



Deteksi Tumor Payudara (*Breast Benign Diseases*) Berdasar Interaksi Eritrosit Akibat Perubahan Ion-Ion Dalam Darah-Edta Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis

Nurlaili Sudita Lestari¹, Kuncoro Asih Nugroho^{1*}, Ngadikun²

¹Fisika, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

²Biokimia, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Abstrak

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah pertama, mengetahui perbedaan pola interaksi eritrosit dalam darah-EDTA antara penderita tumor payudara dan subjek normal ditinjau dari hukum Coulomb. Kedua, mengetahui ada tidaknya perbedaan pola absorbansi eritrosit berdasarkan hasil analisis parameter deterministik dan stokastik. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-November 2021. Lokasi penelitian berada di gedung Radioputro dan gedung PAU Pascasarjana UGM. Pola Absorbansi Eritrosit dalam darah-EDTA dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang (λ) 560nm. Subjek penelitian yang digunakan adalah 33 subjek normal dan 32 subjek tumor payudara. Sampel darah sebanyak 3 ml diambil dari lengan bawah subjek penelitian. Sampel darah ini digunakan untuk uji pola absorbansi sebanya 550 μ L, dan sisanya untuk pengujian darah rutin dan metode Westergren. Hasil data dari uji spektrofotometer berupa nilai absorbansi terhadap waktu. Nilai absorbansi dianalisis menggunakan *google colab* dengan bahasa pemrograman *python*. Uji beda parameter deterministic dan stokastik pola absorbansi eritrosit kedua kelompok penelitian menggunakan *Mann-Whitney*. Pola absorbansi eritrosit dalam darah-EDTA yang tidak menentu pada kedua kelompok menyebabkan data sulit dianalisis berdasarkan hukum Coulomb. Analisis uji beda parameter deterministik (d) dan stokastik (s) dari kedua kelompok diperoleh signifikansi uji beda d_1 , d_2 , d_3 , s_1 , s_2 , dan s_3 adalah sebesar $2,67 \times 10^{-7}$, $1,68 \times 10^{-5}$, $6,22 \times 10^{-5}$, 0.181, $3,94 \times 10^{-7}$ dan $9,95 \times 10^{-8}$. Berdasarkan hasil uji beda tersebut, hanya ada satu parameter yang tidak berbeda signifikan yaitu d_3 ($P > 0.05$).

Masuk:

2 Januari 2023

Diterima:

18 Maret 2023

Diterbitkan:

30 Juni 2023

Kata kunci:

Absorbansi,
Eritrosit, Hukum
Coulomb, Tumor
Payudara

PENDAHULUAN

Kanker sebagai salah satu penyebab angka kematian di Indonesia meningkat setiap tahunnya. Di Indonesia, kanker merupakan penyebab ketiga dari banyak kasus kematian yang terjadi setelah jantung dan stroke (Anonim, 2020; Rachmansyah, 2022; Putri, 2015).

Tingkat mortalitas penderita kanker sangat tinggi disebabkan oleh kesembuhan pasien kanker sangat rendah. Berbagai faktor yang menyebabkan proses penyembuhan kanker gagal diantaranya yaitu: masalah kanker tidak terdeteksi sedini mungkin sehingga biasanya kanker terdeteksi saat sudah stadium

*Korespondensi: Kuncoro Asih Nugroho ✉ kuncoronugroho@uny.ac.id 📍 Universitas Negeri Yogyakarta, Jl. Colombo Yogyakarta No.1 Daerah Istimewa Yogyakarta

lanjut, dan proses penanganan terlambat (Nugroho, 2018). Lima faktor yang berpengaruh pada kasus kematian akibat kanker lebih dari 30% yaitu indeks massa tubuh tinggi, kurang biaya penyembuhan yang relatif mahal, konsumsi buah dan sayur, kurang aktivitas fisik, penggunaan rokok, dan konsumsi alkohol berlebihan. Selain itu kanker juga mengakibatkan kematian sebesar 20% kasus di negara berpenghasilan rendah dan menengah disebabkan oleh infeksi virus, seperti virus hepatitis B/ hepatitis C dan virus *human papilloma* (Budijanto, 2015).

Kanker dan tumor berkaitan erat. Kanker merupakan tumor yang bersifat ganas sehingga bisa menyebar ke bagian tubuh lain secara cepat dan merusak sel sehat yang berada disekitarnya. Tumor merupakan benjolan atau jaringan yang tumbuh secara tidak normal. Tumor dapat bersifat jinak maupun ganas. Jenis tumor yang sifat jinak tidak beresiko menyebar ke jaringan atau bagian tubuh lain sehingga tumor jenis ini dianggap tidak berbahaya. Berbeda dengan tumor yang bersifat ganas, tumor ini dapat menyebar ke bagian tubuh lain dan membentuk tumor-tumor baru (Fadli, 2021; Septarini, 2014).

Breast Benign Diseases (BBD) atau tumor payudara merupakan masalah yang umum terjadi pada payudara wanita. Tumor payudara adalah benjolan yang berada di payudara. BBD lebih sering terjadi dibandingkan kanker (maligna) yaitu kejadiannya 10 kali lipat dan yang telah mengalami perawatan sekitar 30% (Sagma dkk, 2013; Lacey dkk, 2009). Berbeda halnya dengan kanker payudara, Tumor payudara tidak mengancam nyawa penderitanya, namun ada beberapa jenis tumor payudara yang dikemudian hari dapat berkembang menjadi kanker payudara (ACS, 2019).

Berberapa metode deteksi kanker saat ini terus dikembangkan guna melacak keberadaan kanker sedini

mungkin. Metode sebagai standar deteksi marker kanker yang dilakukan untuk diagnosis sampai sekarang yaitu dengan *biopsy* jaringan, dan/atau *re-biopsy* (Colomer dkk, 2018). Metode ini membutuhkan biaya yang besar. Oleh sebab itu usaha pencarian metode untuk deteksi alternatif terhadap tumor payudara dengan biaya relatif murah merupakan suatu kebutuhan yang tidak dapat ditunda. Selain itu, metode *biopsy* sulit diterapkan pada stadium awal. Pemeriksaan rutin dan deteksi dini bila diterapkan bisa meningkatkan peluang pasien untuk sembuh sehingga tingkat morbiditas dan mortalitas dapat ditekan.

Pemeriksaan payudara dapat dilakukan secara rutin dan mandiri yaitu dengan cara Periksa Payudara Sendiri (SADARI). Cara ini merupakan teknik pemeriksaan untuk mengetahui ada tidaknya benjolan pada payudara wanita (Ayu, 2016). Metode diagnosis yang pernah dilakukan yaitu Westergren dan deteksi *biomarker* dengan sampel darah utuh. Masing-masing metode memiliki kelemahan. Metode Westergren dilakukan dengan pemeriksaan laju endap darah atau LED. Hasil LED dari metode ini kurang spesifik dan sensitif terhadap setiap jenis penyakit, sehingga belum mampu membedakan peradangan dengan kanker. Kedua kasus ini memiliki nilai LED yang sama-sama tinggi, sehingga hanya dengan analisis *biopsy* yang bisa membedakan keduanya (Nugroho, 2018).

Metode deteksi *biomarker* sering digunakan untuk deteksi dini penyakit. Metode deteksi *biomarker* dengan sampel plasma. Plasma merupakan *biological matrix* yang mengandung *biomarker* paling sulit dideteksi dengan *proteomic* (umumnya mengacu pada analisis eksperimental protein skala besar dan proteom, tetapi sering mengacu secara khusus untuk pemurnian protein dan spektrometri massa) karena didalam plasma terdapat protein sangat kompleks dengan rentang konsentrasi yang lebar (Faria dkk, 2017).

