500	135.419	12	909.459	1081.541
For entire sample		1119.681	224.875	72	1066.838	1172.524

Variable .. KELENJAR

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	37.983	3.215	12	35.941	40.026
POSISI	SERAT TENGAH	40.292	3.477	12	38.082	42.501
GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	32.208	2.070	12	30.893	33.524
POSISI	SERAT TENGAH	34.367	2.256	12	32.934	35.800
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	27.117	3.077	12	25.162	29.072
POSISI	SERAT TENGAH	29.683	3.540	12	27.434	31.932
For entire sample		33.608	5.411	72	32.337	34.880

Variable .. KOLAGEN

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	11.792	2.596	12	10.142	13.441
POSISI	SERAT TENGAH	10.583	2.935	12	8.719	12.448



GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	10.817	3.129	12	8.828	12.805
POSISI	SERAT TENGAH	9.392	1.960	12	8.146	10.637
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	8.000	1.090	12	7.308	8.692
POSISI	SERAT TENGAH	7.092	.774	12	6.600	7.583
For entire sample		9.613	2.738	72	8.969	10.256

## Variable .. RETIKUL

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	5.767	.653	12	5.352	6.181
POSISI	SERAT TENGAH	5.942	.895	12	5.373	6.510
GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	5.808	.848	12	5.270	6.347
POSISI	SERAT TENGAH	5.725	1.160	12	4.988	6.462
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	4.033	.705	12	3.585	4.481
POSISI	SERAT TENGAH	3.767	.996	12	3.134	4.399
For entire sample		5.174	1.254	72	4.879	5.468

## Variable .. ELASTIK

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	2.975	.588	12	2.601	3.349
POSISI	SERAT TENGAH	2.992	.920	12	2.407	3.576
GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	3.142	.342	12	2.924	3.359
POSISI	SERAT TENGAH	3.267	.462	12	2.973	3.560
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	2.650	.476	12	2.348	2.952
POSISI	SERAT TENGAH	2.492	.494	12	2.178	2.806
For entire sample		2.919	.618	72	2.774	3.065

## Variable .. OTOT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN					
POSISI	SERAT TEPI	24.317	5.023	12	21.125	27.508
POSISI	SERAT TENGAH	21.942	5.208	12	18.633	25.251
GROUP	LH					
POSISI	SERAT TEPI	20.908	3.044	12	18.974	22.843
POSISI	SERAT TENGAH	18.092	4.283	12	15.370	20.813
GROUP	CONTROL					
POSISI	SERAT TEPI	15.908	1.561	12	14.916	16.900
POSISI	SERAT TENGAH	13.400	1.805	12	12.253	14.547
For entire sample		19.094	5.213	72	17.869	20.319

-----  
Univariate Homogeneity of Variance Tests

Variable .. ANDROGEN

Cochrans C(11,6) =	.27795, P = .334 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	1.32082, P = .252

Variable .. KELENJAR

Cochrans C(11,6) =	.23289, P = .909 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	1.00827, P = .411

Variable .. KOLAGEN

Cochrans C(11,6) =	.31824, P = .117 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	5.24991, P = .000

Variable .. RETIKUL

Cochrans C(11,6) =	.28152, P = .306 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	.96080, P = .441

Variable .. ELASTIK

Cochrans C(11,6) =	.42456, P = .004 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	2.55448, P = .026

Variable .. OTOT

Cochrans C(11,6) =	.31662, P = .122 (approx.)
Bartlett-Box F(5,5601) =	4.72334, P = .000

-----  
Multivariate test for Homogeneity of Dispersion matrices

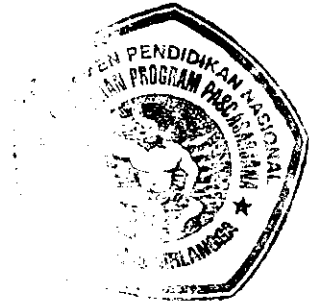
Boxs M =	191.28733
F WITH (105,6994) DF =	1.38499, P = .006 (Approx.)
Chi-Square with 105 DF =	148.29599, P = .003 (Approx.)

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1

EFFECT .. GROUP BY POSISI

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1 1/2, N = 29 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Fillais	.02829	.14829	12.00	124.00	1.000
Hotellings	.02870	.14351	12.00	120.00	1.000
Wilks	.97190	.14590	12.00	122.00	1.000
Roys	.01506				



Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Fct.	Canon Cor.
1	.01529	53.25793	53.25793	.12270
2	.01342	46.74207	100.00000	.11506

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.97190	.14590	12.00	122.00	1.000
2 TO 2	.98276	.16636	5.00	62.00	.974

Univariate F-tests with (2,66) D. F.

variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ANDROGEN	14498.8611	2591141.25	7249.43056	39259.7159	.18465	.832
MELENJAR	.51194	591.75501	.25597	8.96598	.02855	.972
KOLAGEN	.80778	338.48083	.40389	5.12850	.07875	.924
NETIKUL	.59083	52.58084	.29542	.79668	.37081	.692
ELASTIK	.24528	21.92667	.12264	.33222	.36915	.693
OTOT	.61583	942.29338	.30792	14.27717	.02157	.979

Averaged F-test with (12,396) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	14501.63278	2593088.28672	1208.46940	6548.20274	.18455	.999

9.3 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok dan Antar Variabel

MAN estr LH PSA LYMP APC IGA IGG IGM CD4 CD8  
 BY group(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/degis.

5%

36 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3
Variable
GROUP          1  2  3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. ESTR

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	1143.325	659.753	12	724.138	1562.512
GROUP	LH	-11.907	11.469	12	-19.194	-4.620
GROUP	CONTROL	-.067	1.601	12	-1.084	.950
For entire sample		377.117	662.413	36	152.989	601.245

Variable .. LH

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-.115	.142	12	-.205	-.025
GROUP	LH	.593	.577	12	.227	.960
GROUP	CONTROL	.007	.053	12	-.027	.040
For entire sample		.162	.458	36	.007	.317

Variable .. PSA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	.313	.165	12	.208	.418
GROUP	LH	.078	.133	12	-.007	.162
GROUP	CONTROL	.075	.075	12	.027	.123
For entire sample		.155	.170	36	.098	.213

Variable .. LYMP

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-1.887	1.105	12	-2.589	-1.184
GROUP	LH	.326	.480	12	.021	.631
GROUP	CONTROL	.799	1.062	12	.124	1.474
For entire sample		-.254	1.490	36	-.758	.250

-----

Variable .. APC

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	.789	1.109	12	.094	1.494
GROUP	LH	1.424	1.851	12	.248	2.601
GROUP	CONTROL	-1.154	1.536	12	-2.130	-.178
For entire sample		.353	1.856	36	-.275	.981

