

kce  
ke  
571.974  
Pen

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PAMERAN** 01 DEC 1999 **SELESAI**

**PENGARUH PENURUNAN RESPON IMUN SELULER TERHADAP  
PENINGKATAN PROGRESIVITAS KANKER PAYUDARA PADA  
MENCIT (Mus musculus L) AKIBAT INDUKSI BENZOPIRENA**

Ketua Peneliti :

**Drs. Saikhu Akhmad Husen**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

3000160993141

**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh : Dana Rutin Unair 1998/1999  
SK.Rektor Nomor : 6128/J03/PL/1998  
Nomor : 50

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PENGARUH PENURUNAN RESPON IMUN SELULER TERHADAP  
PENINGKATAN PROGRESIVITAS KANKER PAYUDARA PADA  
MENCIT (*Mus musculus L*) AKIBAT INDUKSI BENZOPIRENA**

**Peneliti :**

**Drs. Saikhu Akhmad Husen  
Drs. Salamun, M.Kes  
Dra. Alfiah Hayati  
Dra. Dwi Winarni, M.Si  
Tri Nurhariyati, S.Si**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**Dibiayai oleh : Dana Rutin Unair 1998/1999**

**SK. Rektor Nomor : 6128/J03/PL/1998**

**Nomor : 50**

## RINGKASAN PENELITIAN

- Judul : PENGARUH PENURUNAN RESPON IMUN SELULER TERHADAP  
PENINGKATAN PROGRESIVITAS KANKER PAYUDARA PADA  
MENCIT (*Mus musculus* L) AKIBAT INDUKSI BENZOPIRENA
- Peneliti : Drs. Saikhu Akhmad Husen  
Drs. Salamun, M.Kes.  
Dra. Alfiah Hayati  
Dra. Dwi Winarni, M.Si.  
Tri Nurhariyati, S.Si.
- Instansi : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
- Biaya : Dana Rutin universitas Airlangga 1998/1999  
SK Rektor Nomor : 6128/JO3/PL/1998  
Nomor Urut : 50

---

Benzopirena merupakan senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH), yang banyak terdapat dalam asap rokok, gas buangan kendaraan bermotor, asap dari proses pembakaran bahan bakar organik, makanan yang diasap atau dipanggang dan bersifat prekarsinogenik. Sampai saat ini belum diketahui mekanisme penurunan respon imun seluler terhadap peningkatan progresivitas kanker payudara akibat induksi benzopirena.

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan, apakah induksi benzopirena dapat menurunkan jumlah makrofag dan meningkatkan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, serta apakah ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit.

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah, ada penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi dengan benzopirena, serta ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi benzopirena.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan terjadinya penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi

benzopirena. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi ilmiah dalam mengungkap terjadinya penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang terpapar benzopirena.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Medisinal FMIPA Universitas Airlangga, dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Pada penelitian ini digunakan 20 ekor mencit betina yang berumur 8 minggu dengan berat badan 20-25 gram. Sampel penelitian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3). Sebagai kontrol, setiap ekor mencit diinjeksi dengan minyak olivarium intradermal, 3 hari sekali selama 10 kali. Kelompok perlakuan setiap ekor mencit diinjeksi dengan benzopirena 5 mg/kg berat badan (P1), 10 mg/kg berat badan (P2), dan 20 mg/kg berat badan (P3), intra dermal 3 hari sekali selama 10 kali. Selanjutnya mencit diaklimatisasi selama 60 hari untuk menumbuhkan sel kanker. Pada hari ke 61 setiap ekor mencit dikorbankan untuk diambil organ kelenjar payudaranya, dan dibuat sediaan histopatologis.

Untuk menjawab permasalahan apakah induksi benzopirena dapat menurunkan jumlah makrofag dan meningkatkan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, data dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA dan dilanjutkan dengan uji LSD. Sedangkan untuk menjawab permasalahan apakah ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, data dianalisis dengan uji korelasi dari pearson yang dilanjutkan dengan uji t.

Hasil analisis statistik dengan uji ANAVA, menunjukkan bahwa injeksi benzopirena intradermal dapat menurunkan jumlah makrofag dan meningkatkan hiperplasia sel myoepitel. Hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan tingkat penurunan jumlah makrofag dan perbedaan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara secara bermakna pada taraf signifikansi 0,01. Hasil analisis korelasi yang dilanjutkan dengan uji t menunjukkan adanya korelasi negatif antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit pada taraf signifikansi 0,05.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa induksi benzopirena dengan dosis yang berbeda dapat menurunkan jumlah makrofag dan meningkatkan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, serta ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah sel myoepitel kelenjar payudara mencit. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan variabel *immune survailnce* yang lainnya seperti pemeriksaan sel T dan NK sel yang memerlukan marker tertentu dengan menggunakan metode imunohistokimia.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah. puji syukur kehadiran Allah SWT, yang dengan rahmat dan hidayahNya telah memberikan kekuatan dan ketabahan kepada penulis, sehingga dapat melaksanakan penelitian dan menyusun laporan penelitian ini.