Biomarker atau penanda biologis dalam konteks biomedis adalah indikator terukur dari beberapa keadaan atau kondisi biologis. *Biomarker* pada kanker berupa protein tertentu dalam darah yang meningkat dengan adanya kanker (Nugroho, 2018). Protein yang terkandung pada kanker memiliki muatan negatif sehingga bisa mempengaruhi ion-ion di sekitar eritrosit. Protein dalam medium kontinu yang berbeda jenis akan menimbulkan efek yang berbeda terhadap nilai potensial zeta eritrosit (sel darah merah). Penyebab perubahan nilai potensial zeta yaitu karena terjadi perubahan jumlah ion-ion dan atau protein berbuatan. Ion-ion dan atau protein berbuatan bisa meninggalkan dan masuk ke dalam lapisan ganda listrik (Nugroho, 2018). Perubahan jumlah keduanya pada lapisan ganda listrik menyebabkan perubahan nilai zeta poten sial.

Lapisan ganda listrik terbentuk akibat adanya gaya coulomb antara Ion dalam dengan muatan pada permukaan eritrosit. Permukaan membrane eritrosit mengandung group karboksil asam sialic yang memiliki muatan negatif (Fernandes, Cesar, dan Barjas-castro, 2011). Muatan pada permukaan eritrosit akan berinteraksi dengan ion-ions dalam plasma. Ion-ion yang berlawanan tanda (counterion) dengan muatan pada permukaan eritrosit akan ditolak oleh muatan pada permukaan eritrosit. Sebaliknya ion yang sama tanda (coion) akan ditarik oleh muatan pada permukaan eritrosit (Prakash, Mishra, Malviya, sharma, 2014). Kejadian ini terjadi akibat adanya gaya Coulomb antara ion dalam plasma dengan muatan pada permukaan eritrosit.

Interaksi antara ion dalam plasma dengan muatan eritrosit mengakibatkan terbentuknya lapisan ganda listrik disekitar eritrosit. Lapisan ganda listrik terbentuk dalam rangka menetralkan muatan dari partikel (eritrosit) (Prakash, Mishra, Malviya, sharma, 2014).

Metode spektrofotometri diguna-

kan untuk mendeteksi keberadaan suatu materi dalam larutan. Metode ini dapat mengidentifikasi dan menghitung jumlah zat yang belum diketahui dalam larutan (Dadi dan Yasir). Pada teknik spektrofotometri mengukur intensitas sinar yang diserap materi dari seberkas sinar yang melewati materi tersebut (Rejini dan Dileep, 2017).

Tahun 1997, telah dimulai penelitian pengukuran LED menggunakan metode spektrofotometri. Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan spesifisitas dari pengukuran LED. Pengukuran dilakukan dengan mengamati proses terbentuknya bzp (perubahan kejernihan pada bagian atas pada darah- EDTA). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat kaitan antara terjadinya perubahan kejernihan terhadap darah-EDTA dengan terbentuknya bzp (Ngadikun, 1998). Penelitian dengan metode yang sama dilanjutkan dengan subjek kanker payudara (2018 – 2019). Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa sensitivitas dan spesifisitas metode spektrofotometri untuk kanker kolorektal, leukimia, dan kanker payudara masing-masing 100%.

Penelitian lain yang relevan yaitu disertasi penelitian tentang pola proses agregasi sel dalam darah-EDTA dengan metode spektrofotometri pada penderita kanker ovarium (Nugroho, 2018). Penelitian ini mengkaji tentang mekanisme agregasi eritrosit dalam darah-EDTA pada pasien kanker ovarium berdasarkan hukum Coulomb. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa adanya keberhasilan dalam mendeteksi interaksi eritrosit dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm.

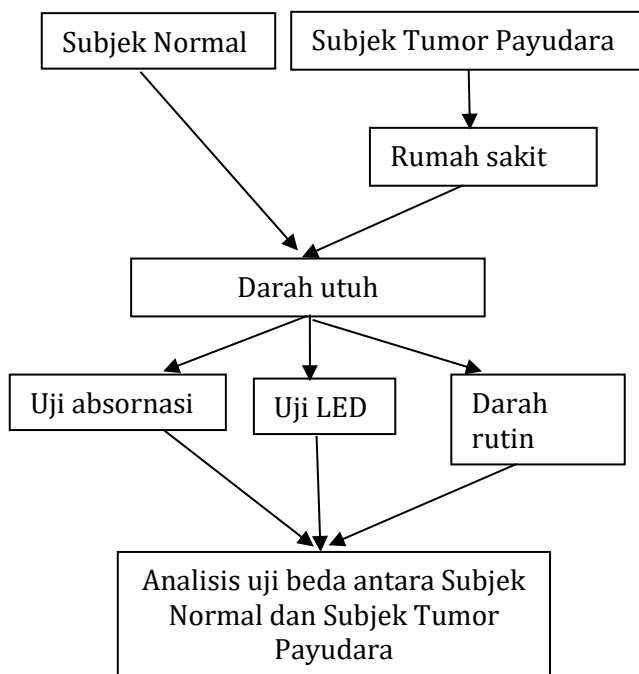
Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki kelebihan yaitu hasil yang nantinya diperoleh akan bersifat kuantitatif sehingga bisa lebih akurat hasilnya (Lelangan *at al.*, 2016). Penelitian ini mengkaji spektrum absorbansi cahaya pada sampel darah penderita tumor payudara dan sampel darah orang normal (subjek kontrol)

dengan menggunakan metode spektrofotometri. Pengamatan dinamika agregasi sel dalam darah-EDTA dilakukan melalui perubahan nilai absorbansi.

METODE PENELITIAN

A. Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengamati nilai absorbansi eritrosit dalam darah-EDTA pada dua kelompok uji yaitu penderita tumor payudara dan subjek normal (sehat) sebagai kelompok kontrol. Pengambilan data dilakukan pada bulan Juni 2021 sampai dengan bulan November 2021. Proses pengambilan sampel darah subjek tumor payudara yaitu di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito Yogyakarta dan penelitian sampel darah dilakukan di Radioputro dan Gedung PAU Pascasarjana Universitas Gajah Mada. Alur penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur penelitian

B. Bahan dan Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan adalah sampel darah manusia dari 32 penderita tumor payudara dan 33 subjek normal.

Sampel yang dibutuhkan adalah darah vena lengan sebanyak 3 mL. Darah sebanyak 550 μL akan dipergunakan untuk meneliti pola absorbansi dengan metode spektrofotometri, sisanya digunakan untuk pengujian darah rutin dan metode Westergren.

Spektrofotometer yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-1600 merek VWR yang telah dihubungkan ke komputer dari port interface ADC (*analog to digital converter*), Cuvette Disposable semi Micro 1,5 cc merk Brand, Rak Tabung Stainless, Spuit Injeksi merk Terumo 10 cc, Vacutainer-K2 EDTA 5.4 mg Volume 3 cc merk BD, Darah vena manusia normal dan penderita Tumor Payudara, Tabung Westergren (untuk pengamatan b_{zp}), Kertas Tissue, *Blue Tips* merk Brand, Sarung Tangan *latex*, Jas Lab, Pipet Mikro (merk Acura seri 821, interval skala 200 – 1000 cc, skala terkecil 10 cc), Plester Sancoplas, Tissue Swap, Tutup karet, Laptop HP dengan spesifikasi *processor* AMD A6-7310 APU Radeon R4, RAM 2 GB, *Google Colab* (Program *Python*) dan *M. Wave Profesional*.

C. Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dapat dilakukan setelah didapatkan *Ethical Clearance* (EC). Permohonan EC ini dilakukan ke Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan (*Medical and Health Research Ethics Committee*) Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada (UGM). Sebelum subjek penelitian diambil sampel darahnya, terlebih dahulu subjek penelitian menyetujui *informed consent*. Darah sampel tumor payudara diperoleh dari pasien rawat jalan dan pasien rawat inap yang berada di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Sardjito Yogyakarta, sedangkan untuk subjek normal diambil dari masyarakat umum yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi untuk kelompok subjek tumor payudara adalah pasien sudah mendapat

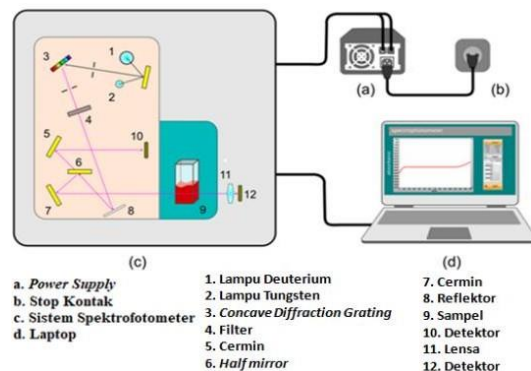
perlakuan *biopsy* atau tes Patologi Anatomi (PA) yang menjadi bukti bahwa darah tersebut benar merupakan sampel darah penderita tumor payudara bukan dari jenis tumor lain, tidak menderita penyakit diabetes militus, dan tidak mengalami penyakit berat lain. Subjek normal yang digunakan dengan kriteria inklusi tidak memiliki riwayat keturunan kanker atau tumor, tidak sedang mengidap tumor atau kanker, tidak pernah menderita penyakit kronis, tidak sedang haid, subjek sehat saat pengambilan sampel yang dibuktikan dengan surat keterangan sehat dari dokter. Subjek penelitian merupakan wanita dengan rentang usia 17-60 tahun. Subjek penelitian menyetujui angket kesanggupan (*inform consent*) menjadi subjek untuk dilakukan pengambilan sampel darah untuk keperluan penelitian dan pihak Peneliti akan menjamin kerahasiaan dari data yang diberikan.

Sampel Darah Vena-EDTA penderita tumor payudara dan sampel normal yang akan di uji menggunakan alat spektrofotometer terlebih dahulu dibagi-bagi sesuai kebutuhan. Sampel sebanyak ± 1 mL digunakan untuk uji spektrofotometer, 1 mL digunakan untuk pengujian dengan metode Westergren. Sisanya dibunakan untuk pengujian darah rutin.

Data nilai absorbansi dari spektrofotometer yang masih analog akan direkam dalam bentuk digital menggunakan komputer. Output spektrofotometer dihubungkan dengan komputer yang telah dilengkapi aplikasi *M.Wave*. Nilai absorbansi direkam setiap sekon selama 1800 sekon dengan suhu ruang pada saat pengukuran adalah 27° – 28° Celcius. Proses dalam pengambilan data menggunakan spektrofotometer adalah sebagai berikut:

1. Mempersiapkan peralatan pengambilan data menggunakan spektrofotometer seperti skema pada Gambar 2.
2. Mulai menyalakan spektrofotometer, kemudian menunggu selama 20 menit dalam proses *warm-up*.

3. Jika proses *warm-up* selesai dilanjutkan dengan membuka program *M.Wave* pada komputer.
4. Dilakukan pengaturan pada lembar kerja dengan memilih *Photometric Mode* pada Abs, *Wavelength* pada 560,0 nm, *Delay* pada 0,0s, *Interval* pada 7,0s. *Scan time* pada 1s, *Path length* pada 10 mm. Kemudian bagian *report Output* diatur agar hasil keluaran data absorbansi berupa *Microsoft Excel*.



Gambar 2. Skema peralatan pengambilan data

5. Menyiapkan *Cuvette disposable semi micro* kosong sebagai *blanko* (proses kalibrasi). Kemudian memilih icon *zero base* sampai menunjukkan angka 0,000. Selanjutnya *Cuvette* itu dikeluarkan kembali untuk diisi dengan darah sampel sebanyak 550 μ L dan dimasukkan kembali ke dalam *cell holder* spektrofotometer. Memilih icon *measurement* untuk memulai proses absorbansi.
6. Data akan muncul setelah proses pengukuran selesai.

D. Pengolahan Data

Data hasil pengukuran disimpan dalam folder berdasarkan kelompok subjek penelitian yaitu subjek normal dan subjek tumor payudara. Nama file setiap data subjek penelitian disimpan dalam kode tertentu yaitu subjek normal diawali dengan huruf N dan subjek tumor payudara diawali dengan BBD, sedangkan kode angka adalah menunjukkan urutan data. sebagai contoh N5 untuk subjek normal ke-5

dan BBD1 untuk subjek tumor payudara ke-5.

E. Analisis Data

E1. Karakteristik Subjek Penelitian

Kelompok kontrol (subjek normal) dan subjek penderita tumor payudara memiliki karakteristik yaitu usia, jenis kelamin (laki-laki dan perempuan), dan jumlah eritrosit. Berdasarkan masing-masing kriteria tersebut akan dihitung nilai mean, median, dan min-max. Persebaran data yang terdistribusi normal angka eritrosit akan ditunjukkan dengan $\text{mean} \pm \text{standar deviasi}$, sedangkan data yang tidak terdistribusi normal akan ditunjukkan dengan median.

Uji normalitas untuk kriteria usia dan angka eritrosit dari kedua kelompok subjek penelitian akan diuji dengan menggunakan tes *Shapiro-Wilk* (jumlahnya subjek < 50) dengan aplikasi SPSS. Data usia dan angka eritrosit terdistribusi normal, jika nilai P (taraf signifikansi > 0.05). Data yang terdistribusi tidak normal diuji beda menggunakan tes *Mann Whitney*, sedangkan data yang terdistribusi normal diuji menggunakan uji T. Kriteria usia dan angka eritrosit dari kedua kelompok subjek penelitian akan berbeda makna jika $P < 0.05$.

E2. Analisis Perbedaan Kedua Subjek Uji dengan Pendekatan Hukum Coulomb

Nilai Absorbansi terhadap waktu mengalami fluktuasi. Grafik membentuk pola gigi gergaji. Pola ini memiliki rentang waktu yang berbeda-beda dan ketinggian absorbansi yang berbeda-beda. Akibat perbedaaan nilai absorbansi dan rentang waktu, maka diperoleh grafik gigi gergaji yang terbentuk memiliki sudut yang bebeda-beda setiap bagiannya. Hal tersebut dikarenakan adanya gaya Coulomb yang terjadi antara dua muatan, dalam kasus ini terjadi antara eritrosit satu dengan eritrosit lainnya. Kemiringan dari gigi gergaji ini berbeda-beda setiap bagiannya, maka pengamatan grafik pola absorbansi eritrosit tersebut

dengan pendekatan hukum Coulomb dilakukan dengan memperhatikan jarak antar titik saat t tertentu dengan t berikutnya atau t sebelumnya. Sebagai contoh yaitu saat t_{14} sampai t_{21} . Dalam hal ini, kemiringan grafik dari kedua titik tersebut dibandingkan antara subjek tumor payudara dengan subjek normal.