-----

Variable .. IGA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-27.667	48.216	12	-58.302	2.968
GROUP	LH	-2.583	22.581	12	-16.931	11.764
GROUP	CONTROL	6.167	19.159	12	-6.006	18.340
For entire sample		-8.028	34.896	36	-19.835	3.779

-----

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-24.333	25.635	12	-40.621	-8.046
GROUP	LH	6.083	20.255	12	-6.786	18.953
GROUP	CONTROL	15.417	27.101	12	-1.802	32.636
For entire sample		-.944	29.370	36	-10.882	8.993

-----

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-39.667	59.724	12	-77.614	-1.720
GROUP	LH	2.250	36.696	12	-21.065	25.565
GROUP	CONTROL	-.250	36.651	12	-23.537	23.037
For entire sample		-12.556	48.430	36	-28.942	3.831

-----

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-.208	.088	12	-.264	-.151
GROUP	LH	-.065	.050	12	-.097	-.033
GROUP	CONTROL	-.009	.044	12	-.037	.019
For entire sample		-.094	.105	36	-.129	-.058

-----

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	-.100	.057	12	-.136	-.064
GROUP	LH	-.055	.042	12	-.081	-.029
GROUP	CONTROL	-.006	.027	12	-.023	.011
For entire sample		-.054	.057	36	-.073	-.034

-----

## Univariate Homogeneity of Variance Tests

Variable .. ESTR  
 Cochrans C(11,3) = .99969, P = .000 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 95.99329, P = .000

Variable .. LH  
 Cochrans C(11,3) = .93568, P = .000 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 24.19846, P = .000

Variable .. PSA  
 Cochrans C(11,3) = .53840, P = .131 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 2.99146, P = .050

Variable .. LYMP  
 Cochrans C(11,3) = .47357, P = .348 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 3.68784, P = .025

Variable .. APC  
 Cochrans C(11,3) = .48849, P = .284 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 1.33140, P = .264

Variable .. IGA  
 Cochrans C(11,3) = .72610, P = .001 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 5.45111, P = .004

Variable .. IGG  
 Cochrans C(11,3) = .40760, P = .754 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = .47589, P = .621

Variable .. IGM  
 Cochrans C(11,3) = .57009, P = .074 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 1.80276, P = .165

Variable .. CD4  
 Cochrans C(11,3) = .63850, P = .017 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 3.14521, P = .043

Variable .. CD8  
 Cochrans C(11,3) = .56599, P = .080 (approx.)  
 Bartlett-Box F(2,2450) = 2.74385, P = .065

-----

## Multivariate test for Homogeneity of Dispersion matrices

Boxs M = 497.70246  
 F WITH (110,2947) DF = 2.45282, P = .000 (Approx.)  
 Chi-Square with 110 DF = 288.38407, P = .000 (Approx.)

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

5A.2

EFFECT .. GROUP

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 3 1/2, N = 11)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	1.54567	8.50528	20.00	50.00	.000
Hotellings	18.94536	21.78717	20.00	46.00	.000
Wilks	.02169	13.89562	20.00	48.00	.000
Roys	.94579				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	17.44608	92.08629	92.08629	.97252
2	1.49928	7.91371	100.00000	.77452

-----  
Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.02169	13.89562	20.00	48.00	.000
2 TO 2	.40012	4.16467	9.00	25.00	.002

-----  
Univariate F-tests with (2,33) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ESTR	10568179.7	4789492.78	5284089.85	145136.145	36.40781	.000
LH	3.44287	3.90823	1.72143	.11843	14.53529	.000
PSA	.44971	.55919	.22485	.01695	13.26941	.000
LYMP	49.33160	28.37165	24.66580	.85975	28.68961	.000
APC	43.31565	77.19145	21.65782	2.33913	9.25890	.001
IGA	7401.72222	35219.2500	3700.86111	1067.25000	3.46766	.043
IGG	10369.3889	19820.5000	5184.69444	600.62121	8.63222	.001
IGN	13267.7222	68825.1667	6633.86111	2085.61111	3.18078	.055
CD4	.25104	.13442	.12552	.00407	30.81568	.000
CD8	.05324	.06219	.02662	.00188	14.12475	.000

-----  
Averaged F-test with (20,330) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 10	10599315.38002	4913467.92781	529965.76900	14889.29675	35.59374	.000

MAN ANDROGEN KELENJAR KOLAGEN RETIKUL ELASTIK OTOT BY GROUP(1,3)/

pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

36 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

-----  
CELL NUMBER

1 2 3

Variable

GROUP 1 2 3

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. ANDROGEN

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	1190.292	223.691	12	1048.165	1332.418
GROUP	LH	1209.917	189.712	12	1089.379	1330.454
GROUP	CONTROL	958.833	133.890	12	873.764	1043.903
For entire sample		1119.681	214.577	36	1047.078	1192.283

-----  
Variable .. KELENJAR

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	39.138	3.304	12	37.038	41.237
GROUP	LH	33.287	2.001	12	32.016	34.559
GROUP	CONTROL	28.400	3.243	12	26.339	30.461
For entire sample		33.608	5.274	36	31.824	35.393

-----  
Variable .. KOLAGEN

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	11.187	2.727	12	9.455	12.920
GROUP	LH	10.104	2.341	12	8.616	11.592
GROUP	CONTROL	7.546	.890	12	6.987	8.105
For entire sample		9.612	2.589	36	8.737	10.488

-----  
Variable .. RETIKUL

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	ESTROGEN	5.854	.531	12	5.517	6.192
GROUP	LH	5.767	.600	12	5.385	6.148
GROUP	CONTROL	3.900	.797	12	3.393	4.407
For entire sample		5.174	1.112	36	4.797	5.550



SB/2  
-----

## Variable .. ELASTIK

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	ESTROGEN	2.983	.568	12	2.623	3.344
GROUP	LH	3.204	.279	12	3.027	3.382
GROUP	CONTROL	2.571	.455	12	2.282	2.860
For entire sample		2.919	.512	36	2.746	3.093

## Variable .. OTOT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	ESTROGEN	23.129	5.042	12	19.925	26.333
GROUP	LH	19.500	3.363	12	17.363	21.637
GROUP	CONTROL	14.654	1.611	12	13.631	15.678
For entire sample		19.094	4.976	36	17.411	20.778

## Univariate Homogeneity of Variance Tests

## Variable .. ANDROGEN

Cochrans C(11,3) = .48134, P = .314 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 1.34168, P = .262

## Variable .. KELENJAR

Cochrans C(11,3) = .42919, P = .599 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 1.49414, P = .225

## Variable .. KOLAGEN

Cochrans C(11,3) = .54316, P = .121 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 5.85387, P = .003

## Variable .. RETIKUL

Cochrans C(11,3) = .49755, P = .249 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = .95123, P = .386

## Variable .. ELASTIK

Cochrans C(11,3) = .53084, P = .149 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 2.47212, P = .085

## Variable .. OTOT

Cochrans C(11,3) = .64646, P = .014 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 5.86434, P = .003

## Multivariate test for Homogeneity of Dispersion matrices

Boxs M = 106.89590  
F WITH (42,3233) DF = 1.85835, P = .001 (Approx.)  
Chi-Square with 42 DF = 79.43923, P = .000 (Approx.)