Pada kesempatan pertama, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi tingginya atas diterimanya penelitian ini dengan dana rutin dari Universitas Airlangga tahun anggaran 1998/1999, melalui Ketua lembaga Penelitian Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar besarnya kepada Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS. atas kritik dan saran yang telah disampaikan kepada penulis selama penyusunan laporan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik dalam penyiapan bahan maupun dalam pemrosesan jaringan sediaan histopatologi.

Penulis menyadari bahwa dalam laporan ini masih terdapat berbagai kekurangan, namun penulis berharap laporan ini dapat memberikan informasi ilmiah bagi pengetahuan dan semoga berguna dalam pengembangan penelitian lebih lanjut.

Surabaya, 1 Februari 1999

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN PENELITIAN .....	i
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang Permasalahan .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Hipotesis Penelitian .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Benzopirena Senyawa Karsinogenik .....	5
2.2 Benzopirena dan Respon Imun Seluler .....	8
2.3 Karsinogenesis Kanker Payudara .....	10
BAB III METODE PENELITIAN .....	13
3.1 Rancangan Penelitian .....	13
3.2 Bahan dan Alat penelitian .....	14
3.2.1 Bahan penelitian .....	14
3.2.2 Alat Penelitian .....	14
3.2.3 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	14
3.3 Variabel penelitian .....	15

3.4	Cara Kerja Penelitian .....	15
3.5	Cara Pembuatan Sediaan Histopatologis Kelenjar Payudara .....	16
3.6	Analisis Data .....	17
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....		18
4.1	Hasil Penelitian .....	18
4.2	Analisis Data.....	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		27
5.1	Kesimpulan .....	27
5.2	Saran .....	27
DAFTAR PUSTAKA .....		28
LAMPIRAN		



## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Hasil penghitungan rerata jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit per lapang pandang untuk tiap-tiap individu .....	18
2.	Hasil penghitungan rerata jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit per lapang pandang untuk tiap-tiap individu .....	18
3.	Hasil uji F penurunan jumlah makrofag .....	21
4.	Hasil uji F peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit ..	21
5.	Hasil uji LSD penurunan jumlah makrofag .....	22
6.	Hasil uji LSD peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit ..	23
7.	Hasil penghitungan analisis korelasi dan uji t .	23

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Benzo(a)pyren .....	5
2.	Biotransformasi dan aktivasi metabolisme senyawa karsinogenik benzo(a)pyrene .....	7
3.	Skema rancangan penelitian .....	13
4.	Grafik penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit akibat induksi benzopirena .....	19
5.	Grafik analisis korelasi anatar penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel .....	24
6.	Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok kontrol .....	32
7.	Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok perlakuan 1 .....	32
8.	Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok perlakuan 2 .....	33
9.	Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok perlakuan 3 .....	33

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Benzopirena merupakan senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH), yang banyak terdapat dalam asap rokok, gas buangan kendaraan bermotor, asap dari proses pembakaran bahan bakar organik, makanan yang diasap atau dipanggang dan bersifat prekarsinogen. Dengan adanya aktivitas enzimatik, senyawa ini akan berubah menjadi karsinogenik, yang dapat menyebabkan terbentuknya kanker pada berbagai organ tubuh, terutama organ tubuh yang ada di permukaan, seperti payudara, kulit, serviks, saluran nafas dan saluran pencernaan makanan (Casarett, 1986; Wasito, 1992), serta berkemampuan menekan sistem imunitas (Hardin, 1992; Hengartner, 1996). Sampai saat ini belum diketahui mekanisme penurunan respon imun seluler terhadap peningkatan progresivitas kanker payudara akibat induksi benzopirena.

Sebagaimana telah diketahui, bahwa respon imun yang mampu mengendalikan maupun menghancurkan, perkembangan sel kanker adalah respon imun seluler (*immune surveillance*). Jika respon imun seluler terutama yang dilakukan oleh makrofag, sel T dan NK sel, mengalami penurunan karena induksi benzopirena maka akibatnya dapat meningkatkan progresivitas sel kanker (Putra, 1997a).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Dean ( 1989, dalam Marhendra , 1995), pemaparan beberapa jenis senyawa hidrokarbon aromatis polisiklik, termasuk benzopirena dilaporkan bahwa senyawa benzopirena dapat menekan tanggapan antibodi. Benzopirena bereaksi dengan cara menghalangi produksi interleukin-1 (IL-1) yang menyebabkan kelainan induksi kimia pada fungsi sel, sehingga sel kehilangan kemampuan untuk berproliferasi. Menurut Stuman,1979 (Putra,1997b), pemberian 3-methylcholantrene atau 7,12 dimethylathracene (DMBA), pada tikus akan mengganggu *immun surveillance*, karena bahan tersebut dapat menekan respon imun seluler. Bahan DMBA dapat menghambat aktifitas limfosit T helper dan pertumbuhan limfosit B. Di samping itu menurut Davila (1996), pemaparan beberapa senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon yang bersifat immunosupresif, dilaporkan bahwa benzopirena bersifat sangat immunotoksik, dan berpotensi menurunkan respon sel T pada tikus.