E3. Analisis Perbedaan Pola Absorbansi dengan Pendekatan Deterministik dan Stokastik

Model analisis dengan pendekatan deterministik dan stokastik digunakan untuk menganalisis pola kecenderungan data dan pola keacakan perubahan potensial zeta yang berkaitan dengan komposisi senyawa dalam plasma darah (terjadi perubahan potensial zeta dalam darah- EDTA). *Fitting curva* diawali dengan proses plotting data absorbansi menggunakan program *Python*. Berdasar analisis *fitting curva* dari data pengukuran diperoleh parameter deterministik (d_1, d_2, d_3), parameter stokastik (s_1, s_2, s_3), nilai autokorelasi, dan tampilan grafik. Nilai parameter yang diperoleh dari keduanya deterministic dan stokastik diuji menggunakan uji normalitas (tes *Shapiro-Wilk*) dan uji beda (Uji T jika data terdistribusi normal dan uji *Mann Whitney* jika data tidak terdistribusi normal). Perbedaan nilai Parameter dari kedua kelompok akan dikatakan berbeda signifikan jika $P < 0.05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Subjek

Angka eritrosit untuk kelompok subjek tumor payudara dan subjek normal dilakukan uji beda menggunakan uji *Mann Whitney* dan uji T dengan hasil nilai signifikansi (P) yaitu 1.80×10^{-12} , sehingga kedua kelompok uji tersebut ada perbedaan bermakna. Kriteria selanjutnya yaitu usia subjek penelitian. Nilai P untuk subjek Tumor payudara adalah 0.45 (terdistribusi normal), sedangkan untuk subjek normal adalah $2.05 \times$

10^{-7} (tidak terdistribusi normal). Pada penelitian ini, kriteria jenis kelamin tidak begitu memiliki pengaruh yang besar terhadap angka eritrositnya dari kedua kelompok subjek penelitian karena subjek penelitian yang digunakan jenis kelaminnya sama yaitu perempuan. Angka eritrosit pada subjek tumor payudara lebih rendah dari subjek normal dengan angka rata-rata dari eritrosit masing-masing yaitu $3.96 \times 10^6 \text{ sel}/\mu\text{L}$ dan $4.56 \times 10^6 \text{ sel}/\mu\text{L}$. Perbedaan ini disebabkan oleh sel-sel leukemia (limfoblas) pada penderita Tumor Payudara (BBD) meningkat sehingga menekan produksi sel-sel darah lain, terutama sel darah merah. Selain faktor tersebut, perbedaan ini dapat disebabkan faktor lain yang yaitu terapi.

B. Parameter Darah

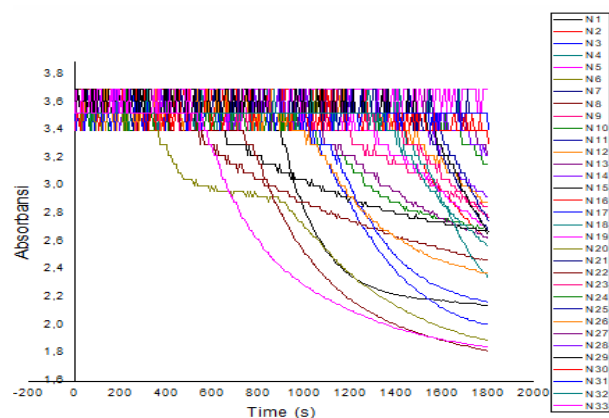
Kelompok subjek normal dapat diketahui jika nilai yang ditunjukkan oleh semua parameter darah dalam range normal. Nilai parameter darah kemudian diuji normalitasnya menggunakan teknik *Shapiro-Wilk* test. Data parameter darah yang terdistribusi normal (*mean \pm standar deviasi*). Nilai parameter darah yang terdistribusi normal pada kelompok normal adalah NEUT, LYMPH, WBC, RBC, HGB, HCT, MCH, PLT, PWD, MPV, dan P-LCR. Sedangkan pada kelompok BBD adalah RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, MPV, dan P-LCR. Selain itu, untuk data nilai parameter yang tidak terdistribusi normal (*median dan min-max*). Selanjutnya kedua nilai parameter darah di uji beda. Nilai-nilai parameter darah diantara kedua subjek tersebut yang berbeda secara bermakna adalah LYMPH%, NEUT#, LYMPH#, WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, RDW-CV, PWD, MPV, dan P-LCR (masing-masing nilai P

= 1.03×10^{-4} , 5.27×10^{-6} ,
 4.15×10^{-12} , 5.33×10^{-8} , 1.85×10^{-8} ,
 1.76×10^{-3} , 1.49×10^{-2} , 4.95×10^{-6} , 1.66×10^{-2} , 7.68×10^{-4} , 2.00×10^{-4} , $2.58 \times$

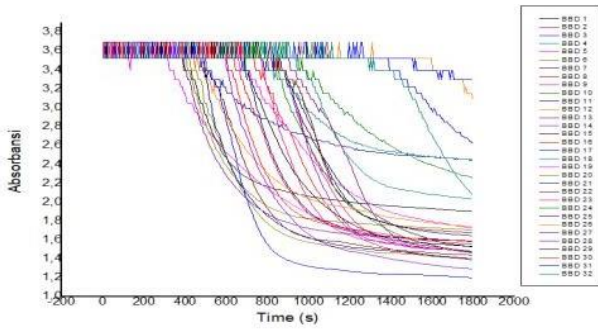
10^{-3} , 1.23×10^{-3} , 2.50×10^{-3} , dan 4.56×10^{-2}).

C. Pola Absorbansi Eritrosit dan Kaitannya dengan Hukum Coulomb

Pola proses dinamika agregasi eritrosit dalam darah-EDTA dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer. Metode ini mengukur proses terbentuknya batas zona *phlogistica* (bzp) atau batas antara daerah jernih pada darah yang diberi antikoagulan dengan daerah yang keruh. Metode ini dipilih karena bisa dikatakan lebih rinci dari metode Westergren. Selain itu, metode lebih unggul dari pada metode lain yang sudah ada saat ini (tumor marker) yaitu bisa terdeteksinya seluruh protein *biomarker* yang akan tampak pada grafik hasil nilai absorbansi yang dikeluarkan oleh spektrofotometer. Adanya kenaikan dan penurunan pada grafik akan menunjuk spesifik untuk protein tertentu. Tumor marker tumor payudara saat ini sangatlah banyak misalnya *carcinoembryonic antigen* (CEA) dan *cancer antigen 15-3* (CA 15-3). Metode tumor marker memerlukan biaya sangat mahal disamping spesifikasinya sangat rendah juga. Selain itu, dengan metode yang ada saat ini jika ada satu *biomarker*, maka perlu dilakukan isolasi terhadap *biomarker* jenis itu.