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN \*\*\*\*\*

5<sup>B</sup>/<sub>3</sub>

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1 1/2, N = 13 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	1.30874	9.15087	12.00	58.00	.000
Hotellings	8.50868	19.14453	12.00	54.00	.000
Wilks	.06578	13.52872	12.00	56.00	.000
Roys	.88606				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	7.77653	91.39521	91.39521	.94131
2	.73215	8.60479	100.00000	.65014

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.06578	13.52872	12.00	56.00	.000
2 TO 2	.57732	4.24649	5.00	29.00	.005

Univariate F-tests with (2,33) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ANDROGEN	468003.764	1143505.31	234001.882	34651.6761	6.75297	.003
KELENJAR	693.61628	279.86627	346.80814	8.48080	40.89335	.000
KOLAGEN	83.92167	150.65521	41.96083	4.56531	9.19124	.001
RETIKUL	29.24347	14.05896	14.62174	.42603	34.32098	.000
ELASTIK	2.48014	6.68125	1.24007	.20246	6.12495	.005
OTOT	433.91428	432.61452	216.95714	13.10953	16.54957	.000

Averaged F-test with (12,198) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	469246.93972	1144389.18871	39103.91164	5779.74338	6.76568	.000

### 9.4 Hasil Uji Perbedaan Nilai Pre dan Post pada Kelompok Kontrol

PROB (GROUP=3).  
 MAN estr LH PSA LYP APC IGA ISG IGM CD4 CD8 CD48 MONO EDS BASO NEUT  
 BY SAMPEL(1,2)/pri cell (all)/pri hco (all)/pri signif (all)/disc/desig.

61  
 24 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.  
 1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
SAMPEL         1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. ESTR

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
SAMPEL	PRE	15.742	4.309	12	13.004	18.479
SAMPEL	POST	15.675	4.266	12	12.964	18.386
For entire sample		15.708	4.193	24	13.938	17.479

Variable .. LH

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
SAMPEL	PRE	.053	.046	12	.023	.082
SAMPEL	POST	.059	.049	12	.028	.090
For entire sample		.056	.047	24	.036	.076

Variable .. PSA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
SAMPEL	PRE	1.752	.416	12	1.498	2.016
SAMPEL	POST	1.827	.404	12	1.570	2.083
For entire sample		1.789	.403	24	1.619	1.959

Variable .. LYP

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
SAMPEL	PRE	1.843	.611	12	1.454	2.231
SAMPEL	POST	2.642	1.183	12	1.890	3.393
For entire sample		2.242	1.007	24	1.817	2.667

Variable .. APC

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
SAMPEL	PRE	4.126	1.449	12	3.206	5.047
SAMPEL	POST	2.976	1.342	12	2.123	3.829
For entire sample		3.551	1.487	24	2.923	4.179

6/2

-----

Variable .. IGA		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	62.250	28.166	12	44.354	80.146
SAMPEL	POST	68.417	29.895	12	49.422	87.411
For entire sample		65.333	28.579	24	53.266	77.401

-----

Variable .. IGG		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	807.500	20.883	12	794.232	820.768
SAMPEL	POST	822.917	22.625	12	808.541	837.292
For entire sample		815.208	22.702	24	805.622	824.795

-----

Variable .. IGM		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	125.500	29.337	12	106.860	144.140
SAMPEL	POST	125.250	35.945	12	102.412	148.088
For entire sample		125.375	32.087	24	111.826	138.924

-----

Variable .. CD4		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	.554	.044	12	.526	.582
SAMPEL	POST	.545	.065	12	.504	.586
For entire sample		.550	.054	24	.527	.572

-----

Variable .. CD8		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	.299	.020	12	.287	.312
SAMPEL	POST	.293	.037	12	.270	.317
For entire sample		.296	.029	24	.284	.308

-----

Variable .. CD48		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	1.852	.059	12	1.814	1.889
SAMPEL	POST	1.862	.118	12	1.786	1.937
For entire sample		1.857	.092	24	1.818	1.895

-----

Variable .. MONO		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
SAMPEL	PRE	.542	.285	12	.360	.723
SAMPEL	POST	.425	.267	12	.255	.595
For entire sample		.483	.277	24	.366	.600

6/3

-----

Variable .. EDS

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
SAMPEL	PRE	.525	1.352	12	-.334	1.384
SAMPEL	POST	.490	.795	12	-.015	.995
For entire sample		.508	1.085	24	.049	.966

-----

Variable .. BASO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
SAMPEL	PRE	.050	.025	12	.034	.066
SAMPEL	POST	.050	.025	12	.034	.066
For entire sample		.050	.024	24	.040	.060

-----

Variable .. NEUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
SAMPEL	PRE	15.388	6.020	12	11.564	19.213
SAMPEL	POST	10.939	5.338	12	7.547	14.331
For entire sample		13.164	6.010	24	10.626	15.702

-----

Univariate Homogeneity of Variance Tests

Variable .. ESTR

Cochrans C(11,2) = .50498, P = .974 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .00104, P = .974

Variable .. LH

Cochrans C(11,2) = .52671, P = .862 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .03005, P = .862

Variable .. PSA

Cochrans C(11,2) = .51419, P = .927 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .00847, P = .927

Variable .. LYMP

Cochrans C(11,2) = .78914, P = .038 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 4.29310, P = .038

Variable .. APC

Cochrans C(11,2) = .53810, P = .805 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .06123, P = .805

Variable .. IGA

6/4

Cochrans C(11,2) = .52976, P = .847 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .03733, P = .847

Variable .. IGG

Cochrans C(11,2) = .53998, P = .795 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .06746, P = .795

Variable .. IGM

Cochrans C(11,2) = .60020, P = .512 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .43112, P = .512

Variable .. CD4

Cochrans C(11,2) = .68610, P = .210 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 1.56964, P = .210

Variable .. CD8

Cochrans C(11,2) = .77363, P = .053 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 3.75244, P = .053

Variable .. CD48

Cochrans C(11,2) = .80344, P = .028 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 4.84602, P = .028

Variable .. MONG

Cochrans C(11,2) = .53300, P = .830 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .04590, P = .830

Variable .. EOS

Cochrans C(11,2) = .74317, P = .092 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 2.84336, P = .092