Berkaitan dengan berbagai fakta pada latar belakang tersebut di atas, sampai saat ini belum ada penjelasan tentang mekanisme penurunan respon imun seluler terhadap peningkatan progresivitas kanker payudara akibat induksi benzopirena. Untuk itu dipandang perlu untuk dilakukan penelitian tentang " Pengaruh Penurunan Respon Imun Seluler Terhadap Peningkatan Progresivitas Kanker Payudara Pada Mencit ( *Mus musculus,L* ) Akibat Induksi Benzopirena " berdasarkan pendekatan imunopatobiologik.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut.

1. Apakah induksi benzopirena dapat menurunkan jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit ?
2. Apakah induksi benzopirena dapat meningkatkan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel pada kelenjar payudara mencit ?
3. Apakah ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel pada kelenjar payudara mencit yang diinduksi dengan benzopirena ?.

## 1.3 Hipotesis Penelitian

1. Ada penurunan jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit yang diinduksi dengan benzopirena
2. Ada peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi dengan benzopirena
3. Ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi dengan benzopirena.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Membuktikan terjadinya penurunan jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit yang diinduksi benzopirena
2. Membuktikan terjadinya peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi benzopirena
3. Membuktikan adanya hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang diinduksi benzopirena.

#### 1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi ilmiah, dalam mengungkap mekanisme terjadinya penurunan jumlah makrofag, yang berkaitan dengan peningkatan jumlah hiperplasia sel myoepitel kelenjar payudara mencit yang terpapar benzopirena. Mekanisme ini dapat digunakan sebagai upaya pencegahan paparan benzopirena lebih lanjut, untuk menghindari terjadinya peningkatan progresivitas kanker payudara, berdasarkan pendekatan imunopatobiologik.

## BAB II

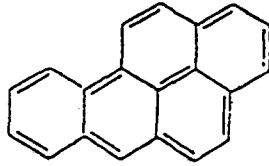
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Benzopirena Senyawa Karsinogenik

Bahan kimia yang dapat menyebabkan abnormalitas sel, dan dapat menginduksi terbentuknya kanker disebut sebagai bahan karsinogenik. Beberapa substansi kimia pada tar dari arang yang dapat menginduksi terbentuknya kanker, diketahui sebagai senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon ( Hardin,1992 ).

Senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH), adalah turunan benzena, dengan atom karbon yang digunakan bersama diantara cincin benzena. Sifat karsinogenik senyawa ini tergantung pada jumlah cincin benzena yang terdapat pada molekul tersebut. Substansi yang mempunyai kurang dari 4 cincin benzena tidak bersifat karsinogenik, sedangkan substansi yang mempunyai 5 atau lebih cincin benzena, umumnya sangat karsinogenik dan potensial sebagai penyebab terbentuknya kanker (Klien,1982; Casarett,1986).

Salah satu senyawa PAH yang bersifat karsinogenik adalah benzopirin (Gambar 1 ). Senyawa ini pada mulanya dijumpai pada tar dari arang, tetapi kemudian juga ditemukan di dalam asap rokok, gas buangan kendaraan bermotor, jelaga dari sisa pembakaran kayu dan batu bara serta makanan yang diasap atau dipanggang ( Sugianto,1992 ).