(a)



(b)
Gambar 3. Grafik hubungan pola absorbansi dalam darah-EDTA terhadap waktu (a) grafik subjek normal (b) grafik subjek tumor payudara

Gambar 3 menunjukkan pada grafik nilai absorbansi terhadap waktu pada subjek normal maupun subjek tumor payudara memiliki pola gigi gergaji yang menunjukkan adanya peristiwa mendekat (agregasi) dan menjauh (disagregasi) dari sel-sel darah merah (eritrosit). Laju endap darah dipengaruhi oleh komposisi darah. Jenis dan jumlah dari ion-ion dan protein dalam plasma darah-EDTA memberikan pengaruh terhadap perubahan yang terjadi pada nilai potensial zeta. Penentuan nilai dari potensial zeta dapat ditentukan menggunakan persamaan 1 (Nugroho, 2018).

$$\zeta = \frac{3 y \mu}{2 s f(\kappa R)} \quad (1)$$

dengan: ζ = potensial zeta (volt)
 ϵ = pemitivitas ruang hampa (m-3, kg-1, s4, A2)
 η = viskositas (Pa.s) 2

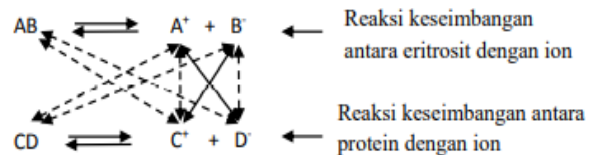
μ = mobilitas partikel $\left(\frac{m^2}{v.s} \right)$

$f(\kappa R)$ = fungsi henry

Spektrum pola absorbansi selama 30 menit dari hasil pengukuran dijelaskan menggunakan persamaan hukum Coulomb. Hasil uji darah rutin yaitu yang dilihat dari komposisi darah-EDTA menunjukkan komposisi seluler yang saling berinteraksi selama proses agregasi terjadi yang akan berpengaruh pada besar kecilnya nilai

potensial zeta yang terbentuk. Jika nilai dari potensial zeta ini berbeda, maka akan berakibat pada proses interaksi tolakan eritrosit yang akan berbeda pula. Nilai potensial zeta yang semakin besar akan menyebabkan tolakan antar eritrosit semakin jauh. Namun interaksi eritrosit yang disebabkan oleh potensial zeta eritrosit bukan merupakan gaya Coulomb (Nugroho, 2018).

Peristiwa interaksi yang terjadi pada permukaan membran eritrosit dalam darah-EDTA antar komponen darah diantaranya adalah eritrosit dengan ion, ion dengan ion, ion dengan protein, protein dengan eritrosit ditinjau dengan hukum Coulomb. Pada gambar 4 menunjukkan bahwa adanya interaksi dalam darah sangat kompleks saat terjadi reaksi keseimbangan. Interaksi tersebut berupa gaya tarik-menarik atau tolak-menolak.



Gambar 4. Interaksi dalam darah yang kompleks saat terjadi keseimbangan antara eritrosit dengan ion, dan proteindengan ion

Komponen darah berupa A^+ , B^- , C^+ , D^- yang berinteraksi memungkinkan terjadinya interaksi Coulomb dengan AB : ikatan antara ion dengan eritrosit, A^+ : ion bermuatan positif, B^- : eritrosit bermuatan negatif pada permukaannya, C^+ : ion bermuatan positif, D^- protein bermuatan negatif. Interaksi AB dengan A^+ , B^- , C^+ , atau D^- dan interaksi antara CD dengan A^+ , B^- , C^+ , atau D^- belum tentu dapat dijelaskan dengan interaksi Coulomb. AB atau CD berupa ikatan yang energi ikatnya tergantung pada jenis ikatan yang dibentuk. Ikatan kimia yang terjadi diantaranya ikatan kovalen, ikatan ionik, ikatan hidrogen, ikatan Van der Waals yang masing-masing memiliki kekuatan yang berbeda-beda.

Energi interaksi *long range* (Coulomb) ditentukan dengan persamaan 2. Perhitungan ini dengan mempertimbangkan ion sebagai muatan titik.

$$U_{ij}^{Coulomb} = \frac{Q_i Q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (2)$$

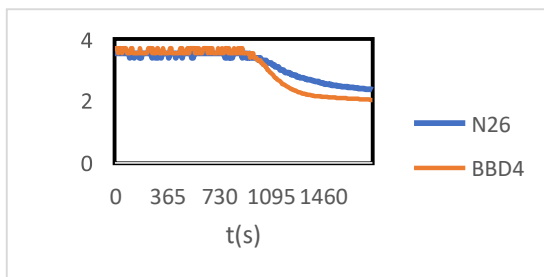
keterangan:

$U_{ij}^{Coulomb}$ = Energi Coulomb

$Q_i Q_j$ = Muatan

ϵ_0 = Permittivitas ruang hampa

r_{ij} = Jarak antar muatan



Gambar 5. Grafik fitting pola absorbansi eritrosit pada subjek N26 dan BBD4 berdasarkan jumlah eritrosit yang sama yaitu 4.3×10^6 sel/ μ l

Gambar 5 menunjukkan absorbansi dari eritrosit subjek tumor payudara cenderung memiliki serapan lebih rendah dibandingkan subjek normal disebabkan oleh adanya faktor yang mempercepat terjadinya proses sedimentasi yaitu protein *biomarker*. Kandungan protein *biomarker* tersebut memberikan dampak pada proses agregasi eritrosit seperti berdampak pada laju endap darah penderita tumor payudara yang meningkat. Protein ini bermuatan negatif karena di dalamnya terdapat kandungan residu asam *sialic* terminal. Muatan negatif pada protein tersebut bisa mempengaruhi ion-ion yang berada disekitar eritrosit. Muatan negatif yang terdapat pada permukaan protein berinteraksi tolak-menolak dengan ion negatif dan tarik-menarik dengan ion positif (Felder M. dkk, 2014). Protein yang berdifusi sampai pada lapisan *stern* (permukaan

partikel) di sekitar eritrosit, maka protein itu berinteraksi dengan ion-ion pada lapisan tersebut. Keseimbangan ion-ion yang berada di dalam dan di luar eritrosit bersifat dinamis. Terjadinya interaksi antara ion-ion dengan protein pada lapisan *stern* menyebabkan perubahan nilai potensial zeta disekitar eritrosit (Imam, 2020).

Terjadi interaksi antar eritrosit yang saling mendekat atau bahkan overlap (tumpang tindih) disebabkan oleh menurunnya nilai potensial zeta disekitar eritrosit, sehingga mengakibatkan gaya tolakan antar eritrosit melemah yang memudahkan eritrosit mengalami agregasi. Begitupun jika terjadi sebaliknya. Nilai yang berbeda pada potensial zeta disebabkan oleh perbedaan distribusi muatan pada lapisan *stern* di sekitar eritrosit. Selama proses agregasi, nilai potensial zeta ini memiliki peran yang penting yaitu mempengaruhi kecepatan agregasi dari eritrosit di sekitar eritrosit. Potensial zeta yang bernilai kecil mengakibatkan proses agregasi berlangsung cepat, begitu pula sebaliknya (Imam, 2020).

Eritrosit memiliki energi yang dari waktu ke waktu semakin berkurang sampai proses agregasi terjadi karena pengaruh dari turunnya nilai potensial zeta. Saat gaya tarik lebih besar daripada gaya tolak antar partikel yang berdekatan maka akan menyebabkan nilai potensial zeta eritrosit berada di bawah ambang batas laju endap darah dan kemudian eritrosit akan saling mengumpul (*rouleaux*). Kumpulan eritrosit membentuk struktur dua atau tiga dimensi saat beradapada larutan yang berisi protein plasma. Struktur ini berbentuk statis saat terdapat gaya geser cukup kecil dan dengan gaya geser besar akan dapat memisahkan bentuk gumpalan tersebut. Proses agregasi akan *reversible* saat diturunkan atau dihilangkannya gaya gesek (Nugroho, 2018).