Variable .. BASO

Cochrans C(11,2) = .50000, P = 1.000 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .00000, P = 1.000

Variable .. NEUT

Cochrans C(11,2) = .55979, P = .697 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = .15147, P = .697

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

6/5

EFFECT .. SAMPEL

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 4 1/2, N = 5 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.57716	1.48905	11.00	12.00	.252
Hotellings	1.36497	1.48905	11.00	12.00	.252
Milks	.42284	1.48905	11.00	12.00	.252
Roys	.57716				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	1.36497	100.00000	100.00000	.75971

-----  
Univariate F-tests with (1,22) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ESTR	.02667	404.43169	.02667	18.38326	.00145	.970
LH	.00027	.04992	.00027	.00227	.11753	.735
PSA	.03375	3.69663	.03375	.16803	.20086	.658
LYMP	3.83200	19.50679	3.83200	.88667	4.32178	.049
APC	7.93787	42.89490	7.93787	1.94977	4.07119	.056
IGA	228.16667	18557.1667	228.16667	843.50758	.27050	.608
IGG	1426.04167	10427.9167	1426.04167	473.99621	3.00855	.097
IGM	.37500	23679.2500	.37500	1076.32955	.00035	.985
CD4	.00050	.06719	.00050	.00305	.16507	.688
CD8	.00020	.01896	.00020	.00086	.23692	.631
CD48	.00060	.19213	.00060	.00873	.06870	.796

-----  
Averaged F-test with (11,242) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 11	1666.41520	53135.19155	151.49229	219.56691	.68996	.748

9.5 Hasil Uji Perbedaan Berat dan Volume prostat

MAN BB T\_AUT CC\_AUT AP\_AUT T\_TOT\_AU TEBAL\_KA TEBAL\_KI BRT\_PROG VOL\_PROG  
 BY group(1,3) /pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.  
 V(1) - 1

36 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.  
  
 1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3
Variable
GROUP          1   2   3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. BB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	6.033	1.035	12	5.376	6.691
GROUP	kel 2	6.758	1.334	12	5.910	7.606
GROUP	control	6.458	.956	12	5.851	7.066
For entire sample		6.417	1.129	36	6.035	6.799

Variable .. T\_AUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	1.968	.189	12	1.848	2.089
GROUP	kel 2	2.131	.310	12	1.934	2.328
GROUP	control	2.037	.326	12	1.830	2.245
For entire sample		2.046	.282	36	1.950	2.141

Variable .. CC\_AUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	1.667	.339	12	1.452	1.883
GROUP	kel 2	1.740	.316	12	1.539	1.941
GROUP	control	1.618	.260	12	1.453	1.784
For entire sample		1.675	.303	36	1.573	1.778

Variable .. AP\_AUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	1.327	.235	12	1.178	1.476
GROUP	kel 2	1.391	.328	12	1.183	1.599
GROUP	control	1.151	.163	12	1.047	1.255
For entire sample		1.289	.265	36	1.200	1.379

Variable .. T\_TOT\_AU

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
--------	------	------	-----------	---	---------------------------	--



VIII 2	GROUP	kel 1	2.179	.242	12	2.025	2.333
	GROUP	kel 2	2.172	.113	12	2.101	2.244
	GROUP	control	2.169	.238	12	2.018	2.320
	For entire sample		2.174	.201	36	2.106	2.241

-----  
Variable .. TEBAL\_KA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	.711	.115	12	.638	.784
GROUP	kel 2	.693	.059	12	.656	.731
GROUP	control	.741	.104	12	.674	.807
For entire sample		.715	.095	36	.683	.747

-----  
Variable .. TEBAL\_KI

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	.748	.157	12	.649	.848
GROUP	kel 2	.699	.057	12	.663	.735
GROUP	control	.743	.135	12	.658	.829
For entire sample		.730	.122	36	.689	.772

-----  
Variable .. BRT\_PROS

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	2.505	.452	12	2.218	2.792
GROUP	kel 2	1.833	.257	12	1.670	1.997
GROUP	control	1.519	.443	12	1.238	1.801
For entire sample		1.952	.566	36	1.761	2.144

-----  
Variable .. VOL\_PROS

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	2.338	.429	12	2.065	2.611
GROUP	kel 2	1.692	.282	12	1.513	1.872
GROUP	control	1.416	.428	12	1.144	1.688
For entire sample		1.816	.542	36	1.632	1.999

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

Cell Means and Standard Deviations (CONT.)

Univariate Homogeneity of Variance Tests

Variable .. BB

Cochrans C(11,3) = .47288, P = .351 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = .66794, P = .513

Variable .. T\_AUT

√111-3

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

176

Cochrans C(11,3) = .44659, P = .490 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 1.65444, P = .191

Variable .. CC\_AUT

Cochrans C(11,3) = .40709, P = .758 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = .38268, P = .682

Variable .. AP\_AUT

Cochrans C(11,3) = .56759, P = .078 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 2.44592, P = .087

Variable .. T\_TOT\_AU

Cochrans C(11,3) = .45827, P = .425 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 3.21270, P = .040

Variable .. TEBAL\_KA

Cochrans C(11,3) = .47780, P = .329 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 2.32339, P = .098

Variable .. TEBAL\_KI

Cochrans C(11,3) = .53448, P = .140 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 4.82093, P = .008

Variable .. BRT\_PROS

Cochrans C(11,3) = .43735, P = .546 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 1.85117, P = .157

Variable .. VOL\_PROS

Cochrans C(11,3) = .41276, P = .715 (approx.)  
Bartlett-Box F(2,2450) = 1.09962, P = .333

-----  
Multivariate test for Homogeneity of Dispersion matrices

Boxs M = 185.38586  
F WITH (90,2983) DF = 1.21538, P = .064 (Approx.)  
Chi-Square with 90 DF = 114.97669, P = .039 (Approx.)