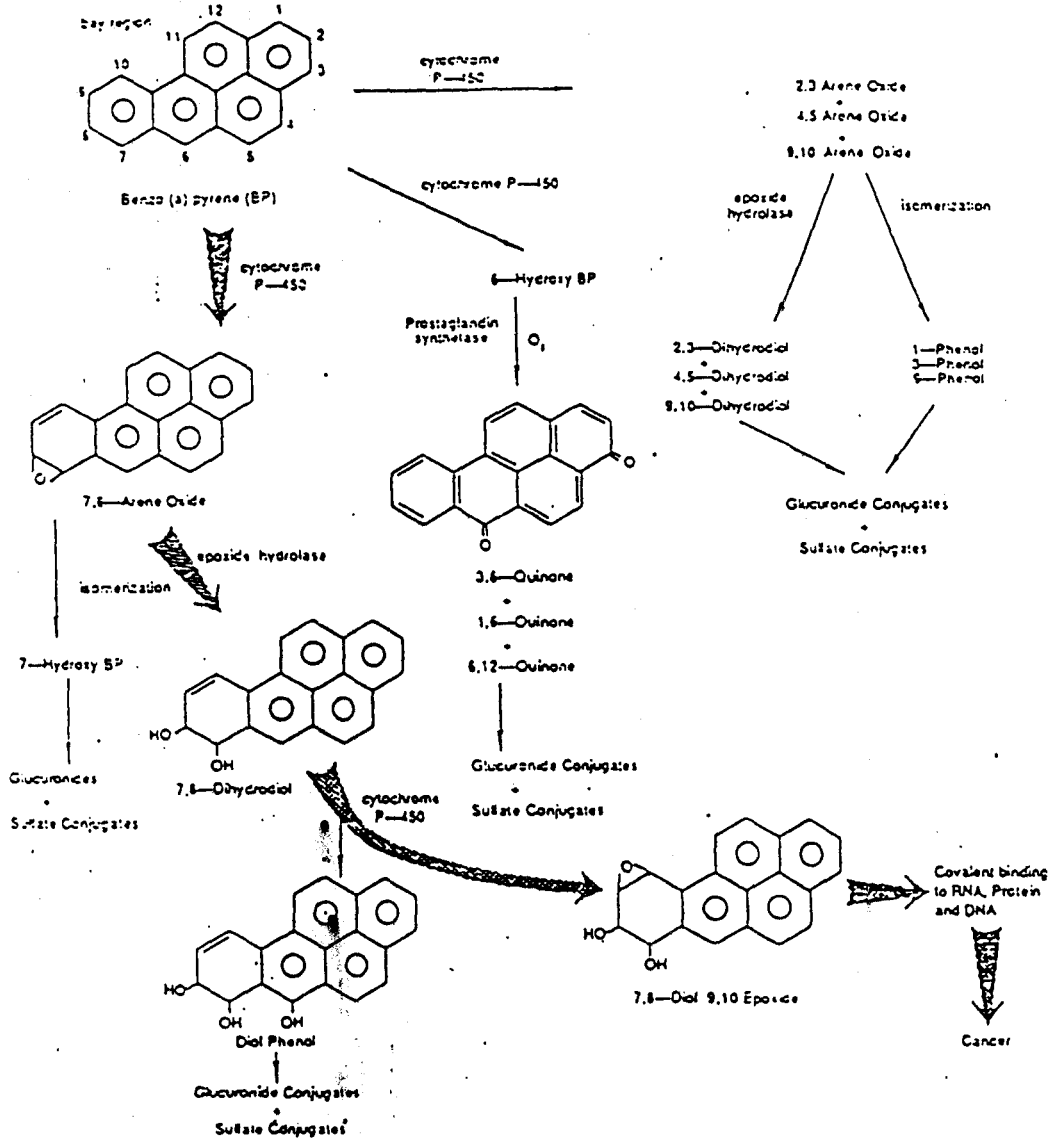


Gambar 1. Benzo(a)pyrene ( Casarett,1986)

Benzopirin sebenarnya merupakan suatu senyawa prekarsi-  
nogenik, yaitu suatu bahan yang akan menjadi karsinogenik  
apabila membentuk senyawa *proximate carcinogen* dan *ultimate*  
*carcinogen* melalui aktivitas enzimatis ( Hardin ,1992, Casa-  
rett,1986). *Proximate carcinogen* adalah metabolit intermedi-  
et, sedangkan *ultimate carcinogen* merupakan metabolit akhir  
yang bersifat karsinogenik. Senyawa benzopirin setelah berada  
di dalam sel, pertama kali dimetabolisasi oleh *mixed func-*  
*tion oxidase*, yang mengandung berbagai bentuk sitokrom P  
450 yang berlokasi pada membran retikulum endoplasma, dengan  
hasil akhir berupa senyawa nontoksik dan senyawa karsinogenik  
( Gambar 2 ). Reaksi detoksifikasi yang menghasilkan senyawa  
nontoksik berasal dari perubahan senyawa epoksi menjadi  
senyawa fenol melalui reaksi enzimatis, berkonjugasi dengan  
glutation. Senyawa fenol selanjutnya bereaksi dengan asam  
difosfoglukuronat atau sulfat. Reaksi lain yang menghasilkn  
senyawa karsinogen adalah reaksi yang mengubah senyawa epoksi  
menjadi dihidroksil, atas peran enzim epoksi hidrolase menja-  
di benzopirena 7,8 diol. Selanjutnya senyawa tersebut dime-  
tabolisir menjadi *ultimate carcinogen*, yaitu benzopirena  
7-8 dihidrodiol 9,10 epoksi, yang merupakan suatu senyawa  
yang sangat reaktif (Weiss,1993)



Menurut Kumar et al (1997), senyawa ultimate carcinogen dapat membentuk ikatan dengan DNA, RNA dan protein dari sel sasaran. Aktivitas ini dilakukan dengan cara mengikat guanin yang merupakan basa DNA, sehingga dapat menyebabkan terjadinya kesalahan dalam memilih pasangan basa pada waktu replikasi. Ikatan kovalen pereaksi elektrofilik pada DNA dapat menimbulkan tumor, karena terjadi kesalahan replikasi DNA, hibridisasi sel dan perubahan dalam kromosom.