Eritrosit yang bentuknya sempurna membentuk kumpulan bulat stabil dengan ukuran sama.

Kumpulan eritrosit tersebut yang bergerak ke bawah dapat mengalami pemisahan disebabkan oleh timbulnya potensial zeta di sekitar eritrosit yang melebihi ambang sehingga interaksi tolak-menolak antar eritrosit itu mampu menjauhkan mereka. Adanya transport ion yang ke luar atau masuk membran sel menjadi penyebab dari perubahan nilai potensial zeta. Proses sedimentasi (pengendapan) berbeda-beda, hal ini karena kecepatan terbentuknya kumpulan eritrosit yang belum tentu terjadi secara bersamaan. Ketika berat dari kumpulan eritrosit lebih besar dari gaya apung dan gaya geseknya maka akan terjadi proses pengendapan. Setelah kumpulan eritrosit ini telah mengendap, posisi tersebut selanjutnya akan diisi atau digantikan oleh eritrosit lainnya. Proses agregasi dan pengendapan akan terus berulang hingga semua eritrosit pada bagian sama dalam darah-EDTA mengalami pengendapan, dimana proses ini sesuai dengan Hukum Stokes (Imam, 2020; Nugroho, 2018, Septiani, 2022).

Tiga peristiwa yang dialami oleh kumpulan eritrosit sesuai dengan Hukum Stokes yaitu keadaan naik (kumpulan eritrosit memiliki berat lebih kecil dari gaya apung dan gaya gesek), keadaan turun (kumpulan eritrosit memiliki berat lebih besar dari gaya apung dan gaya gesek), dan keadaan diam (kumpulan eritrosit memiliki berat sama dengan gaya apung dan gaya gesek). Jumlah kejadian dari peristiwa Stokes pada kedua kelompok uji (subjek normal dan tumor payudara) berbeda-beda setiap sampelnya (Septiani, 2022).

Tiga peristiwa yang dialami oleh kumpulan eritrosit sesuai dengan Hukum Stokes yaitu keadaan naik (kumpulan eritrosit memiliki berat lebih kecil dari gaya apung dan gaya gesek), keadaan turun (kumpulan eritrosit memiliki berat lebih besar dari gaya apung dan gaya gesek), dan keadaan diam (kumpulan eritrosit memiliki berat sama dengan gaya apung dan gaya gesek). Jumlah kejadian dari peristiwa Stokes pada kedua kelompok uji (subjek normal dan tumor payudara)

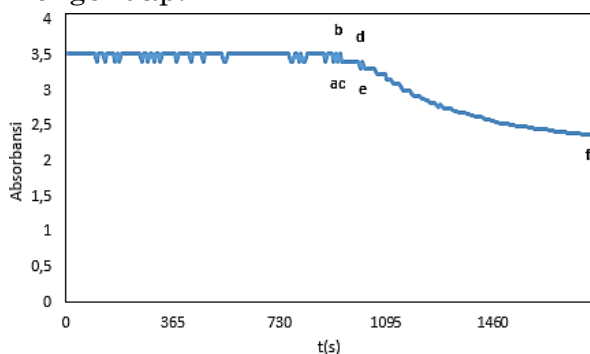
berbeda-beda setiap sampelnya (Septiani, 2022).

Proses interaksi eritrosit (tarik-menarik atau tolak-menolak) dalam darah-EDTA akan mempengaruhi nilai absorbansi eritrosit pada daerah yang disinari oleh cahaya spektrofotometer. Gambar 6 menggambarkan adanya perubahan pola absorbansi interaksi eritrosit dalam darah-EDTA pada subjek N26 dan subjek BBD4 dengan angka eritrosit sama yang berbeda dari waktu ke waktu (Imam, 2020; Septiani, 2022). Gambar tersebut menunjukkan perubahan nilai absorbansi pada posisi a, b, c, d, e, dan f yang menggambarkan kondisi dari eritrosit yang berbeda dari waktu ke waktu. Posisi a ke b, grafik mengalami peningkatan sehingga terjadi peningkatan nilai absorbansi yang menunjukkan adanya peningkatan luas permukaan eritrosit yang disinari oleh sinar datang disebabkan jumlah eritrosit yang juga bertambah (eritrosit saling mendekat).

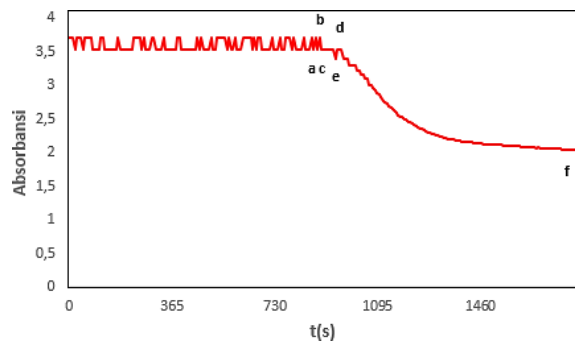
Posisi b ke c menunjukkan penurunan grafik sehingga nilai absorbansi mengalami penurunan, hal ini menggambarkan luas permukaan eritrosit yang disinari oleh sinar datang mengalami penurunan disebabkan oleh jumlah eritrosit yang berkurang (eritrosit saling menjauh atau tumpang tindih). Pada posisi c ke d grafik mendatar yang artinya nilai absorbansi tidak mengalami perubahan (cenderung konstan) sehingga luas permukaan eritrosit yang tersinari konstan. Dalam keadaan ini eritrosit dalam keadaan diam atau bergerak dalam keseimbangan (jumlah eritrosit yang naik = eritrosit yang turun dan atau jumlah eritrosit yang mendekat = jumlah eritrosit yang menjauh). Posisi d ke f pada Gambar 6 dan Gambar 6 (b) menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi disebabkan Proses interaksi eritrosit (tarik-menarik atau tolak-menolak) dalam darah-EDTA akan mempengaruhi nilai absorbansi eritrosit pada daerah yang disinari oleh

cahaya spektrofotometer. Gambar 6 menggambarkan adanya perubahan pola absorbansi interaksi eritrosit dalam darah-EDTA pada subjek N26 dan subjek BBD4 dengan angka eritrosit sama yang berbeda dari waktu ke waktu (Imam, 2020; Septiani, 2022). Gambar tersebut menunjukkan perubahan nilai absorbansi pada posisi a, b, c, d, e, dan f yang menggambarkan kondisi dari eritrosit yang berbeda dari waktu ke waktu. Posisi a ke b, grafik mengalami peningkatan sehingga terjadi peningkatan nilai absorbansi yang menunjukkan adanya peningkatan luas permukaan eritrosit yang disinari oleh sinar datang disebabkan jumlah eritrosit yang juga bertambah (eritrosit saling mendekat).

Posisi b ke c menunjukkan penurunan grafik sehingga nilai absorbansi mengalami penurunan, hal ini menggambarkan luas permukaan eritrosit yang disinari oleh sinar datang mengalami penurunan disebabkan oleh jumlah eritrosit yang berkurang (eritrosit saling menjauh atau tumpang tindih). Pada posisi c ke d grafik mendatar yang artinya nilai absorbansi tidak mengalami perubahan (cenderung konstan) sehingga luas permukaan eritrosit yang tersinari konstan. Dalam keadaan ini eritrosit dalam keadaan diam atau bergerak dalam keseimbangan (jumlah eritrosit yang naik = eritrosit yang turun dan atau jumlah eritrosit yang mendekat = jumlah eritrosit yang menjauh). Posisi d ke f pada gambar 6 (a) dan gambar 6 (b) menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh adanya eritrosit-eritrosit yang telah mengendap.