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 3, N = 11 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.90563	2.39066	18.00	52.00	.007
Hotellings	3.11913	4.15884	18.00	48.00	.000
Wilks	.21378	3.23000	18.00	50.00	.001
Roys	.74544				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	2.92839	93.88473	93.88473	.86339
2	.19074	6.11527	100.00000	.40024

-----  
Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.21378	3.23000	18.00	50.00	.001
2 TO 2	.83981	.61992	8.00	26.00	.753

-----  
Univariate F-tests with (2,33) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
BB	3.18500	41.42500	1.59250	1.25530	1.26862	.295
T_AJT	.15961	2.61768	.07980	.07932	1.00604	.377
CC_AJT	.08991	3.11339	.04495	.09435	.47647	.625
AP_AJT	.37054	2.07985	.18527	.06303	2.93958	.067
T_TOT_AU	.00062	1.40681	.00031	.04263	.00730	.993
TEBAL_KA	.01385	.30325	.00693	.00919	.75359	.479
TEBAL_KI	.01757	.50473	.00879	.01529	.57445	.569
BRT_PROS	6.08682	5.13526	3.04341	.15561	19.55743	.000
VOL_PROS	5.37861	4.91608	2.68930	.14897	18.05238	.000

-----  
Averaged F-test with (18,297) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 9	15.30252	61.50205	.85014	.20708	4.10542	.000

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1\*\*\*\*\*

/III-5

178

EFFECT .. CONSTANT

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 3 1/2, N = 11 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.99778	1246.22403	9.00	25.00	.000
Hotellings	448.64065	1246.22403	9.00	25.00	.000
Milks	.00222	1246.22403	9.00	25.00	.000
Rays	.99778				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	448.64065	100.00000	100.00000	.99889

-----  
Univariate F-tests with (1,33) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
BB	1482.25000	41.42500	1482.25000	1.25530	1180.79057	.000
T_AJT	150.63471	2.61768	150.63471	.07932	1898.98668	.000
CC_AJT	101.03600	3.11339	101.03600	.09435	1070.91835	.000
AP_AJT	59.85601	2.07985	59.85601	.06303	949.70713	.000
T_TOT_AJ	170.08507	1.40681	170.08507	.04263	3989.74510	.000
TEBAL_KA	18.40410	.30325	18.40410	.00919	2002.75455	.000
TEBAL_KI	19.19900	.50473	19.19900	.01529	1255.27185	.000
BRT_PROG	137.24122	5.13526	137.24122	.15561	881.93430	.000
VOL_PROG	118.66471	4.91608	118.66471	.14897	796.55596	.000

-----  
Averaged F-test with (9,297) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 9	2257.37082	61.50205	250.81898	.20708	1211.23177	.000

### 9.6 Hasil Uji Perbedaan Peningkatan Kadar Hormon Estrogen dan Kadar LH pada Kelompok 1 dan Kelompok 2

MAN ESTR LH

BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

E4

24 cases accepted.

12 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
GROUP          1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. ESTR

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	kel 1	1143.325	659.753	12	724.138	1562.512
GROUP	kel 2	-11.907	11.469	12	-19.154	-4.620
For entire sample		565.709	745.911	24	250.738	880.680

Variable .. LH

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	kel 1	-.115	.142	12	-.205	-.025
GROUP	kel 2	.593	.577	12	.227	.960
For entire sample		.239	.547	24	.008	.470

Univariate Homogeneity of Variance Tests

Variable .. ESTR

Cochrans C(11,2) = .99970, P = .000 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 74.26192, P = .000

Variable .. LH

Cochrans C(11,2) = .94308, P = .000 (approx.)  
 Bartlett-Box F(1,1452) = 16.35946, P = .000

Multivariate test for Homogeneity of Dispersion matrices

Boxs M = 91.75230  
 F WITH (3,87119) DF = 27.59894, P = .000 (Approx.)  
 Chi-Square with 3 DF = 82.71609, P = .000 (Approx.)

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN

Es

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 9 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.69917	24.40318	2.00	21.00	.000
Hotellings	2.32411	24.40318	2.00	21.00	.000
Wilks	.30083	24.40318	2.00	21.00	.000
Roys	.69917				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	2.32411	100.00000	100.00000	.83616

Univariate F-tests with (1,22) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ESTR	8007361.32	4789464.60	8007361.32	217702.936	36.78114	.000
LH	3.01042	3.87757	3.01042	.17625	17.08008	.000

Averaged F-test with (2,44) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	8007364.33247	4789468.47491	4003682.16623	108851.55625	36.78112	.000

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

E6

EFFECT .. KONJANT

-----

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 9 1/2)



Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.67233	21.54408	2.00	21.00	.000
Hotellings	2.05182	21.54408	2.00	21.00	.000
Wilks	.32767	21.54408	2.00	21.00	.000
Roys	.67233				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Fct.	Canen Cor.
1	2.05182	100.00000	100.00000	.81996

-----  
Univariate F-tests with (1,22) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ESTR	7680644.77	4789464.60	7680644.77	217702.936	35.28039	.000
LH	1.37282	3.87757	1.37282	.17625	7.78890	.011

-----  
Averaged F-test with (2,44) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	7680646.13822	4789468.47491	3840323.06911	108851.55625	35.28037	.000

**9.7 Hasil Uji Peningkatan Kadar Hormon Estrogen dan Kadar LH terhadap perubahan komponen prostat pada kelompok 1 dan kelompok 2**

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

dro if (group=1).  
 req var ANDROG KELENJ KOLAG RETIK ELAST OTOT estr lh/dep estr lh  
 /met step/met ent ANDROG KELENJ KOLAG RETIK ELAST OTOT.

D<sub>1</sub>

\*\*\* MULTIPLE REGRESSION \*\*\*

Listwise Deletion of Missing Data

Equation Number 1 Dependent Variable., ESTR

Beginning Block Number 1. Method: Stepwise

End Block Number 1 FIN = .050 Limits reached.  
 No variables entered/removed for this block.

\*\*\*\*\*

Beginning Block Number 2. Method: Enter ANDROG KELENJ KOLAG RETIK ELAST OTOT

Variable(s) Entered on Step Number  
 1.. OTOT  
 2.. KOLAG  
 3.. RETIK  
 4.. KELENJ  
 5.. ELAST  
 6.. ANDROG

Multiple R	.86350	Analysis of Variance		
R Square	.74563		DF	Sum of Squares
Adjusted R Square	.44038	Regression	6	3570087.23145
Standard Error	493.54438	Residual	5	1217930.27105
		F =	2.44273	Signif F = .1728

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
OTOT	-123.43270	85.02919	-.94335	-1.452	.2063
KOLAG	86.22450	64.83914	.35646	1.330	.2410
RETIK	1054.52345	359.75085	.84883	2.931	.0326
KELENJ	-99.63175	50.87081	-.49902	-1.959	.1075
ELAST	26.91354	330.56718	.02316	.081	.9383
ANDROG	3.55220	1.82788	1.20439	1.943	.1096
(Constant)	-3548.88496	2709.08053		-1.310	.2472

End Block Number 2 All requested variables entered.