Gambar 2. Biotransformasi dan aktivasi metabolisme senyawa karsinogenik benzopirena (de Bethizy et al, 1989)

## 2.2 Benzopirena dan Respon Imun Seluler

Sistim imun seluler terdiri dari beberapa macam tipe sel, yaitu makrofag, sel T dan sel NK. Berbagai sel tersebut berkembang dari stem sel pluripotent dalam sumsum tulang. Beberapa sel diproses lagi melalui timus menjadi limfosit T, sedangkan sel yang lain dikirim ke jaringan ekuivalen bursa menjadi limfosit B (Bellanti, 1993). Komponen sistim imun dapat dijumpai pada darah perifer, cairan limfatik dan jaringan limfoid yang meliputi sumsum tulang, lien, timus, nodus limfatikus dan jaringan limfatik yang berhubungan dengan usus. Pembaharuan dan pemasakan sel-sel tersebut terjadi secara terus menerus, dan aktivitasnya akan tampak apabila terdapat agen yang menginfeksi atau adanya pembentukan tumor. Pengaturan aktivitas ini didasarkan pada pengenalan atas self dan non self, reaksi terhadap sesuatu yang non self merupakan suatu respon pertahanan (Dean, 1989, dalam Marhendra, 1995).

Fungsi sistim imun dapat dibedakan atas dua mekanisme yaitu : mekanisme spesifik dan non spesifik. Mekanisme spesifik akan menghilangkan materi asing secara spesifik dan diperlukan sensitisasi, mekanisme ini melibatkan produksi antibodi dan induksi efektor limfosit, yang menghasilkan respon imun yang dikenal sebagai respon imun humoral dan respon imun seluler. Karakteristik dari respon ini adalah adanya spesifitas, heterogenitas dan memori. Respon ini mempunyai dua komponen, yaitu komponen primer yang terjadi pada paparan pertama antara sel imunokompeten dengan antigen,

yang diikuti dengan fase induksi, yaitu selama proliferasi limfosit belum selesai dan belum ada antibodi atau mediator yang dihasilkan untuk berikatan dengan agen tersebut. Komponen respon imun sekunder muncul apabila ada kontak selanjutnya antara agen yang sama. Kontak ini memicu pengematan ketahanan imunologik dengan produksi antibodi yang spesifik. Mekanisme respon imun yang terjadi adalah melalui respon imun humoral dan respon imun seluler. Sebaliknya pada mekanisme respon imun non spesifik, terjadi tanggapan terhadap materi asing secara tidak spesifik dan tidak diperlukan sensitisasi, mekanisme ini melibatkan sel fagositik, yaitu granulosit dan makrofag ( Bellanti,1993 ).

Materi yang dapat menimbulkan reaksi imunitas antara lain adalah protein asing ( bakteri, virus ), sel sendiri yang telah mengalami perubahan sifat biokimia karena tua dan mati, atau neoplasma. Hubungan antara penekanan imunitas dengan terbentuknya berbagai jenis kanker, telah dibuktikan pada hewan coba yang diperlakukan dengan bahan kimia yang dapat menekan imunitas ( Marhendra,1995). Perlakuan yang menyebabkan penekanan imunitas akan menyebabkan peningkatan terbentuknya kanker dan terjadinya penyakit infeksi. Tanggapan imunologik terhadap kelompok xenobiotik telah banyak diteliti. Salah satu kelompok xenobiotik yang dapat mengubah fungsi imunitas adalah senyawa hidrokarbon aromatis polisiklik. salah satu diantaranya adalah benzopirena (Hardin,1992).

Menurut Stutman,1979 (Putra,1997b), pemberian 3-methylcholantrene atau 7,12 dimethylathracene (DMBA), pada tikus

akan mengganggu *immun surveillance*, karena bahan tersebut dapat menekan respon imun seluler. Bahan DMBA dapat menghambat aktifitas limfosit T helper cell dan pertumbuhan limfosit B. Di samping itu menurut Davila (1996), pemaparan beberapa senyawa PAH yang bersifat immunosupresif, dilaporkan bahwa benzopirena bersifat sangat immunotoksik, dan berpotensi menurunkan respon T sel pada tikus. Benzopirena mampu menekan imunitas humoral, melalui penghambatan pembentukan antibodi, juga terjadi penekanan limfopoiesis sel B, dan juga mampu menekan imunitas yang diperantarai oleh sel.

Adanya indikasi immunotoksitas oleh senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon yang karsinogenik, menunjukkan bahwa senyawa yang berpotensi karsinogenik bersifat menekan sistim imunitas ( Davila, 1996). Kemampuan dalam menekan sistim imunitas ini serta kemampuannya sebagai mutagen, menyebabkan kasus terjadinya peningkatan progresivitas kanker akibat pemaparan senyawa karsinogenik menjadi lebih besar.