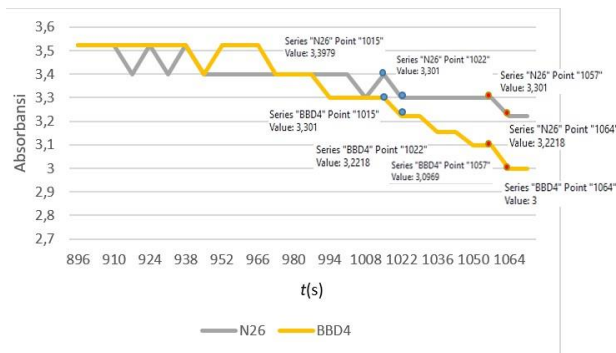
(a) Subjek N26



(b) Subjek BBD4

Gambar 6. Pola absorbansi subjek Tumor Payudara dan Normal dengan angka eritrosit 4.3×10^6 sel/ μ l

Gaya Coulomb terjadi antara dua muatan, dalam kasus ini terjadi antara eritrosit satu dengan eritrosit lainnya. Keberadaan protein *biomarker* dalam darah menyebabkan perubahan keseimbangan dari ion-ion yang berada disekitar eritrosit disebabkan oleh ion-ion dalam darah berinteraksi dengan protein. Keseimbangan ion-ion yang berubah mengakibatkan perubahan pula pada nilai potensial zeta eritrosit, sehingga dalam penelitian ini sebenarnya yang ingin dilihat adalah keberadaan *biomarker* tersebut dalam darah. Jika nilai potensial zeta berubah maka mempengaruhi cepat atau lambatnya pergerakan dari eritrosit untuk mengalami agregasi. Nilai potensial zeta yang mengalami penurunan akan mempercepat proses agregasi pada eritrosit. Semakin cepat terbentuk kumpulan eritrosit (*rouleaux*), maka proses sedimentasi juga berlangsung cepat dan pada kondisi inilah yang bisa dijadikan acuan untuk membedakan antara subjek normal (sehat) dengan subjek sakit.



Gambar 7. Pola gigi gergaji N26 dan BBD4 saat waktu tertentu

Gambar 7 merupakan sampel untuk mengetahui pengaruh gaya Coulomb terhadap proses agregasi eritrosit dalam darah-EDTA. Gaya Coulomb terjadi pada darah sebelum terjadi hukum Stokes dan sebelum nilai absorbansi eritrosit dalam darah-EDTA didapatkan dengan analisis spektrofotometer. Gambar tersebut menunjukkan bahwa dalam proses pembentukan pola gigi gergaji tersebut membutuhkan waktu seperti untuk membentuk grafik yang landai (miring) atau tegak. Kemiringan dari gigi gergaji ini berbeda-beda setiap waktunya. Seperti yang ditunjukkan pada grafik yaitu saat t_{1015} sampai t_{1022} yang berbeda antara N26 dengan BBD4. Kemiringan ini menunjukkan cepat atau lambatnya gerak dari interaksi eritrosit yang sesuai dengan hukum Coulomb. Pola semakin landai menunjukkan semakin lambatnya gerak eritrosit untuk saling menjauh atau mendekat sehingga membuat gaya Coulomb kecil. Sebaliknya jika semakin tegak atau tajam grafik, maka semakin cepat pula gerak dari eritrosit untuk saling menjauh atau mendekat dan gaya Coulomb akan semakin besar pula. Dalam gambar tersebut pada subjek N26 lebih tajam (tegak) dari pada BBD4 yang lebih landai. Ini menunjukkan gaya Coulomb pada N26 lebih besar dari BBD4. Namun berbeda saat t_{1057} sampai t_{1064} subjek N26 lebih landai dari pada BBD4. Sehingga gaya Coulomb dari BBD lebih besar dari N26.

Proses kenaikan dan penurunan

pada saat t lainnya dalam grafik memungkinkan memiliki hasil yang beragam. Dapat disimpulkan bahwa gaya Coulomb setiap waktunya tidak menentu (dapat berubah-ubah) dan tidak sama disetiap rentang titik waktunya karena adanya pengaruh dari protein *biomarker* pada darah subjek tumor payudara dan subjek normal menyebabkan interaksi gaya Coulomb berbeda, sehingga jika diamati berdasarkan grafik nilai absorbansi terhadap waktu tersebut sebenarnya dari hukum Coulombnya sudah menunjukkan adanya perbedaan antara kedua subjek uji, namun penulis mengalami kesulitan dalam melakukan pengamatan karena sangat banyaknya jumlah titik (kenaikan atau penurunan pada grafik), maka perlu dilakukan pengamatan secara menyeluruh untuk membandingkan lebih mendetail antara subjek satu dengan lainnya di tiap-tiap titiknya yang jumlahnya sangat banyak.

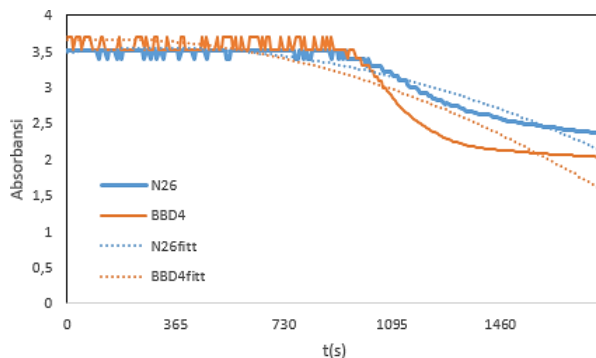
Penelitian ini sangat sulit dilakukan untuk melihat perbedaan dengan gaya Coulomb pada subjek Tumor Payudara dengan subjek normal karena penerapan hukum Coulomb sebenarnya berlaku untuk sistem mati sedangkan eritrosit-eritrosit yang terdispersi dalam plasma darah-EDTA masih dalam kondisi hidup sehingga mekanisme transport ion melalui membran eritrosit masih terjadi (Nugroho, 2018). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga bisa diketahui perbedaannya secara detail. Analisis yang bisa digunakan yaitu pendekatan deterministik dan stokastik.

D. Pola Perubahan Absorbansi Eritrosit

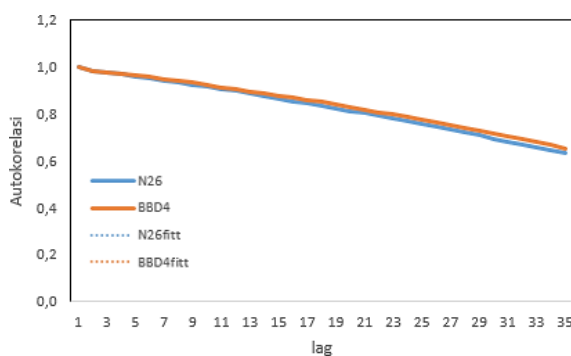
Interaksi eritrosit dalam darah-EDTA terjadi disertai dengan endapan darah, maka pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi dari pendekatan deterministik dan stokastik. Gambaran pola proses dinamika perubahan

potensial zeta dalam darah- EDTA dari kelompok subjek normal dan tumor payudara sulit diidentifikasi secara langsung. Maka diperlukan analisis yang dapat menemukan ciri khas (karakter) dari grafik yang bisa menggambarkan perubahan potensial zeta tersebut dengan menggunakan model matematis (bentuk fungsi kuadrat) yaitu pendekatan deterministik.