9.9 Hasil Uji Perbedaan kadar PSA pada Kelompok 1 dan Kelompok 2

-----

Variable .. KELEUJ

VI-2	FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
	GROUP	kel 1	39.138	3.304	12	37.038	41.237
	GROUP	kel 2	33.287	2.001	12	32.016	34.559
	For entire sample		36.212	4.008	24	34.520	37.905

Variable .. PSA

	FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
	GROUP	kel 1	.313	.165	12	.208	.418
	GROUP	kel 2	.078	.133	12	-.007	.162
	For entire sample		.195	.190	24	.115	.276

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 \*\*\*\*\*

EFFECT .. WITHIN CELLS Regression

-----

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1, N = 7)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.13454	.24520	10.00	34.00	.989
Hotelling's	.14631	.21946	10.00	30.00	.992
Wilks	.86915	.23243	10.00	32.00	.991
Roys	.09622				

-----

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.	Sq. Cor
1	.10646	72.76682	72.76682	.31019	.09622
2	.03984	27.23318	100.00000	.19575	.03832

-----

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.86915	.23243	10.00	32.00	.991
2 TO 2	.96168	.16934	4.00	17.00	.951

-----

Univariate F-tests with (2,20) D. F.

Variable	Sq. Mul. R	Mul. R	Adj. R-sq.	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
APC	.03028	.17400	.00000	.78836	2.52514	.31221	.735
IGA	.04756	.21809	.00000	741.55659	1484.92351	.49939	.614
IGG	.00248	.04979	.00000	14.55373	585.62379	.02485	.975
IGN	.01722	.13124	.00000	465.48949	2655.89688	.17527	.841
RC048	.02019	.14209	.00000	.04542	.22044	.20604	.816

Equation Number 2 Dependent Variable.. LH

*D5*  
 Beginning Block Number 1. Method: Stepwise

End Block Number 1 PIN = .050 Limits reached.  
 No variables entered/removed for this block.

\*\*\*\*\*

Beginning Block Number 2. Method: Enter ANDROG KELENJ KOLAG RETIK ELAST OTOT

Variable(s) Entered on Step Number  
 1.. OTOT  
 2.. RETIK  
 3.. KOLAG  
 4.. KELENJ  
 5.. ANDROG  
 6.. ELAST

Multiple R	.30208	Analysis of Variance			
R Square	.64333		DF	Sum of Squares	Mean Square
Adjusted R Square	.21533	Regression	6	2.35258	.39210
Standard Error	.51074	Residual	5	1.30429	.26086

F = 1.50311 Signif F = .3357

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
OTOT	-.10535	.06139	-.61447	-1.716	.1468
RETIK	.53942	.65991	.56146	.817	.4509
KOLAG	.02854	.07496	.11590	.301	.7759
KELENJ	.27355	.15208	.94925	1.799	.1320
ANDROG	7.415025E-04	1.72353E-03	.24398	.430	.6849
ELAST	1.74322	1.48355	.85372	1.189	.2880
(Constant)	-16.40380	10.78584		-1.521	.1888

End Block Number 2 All requested variables entered.

### 9.8 Hasil Uji Perubahan Kelenjar pada Prostat terhadap perubahan PSA

reg var kelenj psa/dep kelenj /met step/met ent psa .

G-6

\*\*\*\*\* MULTIPLE REGRESSION \*\*\*\*\*

Listwise Deletion of Missing Data

Equation Number 1 Dependent Variable.. KELENJ

Beginning Block Number 1. Method: Stepwise

Variable(s) Entered on Step Number 1.. PSA

Multiple R	.45421	Analysis of Variance			
R Square	.20630		DF	Sum of Squares	Mean Square
Adjusted R Square	.18296	Regression	1	200.83177	200.83177
Standard Error	4.76708	Residual	34	772.65073	22.72502

F = 8.83747      Signif F = .0054

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PSA	14.10889	4.74601	.45421	2.973	.0054
(Constant)	31.41754	1.08367		28.992	.0000

End Block Number 1    FOUT =    .100 Limits reached.

\*\*\*\*\*

Beginning Block Number 2. Method: Enter    PSA

End Block Number 2    All requested variables already entered.

**9.10 Hasil Uji Perubahan PSA Terhadap Perubahan Respons Imun pada Kelompok 1 (dengan PSA yang tinggi) dan pada kelompok 2 (dengan PSA yang rendah)**

Regression analysis for WITHIN CELLS error term  
Dependent variable .. KELENJ

V1-7

COVARIATE	B	Beta	Std. Err.	t-Value	Sig. of t	Lower -95%	CL- Upper
APC	-.0114349777	-.0064433933	.45301	-.02524	.980	-.96719	.94433
IGA	-.0063332097	-.0379763641	.02982	-.21404	.833	-.06930	.05654
IGG	-.0120051386	-.1015332746	.03972	-.30225	.766	-.09581	.07180
IGM	.0144669713	.2625119021	.02284	.63345	.535	-.03372	.06265
RCD48	-.6348145315	-.1051032535	1.62688	-.39020	.701	-4.06723	2.79760

Dependent variable .. PSA

COVARIATE	B	Beta	Std. Err.	t-Value	Sig. of t	Lower -95%	CL- Upper
APC	.0112062756	.1147495933	.02418	.46354	.649	-.03980	.06221
IGA	-.0015658475	-.3923332574	.00159	-.98389	.339	-.00492	.00179
IGG	.0001148354	.0176561303	.00212	.05418	.957	-.00436	.00459
IGM	.0008150244	.2688565776	.00122	.66871	.513	-.00176	.00339
RCD48	.0092005009	.0276923251	.08682	.10597	.917	-.17397	.19238

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 7 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.45844	6.77224	2.00	16.00	.007
Hotellings	.84653	6.77224	2.00	16.00	.007
Wilks	.54156	6.77224	2.00	16.00	.007
Roys	.45844				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.84653	100.00000	100.00000	.67708

Univariate F-tests with (1,17) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
KELENJ	76.14079	157.75326	76.14079	9.27960	8.20518	.011
PSA	.15830	.44927	.15830	.02643	5.99008	.026

----- Variables in the Equation -----

G 2

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
CD48	.79718	.24983	.84169	3.191	.0242
APC	-.98606	.99230	-.33100	-.994	.3660
IGG	-.04204	.03755	-.32611	-1.119	.3138
LYMP	1.16897	.86164	.39096	1.311	.2468
IGA	-.04871	.02388	-.71071	-2.040	.0969
IGM	.01735	.02378	.31427	.731	.4974
(Constant)	37.95959	1.95153		19.451	.0000

End Block Number 2 All requested variables entered.

\*\*\* MULTIPLE REGRESSION \*\*\*

Equation Number 2 Dependent Variable.. PSA

Beginning Block Number 1. Method: Stepwise

End Block Number 1 PIII = .050 Limits reached.  
No variables entered/removed for this block.