### 2.3 Karsinogenesis Kanker Payudara

Proses terjadinya sel kanker payudara seperti halnya pada kanker yang lain, dibagi menjadi 3 tahap yaitu : inisiasi, promosi dan progresi. Tahap inisiasi dimulai dari sel normal yang mengalami transformasi, karena pengaruh bahan karsinogen, seperti virus, radiasi atau bahan kimia ( Cotran, 1994). Beberapa diantara sel yang mengalami perubahan, bisa reversible menjadi normal kembali karena *gene repair*

(Kumar,1997). Pada tahap inisiasi ini yang mengalami perubahan dan gangguan adalah DNA, baik berupa kerusakan pada pita maupun pada rangkaian basa hidroksil, antara lain berupa mutasi. Kerusakan pada sel normal oleh karena karsinogen kimia, merupakan awal dari proses keganasan, sel demikian disebut sebagai "*transformed cell*" yang bersifat irreversible (Kumar,1997). Perubahan yang bersifat irreversible ini akan disusul dengan proses lanjutan pada tahap promosi, yaitu tumbuh menjadi masa jaringan monoklonal, yang tampak sebagai benjolan(tumor). Selanjutnya pada tahap progresi terjadi perubahan masa jaringan monoklonal menjadi heterogen, infasif sampai terbentuk metastasis jauh (Putra, 1997b).

Menurut Darnel(1990), berbagai perubahan yang terjadi pada transformed cell antara lain : sel lebih sedikit memerlukan *growth factor*, sel tidak mampu menghambat pertumbuhan, atau sel kehilangan kemampuan menghambat pertumbuhannya, sel kehilangan *contact inhibition* antar sel, terjadi perubahan pada permukaan sel antara lain : adanya penambahan pergerakan pada permukaan protein, sel lebih mudah diaglutinasi dengan lektin. transport sel lebih cepat dan sel tidak mempunyai fibronektin, sel tidak mempunyai aktin filamen, sel mensekresi protease. sel menghasilkan gen transkripsi yang khas, dan bersifat *immortal*.

Sel yang terinisiasi dan mengalami transformasi tersebut dengan pengaruh promotor, akan mengadakan proliferasi secara perlahan, atau membentuk klon. Pada saat tersebut perubahan sel masih dibatasi oleh kapsul, sehingga tumor ini masih

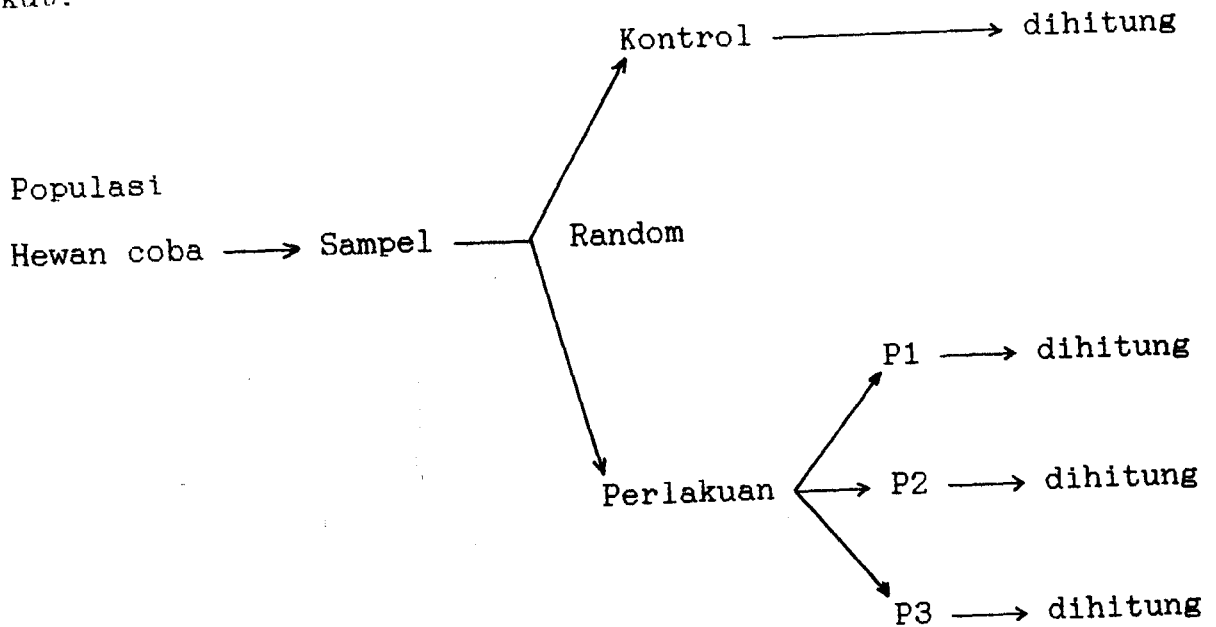
dikategorikan sebagai tumor jinak. Untuk pertumbuhan klon lebih lanjut dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain : kualitas sel kanker, kondisi lingkungan mikro, dan kualitas *immune surveillance*. Interaksi antara tubuh dengan klon *transformed cell* akan menentukan pertumbuhan sel kanker lebih lanjut. Bila kondisi *immune surveillance* rendah, maka progresivitas kanker akan bergerak lebih cepat ( Darnell,1990; Putra,1997b).