Interaksi antar eritrosit terjadi secara acak dan tidak pasti (proses yang kompleks), sehingga model pendekatan deterministik tidak dapat digunakan untuk menganalisis proses tersebut. Pendekatan yang cocok digunakan adalah pendekatan stokastik yang secara umum menggunakan fungsi autokorelasi. Proses perhitungannya menggunakan *google colab* dengan bahasa pemrograman *python*. Gambar 8 merupakan grafik hasil keluaran dari *fitting* kurva.



(a) Pendekatan Deterministik



(b) Pendekatan Stokastik

Gambar 8. Grafik *fitting* untuk analisis data dengan pendekatan stokastik dan deterministik

Gambar 8 (b) menunjukkan nilai autokorelasi yang semakin menurun absolut maksimum terjadi pada selang waktu (*lag*) ke-2 sampai ke-35. *Lag* tersebut menunjukkan bahwa derajat korelasi tertinggi dari nilai respon spektrofotometer pada setiap satuan waktu terjadi pada saat *lag* ke-1 dan nilai terendah pada *lag* ke-35. Nilai autokorelasi terendah dari kelompok subjek normal adalah -0.14826328 dimiliki oleh N6, sedangkan 0.00843291 pada kelompok subjek tumor payudara yaitu BBD12. Nilai parameter deterministik dan stokastik dari kedua kelompok sampel tersebut kemudian diuji normalitasnya menggunakan teknik *Shapiro-Wilk* test. Selanjutnya dilakukan uji beda pada kedua kelompok sampel tersebut. Masing-masing parameter di uji beda antara kelompok subjek normal dan kelompok subjek tumor payudara. Keenam parameter yang terdiri dari 3 parameter deterministik dan 3 parameter stokastik hampir seluruhnya berbeda bermakna yaitu parameter d_1 , d_2 , s_1 , s_2 , dan s_3 dengan nilai P secara berturut-turut 2.67×10^{-7} , 1.68×10^{-5} , 6.22×10^{-5} , 3.94×10^{-7} , dan 9.95×10^{-8} . Keenam parameter yang diperoleh hanya ada satu yang tidak berbeda secara bermakna yaitu parameter d_3 ($P = 0.181$).

SIMPULAN

Data pola interaksi eritrosit dalam darah-EDTA pada penderita tumor payudara dan subjek normal tidak menentu sehingga sulit dianalisis berdasarkan hukum Coulomb. Berdasarkan pendekatan deterministik (d) dan stokastik (s), perbedaan pola absorbansi eritrosit dalam darah-EDTA pada penderita tumor payudara dan subjek normal berbeda secara signifikan pada parameter d_1 , d_2 , s_1 , s_2 , dan s_3 , namun tidak berbeda pada parameter d_3 .

REFERENSI

- ACS. (2019). *Non cancerous Breast Conditions*, American Cancer Society. Diakses pada 17 Februari 2022 dari <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/non-cancerous-breastconditions.html>
- Anonim. (2020). Jenis Kanker ini Rentan Menyerang Manusia. Diakses pada 9 Oktober 2020 dari <https://www.kemkes.go.id/article/view/20011400002/jenis-kanker-ini-rentan-menyerang-manusia.html>.
- Ayu, Shinta, A., dan Rilyani. (2016). Pengaruh Penyuluhan Kesehatan Terhadap Keterampilan Remaja Putri dalam Melakukan Upaya Deteksi Dini Kanker Payudara di SMA Kartikatama Metro Tahun 2016. *Jurnal Kesehatan Holistik (The Journal of Holistik Healthcare)*, 10 (3) 1-4. doi: 10.33024/hjk.v10i3.262.
- Budijanto, D. (2015). Data dan Informasi Kesehatan “Buletin Jendela”. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Colomer, R., Aranda-Lopez, I., Albanell, J., Garcia-Caballero, T., Ciruelos, E., Lopez-Garcia, M.A., dkk. (2018). *Biomarkers in Breast Cancer: A Concensus Statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology*. *Clin Transl Oncol*, 20 (8), 815-826, doi: 10.1007/s12094-017-1800-5.
- Dadi, M. dan Yasir, M., (2022), *Spectroscopy and spectrophotometry: principles and Applications for Colorimetric and Related other Analisis*, IntechOpen, 1-22. DOI: 10.5772/intechopen.101106
- Fadli, R. (2021). Cara Efektif Mencegah Tumor Payudara. Diakses pada 12 Januari 2022 dari www.halodoc.com/artikel/cara-efektif-mencegah-tumor-payudara.
- Faria, S. S., Morris, C.F., Silva, A. R., Fonseca, M. P., Forget, P., Castro, M. S., & Fontes, W. (2017). *A Timely Shift from Shotgun to Targeted Proteomics and How it Can Be Groundbreaking for Cancer Research*. *Frontiers in Oncology*, 7, 1-28. doi: 10.3389/fonc.2017.00013.
- Fernandes, H.P., Cesar, C.L, dan Barjas-castro, M., L, 2011, Electrical Properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation, *Rev Bras Hematol Hemoter*. 33(4), 297-301.
- Imam, M. F. (2020). Pola Agregasi Sel Darah Merah dalam Darah-EDTA Penderita Kanker Payudara Ditinjau dari Hukum Stokes. Skripsi UNY Yogyakarta.
- Lacey, J. V., Jr Kreimer, A. R., Buys, S. S., dkk. (2009). *Breast Cancer Epidemiology According to Recognized Breast Cancer Risk Factors in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort*. *MBC Cancer*. 9:84. Diakses pada 20 Februari 2022 dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19292893>.
- Lelangan, R. A., Waworuntu, O., & Mintjelungan, C. N. (2016). Uji Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamian L.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah PS. Agrobisnis Perikanan UNSTRAT*. Diunduh dari <https://ejournal.unstrat.ac.id/ind>

ex.php/egigi/article/download/1416
1/13 735

- Nugroho, K. A. (2018). Pola Agregasi Sel dalam Darah-EDTA dengan Metode Spektrofotometri pada Penderita Kanker (Disertasi). Yogyakarta: UGM.
- Prakash, Mishra, Malviya, sharma, 2014, Measurement Techniques and Pharmaceutical Applications of Zeta Potential: A Review, *Journal of Chronotherapy and Drug Delivery*, 5(2), 33-40.
- Putri, B. J. (2015). Kanker Usus Besar Penyebab Kematian Ketiga Terbesar di Indonesia. Diakses pada 9 Oktober 2020 dari <https://www.liputan6.com/health/read/2390583/kanker-usus-besar-penyebab-kematian-ketoga-terbesar-di-indonesia>.
- Rachmansyah, R. (2022). Optimasi Material Target pada Beam Shaping Assembly untuk Boron Neutron Capture Therapy Menggunakan Program PHITS (Skripsi). Yogyakarta: UGM.
- Sigma MMB, Panda K, Dasiah S. (2013). *A Clinico-Pathological Study on Benign Breast Diseases*. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 7(3):503-506.
doi: 10.7860/JCDR/2013/5355.2807
- Septarini, H. (2014). Gambaran Kejadian Tumor Payudara di RSUD Serang Tahun 2013 (Skripsi). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Septiani, M. (2022). Pola Absorbansi Eritrosit pada darah-EDTA Penderita Artritsi Reumatoid Berdasarkan Hukum Stokes (Skripsi). Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.