\*\*\*\*\*

Beginning Block Number 2. Method: Enter LYMP APC IGA IGG IGM CD48

Variable(s) Entered on Step Number

- 1.. CD48
- 2.. APC
- 3.. IGG
- 4.. LYMP
- 5.. IGA
- 6.. IGM

Multiple R	.65920	Analysis of Variance			
R Square	.43454	DF	Sum of Squares	Mean Square	
Adjusted R Square	-.24400	Regression	6	.13083	.02180
Standard Error	.18452	Residual	5	.17024	.03405
F =		.64041		Signif F =	.7003

----- Variables in the Equation -----

G<sub>3</sub>

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
CO48	-2.42611E-03	.02305	-.05113	-.105	.9203
APC	.09946	.09154	.60655	.988	.3684
IGG	-3.67807E-03	3.46440E-03	-.56993	-1.062	.3369
LYMP	.05748	.08226	.38397	.699	.5159
IGA	-2.45763E-03	2.20303E-03	-.71626	-1.116	.3153
IGM	3.343923E-03	2.19336E-03	1.20719	1.525	.1879
(Constant)	.33308	.18003		1.850	.1235

End Block Number 2 All requested variables entered.

\*\*\* MULTIPLE REGRESSION \*\*\*

Equation Number 2 Dependent Variable.. PSA

65

Beginning Block Number 1. Method: Stepwise

End Block Number 1 PIN = .050 Limits reached.

No variables entered/removed for this block.

\*\*\*\*\*

Beginning Block Number 2. Method: Enter LYMPC APC IGA IGG IGM CD48

Variable(s) Entered on Step Number  
 1.. CD48  
 2.. APC  
 3.. IGG  
 4.. LYMP  
 5.. IGA  
 6.. IGM

Multiple R	.64866	Analysis of Variance			
R Square	.42075		DF	Sum of Squares	Mean Square
Adjusted R Square	-.27434	Regression	6	.08231	.01372
Standard Error	.15054	Residual	5	.11331	.02266
		F =	.60532	Signif F =	.7218

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
CD48	-.04317	.04604	-.35632	-.938	.3915
APC	.02461	.03379	.34538	.728	.4991
IGG	5.319994E-04	3.14067E-03	.06060	.169	.8725
LYMP	.17980	.14534	.64661	1.237	.2710
IGA	2.722811E-03	3.87429E-03	.46105	.699	.5156
IGM	-4.51303E-04	2.42050E-03	-.12418	-.186	.8594
(Constant)	.04957	.10566		.469	.6587

End Block Number 2 All requested variables entered.

```
end if (group(3)).
disc group GROUP(1,2)/VAR apc igs igg igm rcd48 psa
/mst nao/ana all/stat all.
```

FF1

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

24 (unweighted) cases were processed.  
 0 of these were excluded from the analysis.  
 24 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

GROUP	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
1	12	12.0	kel 1
2	12	12.0	kel 2
Total	24	24.0	

Group Means

GROUP	APC	IGA	IGG	IGM	RCD48	PSA
1	.78917	-27.66667	-24.33333	-39.66667	-.11583	.31333
2	1.40375	-2.58333	6.08333	2.25000	.14000	.07750
Total	1.09646	-15.12500	-9.12500	-18.70833	.01208	.19542

Group Standard Deviations

GROUP	APC	IGA	IGG	IGM	RCD48	PSA
1	1.10923	48.21605	25.63497	59.72411	.22322	.16544
2	1.87192	22.58100	20.25500	36.89562	.36244	.13336
Total	1.53716	38.98530	27.41994	52.99342	.32207	.19001

Correlations which cannot be computed are printed as '.'

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio  
 with 1 and 22 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
APC	.95830	.9573	.3385
IGA	.89201	2.663	.1169
IGG	.67899	10.40	.0039
IGM	.83679	4.291	.0502
RCD48	.83540	4.335	.0492
PSA	.59814	14.78	.0009



----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

FF

On groups defined by GROUP

Analysis number 1

Stepwise variable selection

Selection rule: Maximize Rao's V

Maximum number of steps..... 12  
 Minimum Tolerance Level..... .00100  
 Minimum F to enter..... 1.0000  
 Maximum F to remove..... 1.0000  
 Minimum increase in Rao's V..... .00000

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1  
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00  
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

----- Variables not in the analysis after step 0 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	F to enter	Rao's V
APC	1.0000000	1.0000000	.95735	
IGA	1.0000000	1.0000000	2.6635	2.663461
IGG	1.0000000	1.0000000	10.401	10.40089
IGM	1.0000000	1.0000000	4.2910	4.291019
RCD48	1.0000000	1.0000000	4.3347	4.334719
PSA	1.0000000	1.0000000	14.781	14.78078

.....

At step 1, PSA was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.59814	1 1	22.0	
Equivalent F	14.7808	1	22.0	.0009
RAO'S V	14.78078	1		.0001 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	F to remove	Rao's V
PSA	1.0000000	14.781	

FF3 ----- Variables not in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	F to enter	Rao's V
APC	.9710415	.9710415	1.5673	17.52592
IGA	.9530121	.9530121	.42476	
IGG	.9975834	.9975834	5.2755	24.02067
IGH	.9994661	.9994661	2.2455	18.71376
RCD48	.9961752	.9961752	3.0843	20.18276

F statistics and significances between pairs of groups after step 1  
 Each F statistic has 1 and 22.0 degrees of freedom.

Group	1	2
Group 2 kel 1		14.731
		.0009

.....

At step 2, IGG was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
	.47805	2 1	22.0	
	11.4644	2	21.0	.0004
	24.02067	2		.0000 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	F to remove	Rao's V
IGG	.9975834	5.2755	
PSA	.9975834	8.8274	

----- Variables not in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	F to enter	Rao's V
APC	.9210756	.9210756	2.5224	29.82480
IGA	.6636849	.6636849	.42421	
IGH	.6011171	.5999847	.29732E-02	
RCD48	.8303915	.8303915	.61281	

F statistics and significances between pairs of groups after step 2  
 Each F statistic has 2 and 21.0 degrees of freedom.

Group	1	2
Group 2 kel 1		11.464
		.0004

.....

At step 3, APC was included in the analysis.

FF4

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.42451	3 1	22.0	
Equivalent F	9.03782	3	20.0	.0006
RAO'S V	29.82480	3		.0000 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 3 -----

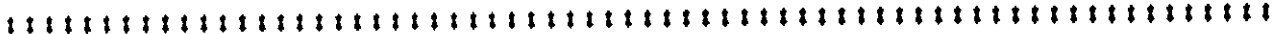
Variable	Tolerance	F to remove	Rao's V
APC	.9210756	2.5224	
IGG	.9462518	6.2232	
PSA	.9709412	9.1586	

----- Variables not in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	F to enter	Rao's V
IGA	.6623633	.6623633	.28479	
IGM	.5901951	.5597306	.21873E-01	
RCD43	.7422016	.7422016	1.5961	34.17829

F statistics and significances between pairs of groups after step 3  
 Each F statistic has 3 and 20.0 degrees of freedom.