*Immune surveillance* efektif terhadap sel kanker yang disebabkan oleh virus, sedangkan kanker yang disebabkan oleh karsinogen kimiawi dan karsinogen fisika, *immune surveillance* kurang berperan. Penurunan kemampuan *immune surveillance* ini, disebabkan oleh adanya sifat immunosupresif dari karsinogen kimiawi, seperti senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, yang berpotensi menghambat aktifitas sel T helper dan pertumbuhan sel B menjadi sel plasma ( Davila,1996). Hilangnya kemampuan *immune surveillance* ini bisa disebabkan oleh radiasi, tindakan pengambilan jaringan timus pada bayi, pemberian serum anti limfosit atau penggunaan obat-obatan yang bersifat immunosupresif. Apabila sel kanker yang timbul disebabkan oleh karsinogen kimiawi yang mengakibatkan sel T kehilangan kemampuannya, maka *immune surveillance* tidak berfungsi lagi, keadaan demikian akan dapat meningkatkan kasus terbentuknya kanker (Putra,1997b).

**BAB III**  
**METODE PENELITIAN**

**3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental sesungguhnya, dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* (Tjokroprawiro, 1997). Secara diagramatis, rancangan penelitian dapat digambarkan alurnya sebagai berikut.



Gambar 3. Skema rancangan penelitian

## 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

### 3.2.1 Bahan Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina spesies *Mus musculus* L, strain BALB/C, yang diperoleh dari Pusvetma Surabaya, dengan umur rata-rata 2 bulan dan berat badan rata-rata 20-25 gram, sebanyak 20 ekor. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah : Benzo(a)pyrene buatan SIGMA, minyak olivarum buatan SIGMA sebagai pelarut. Garam fisiologis (NaCl 0.9%), buffer formalin 10%, etanol, xylol, parafin, aquadest, entellan, Hematoksilin, Eosin.

### 3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang mencit yang terbuat dari bak plastik berisi sekam, ditutup dengan kawat kasa, dilengkapi dengan tempat makan dan botol minum. spet dengan jarum yang ditumpulkan, seperangkat alat bedah, gelas obyek dan gelas penutup, bak plastik, mikroskop sinar binokuler, mikrotom dan pisau mikrotom.

### 3.2.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Medisinal Fakultas MIPA Universitas Airlangga Surabaya, pada bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 1998.



### 3.3 Variabel Penelitian

Varabel Bebas : dosis larutan benzopirena.

Variabel kendali: jenis kelamin, strain dan umur mencit, makanan dan minuman mencit, perawatan dan sanitasi kandang pemeliharaan.

Varabel terikat : jumlah makrofag, jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit.

### 3.4 Cara Kerja Penelitian

1. dari populasi hewan coba sebanyak 20 ekor mencit betina strain BALB/C, diadaptasikan dengan kondisi lingkungan selama 2 minggu, dibagi secara random menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).

Kelompok K : Kelompok kontrol di mana 5 ekor mencit diinjeksi 0,1 ml minyak olivarum intradermal di daerah payudara, 3 hari sekali sebanyak 10 kali injeksi

Kelompok P1 : Kelompok perlakuan 1, di mana 5 ekor mencit diinjeksi 0,1 ml larutan benzopirena intradermal 5 mg/kg berat badan di daerah payudara, 3 hari sekali sebanyak 10 kali injeksi

Kelompok P2 : Kelompok perlakuan 2, di mana 5 ekor mencit diinjeksi 0,1 ml larutan benzopirena intradermal 10 mg/kg berat badan di daerah payudara, 3 hari sekali sebanyak 10 kali injeksi

murni sebanyak 2 kali. Impregnasi jaringan dilakukan dengan parafin cair dan parafin padat yang dicairkan. Selanjutnya dilakukan embedding jaringan di dalam parafin padat, yang sebelumnya dicairkan terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan pemotongan dengan menggunakan mikrotom, dengan ketebalan 5 mikron. Setelah pemotongan dilakukan pewarnaan dengan menggunakan metode pewarnaan HE (Hematoksilin Eosin).