Group	1	2
	kel 1	
Group		
2	kel 2	9.0378 .0006



At step 4, RCD43 was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.39161	4 1	22.0	
Equivalent F	7.37940	4	19.0	.0009
RAO'S V	34.17829	4		.0000 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	F to remove	Rao's V
APC	.8232548	3.5041	
IGG	.8256966	2.4459	
RCD46	.7422016	1.5961	
PSA	.9495786	9.3180	

----- Variables not in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	F to enter	Rao's V
IGA	.4975644	.4588140	.10837E-01	
IGM	.5678408	.4736129	.87195E-02	

F statistics and significances between pairs of groups after step 4  
 Each F statistic has 4 and 19.0 degrees of freedom.

FT 5

Group	1	2
1	kel 1	
2	kel 2	7.3754 .0009

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action	Vars	Wilks'	Change				
Entered	Removed	In	lambda	Sig.	Rao's V	Sig.	in V	Sig. Label
1	PSA	1	.59814	.0009	14.78078	.0001	14.78078	.0001
2	IGG	2	.47805	.0004	24.02067	.0000	9.23989	.0024
3	APC	3	.42451	.0006	29.82480	.0000	5.80412	.0160
4	RCD48	4	.39161	.0009	34.17829	.0000	4.35349	.0369

Classification Function Coefficients  
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP	=	1	2
		kel 1	kel 2
APC		-.7741138E-01	.7875121
IGG		-.3900564E-01	.1022011E-01
RCD48		-.6407938	2.644165
PSA		13.79795	1.810128
(constant)		-3.335963	-1.532202

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1	1.55356	100.00	100.00	.7799934	: 0	.3916103	18.750	4	.0009

1 marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
APC	.55757
IGG	.47648
RCD48	.41427
PSA	-.75470

Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables  
 and canonical discriminant functions  
 (Variables ordered by size of correlation within function)

7 6

	FUNC 1
PSA	-.65762
IGG	.55165
RCD48	.35613
TGM	.33206
ISA	.25697
APC	.15736

Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
APC	.3623916
IGG	.2062494E-01
RCD48	1.376355
PSA	-5.022743
(constant)	.7557520

Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1
1	-1.19335
2	1.19335

Test of equality of group covariance matrices using Box's M

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those of the group covariance matrices.

Group Label	Rank	Log Determinant
1 kel 1	4	-.676808
2 kel 2	4	.531501
Pooled Within-Groups Covariance Matrix	4	.566627

Box's M	Approximate F	Degrees of freedom	Significance
14.064	1.1254	10.	2313.9 .3386

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions.....	1
Minimum cumulative percent of variance...	100.00
Maximum significance of Wilks' Lambda....	1.0000

Prior probability for each group is .50000

Classification Function Coefficients

(Fisher's Linear Discriminant Functions)

FF7

GROUP =	1	2
	kel 1	kel 2
APC	.5140076E-01	.9340602
IGA	.2396433E-01	.2601193E-01
IGG	-.3923095E-01	.6362673E-02
IGM	-.1749175E-01	-.1666659E-01
RCD48	.2717372	3.700962
PSA	14.53798	2.603139
(constant)	-3.472585	-1.675634

## Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1†	1.55524	100.00	100.00	.7801583	: 0	.3913530	17.825	6	.0067

† marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

## Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
APC	.56225
IGA	.03228
IGG	.44157
IGM	.01713
RCD48	.43223
PSA	-.75696

## Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables  
and canonical discriminant functions  
(Variables ordered by size of correlation within function)

	FUNC 1
PSA	-.65726
IGG	.55135
RCD48	.35593
IGM	.35414
IGA	.27901
APC	.16727

## Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
APC	.3654354
IGA	.8574539E-03
IGG	.1911375E-01
IGM	.3455433E-03
RCD48	1.436024
PSA	-4.997840
(constant)	.7524712

FF8

Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1
1	-1.17400
2	1.17400



Test of equality of group covariance matrices using Box's M

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those of the group covariance matrices.

Group Label	Rank	Log Determinant
1 kel 1	6	11.005996
2 kel 2	6	12.188887
Pooled Within-Groups Covariance Matrix	6	13.765723

Scale M	Approximate F	Degrees of freedom	Significance
47.762	1.5884	21,	1730.2 .0438

DISCRIMINANT ANALYSIS

On groups defined by SPSSP

Analysis number... 1

Number of Canonical Discriminant Functions... 1

List of the 4 Variables used..

Variable Label

- APC
- IBG
- RCD4B
- PEA

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1 kel 1	10	9 90.0%	1 10.0%
Group 2 kel 2	11	2 18.2%	9 81.8%

Percent of through cases correctly classified: 87.50%

Classifier Processing Summary

- 24 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 24 Cases were used for printed output.

11-9

Discriminant defined by SPSS

Analysis number: 1

Number of Canonical Discriminant Functions: 1

List of the 6 variables used:

Variable Label

AGE  
 PSA  
 TSP  
 TSP  
 TSP  
 PCAS  
 PSA

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group kel 1	12	11 91.7%	1 8.3%
Group kel 2	12	2 16.7%	10 83.3%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 87.50%

#### Classification Processing Summary

- 24 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 24 Cases were used for printed output.



pro if (group(3)).

MAN abc igg rcd48 psa Bt group(1,2)

/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/discr/deg.

FF 10

24 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
GROUP          1   2
  
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. AFC

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	-.061	.086	12	-.116	-.007
GROUP	kel 2	1.105	1.474	12	.169	2.042
For entire sample		.522	1.182	24	.023	1.021

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	.949	1.000	12	.314	1.584
GROUP	kel 2	.062	.207	12	-.069	.194
For entire sample		.506	.839	24	.151	.860

Variable .. RCD48

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	.074	.143	12	-.017	.165
GROUP	kel 2	.370	.958	12	-.239	.979
For entire sample		.222	.687	24	-.068	.512

Variable .. PSA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	kel 1	4.323	2.283	12	2.873	5.774
GROUP	kel 2	.140	.241	12	-.013	.294
For entire sample		2.232	2.662	24	1.108	3.356

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1

FF 11

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1, N = 8 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.72112	12.28245	4.00	19.00	.000
Hotellings	2.58578	12.28245	4.00	19.00	.000
Wilks	.27888	12.28245	4.00	19.00	.000
Roys	.72112				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	2.58578	100.00000	100.00000	.84919

Univariate F-tests with (1,22) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
APC	8.16518	23.98582	8.16518	1.09026	7.48917	.012
IG6	4.72023	11.46934	4.72023	.52133	9.05415	.006
RCD49	.52555	10.32793	.52555	.46945	1.11949	.302
PSA	104.98859	57.95908	104.98859	2.63450	39.85137	.000

Averaged F-test with (4,88) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 4	118.39954	103.74217	29.59989	1.17889	25.10830	.000