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan rata-rata jumlah makrofag dan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit per lapang pandang. Pengumpulan data dilakukan dengan metode *grateculae*. Untuk menguji hipotesis yang diajukan, data dianalisis dengan uji Anava (Analisis Varians). Apabila perlakuan berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji LSD (Least Significance Difference) untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar perlakuan. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara penurunan jumlah makrofag, dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, data diuji dengan uji korelasi dari Pearson yang dilanjutkan dengan uji t (Sudjana, 1995).

## BAB IV

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan dan penghitungan rerata jumlah makrofag dan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit akibat induksi benzopirena, untuk tiap-tiap individu ditampilkan pada tabel 1, tabel 2 serta gambar 4, di mana tiap-tiap individu diamati sebanyak 4 kali lapang pandang.

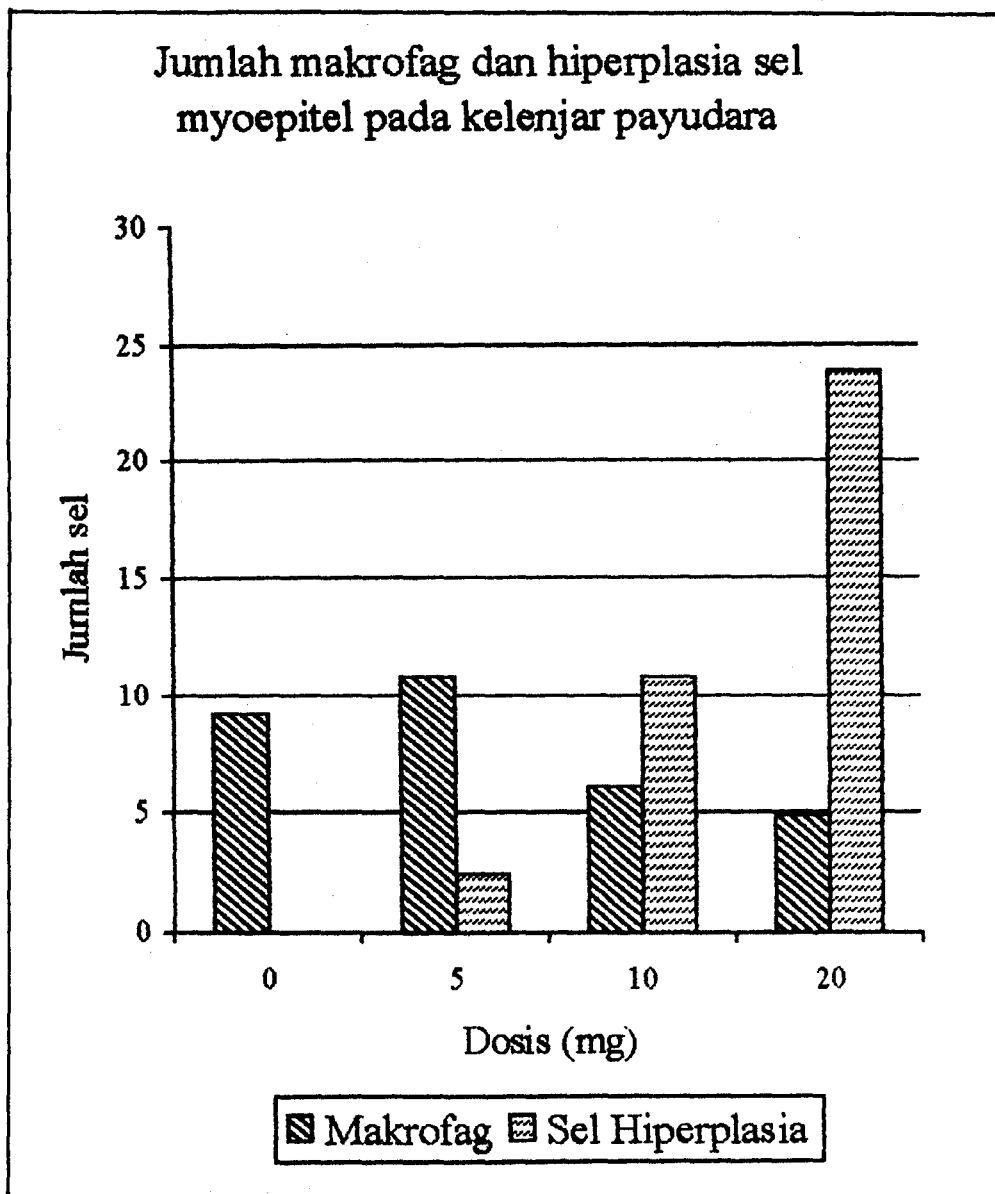
Tabel 1. Hasil penghitungan rerata jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit per lapang pandang untuk tiap-tiap individu

Nomor mencit	Rerata jumlah makrofag			
	K	P1	P2	P3
1	10.00±1.85	11.50±1.29	6.25±1.71	4.00±0.82
2	9.25±1.50	11.00±2.58	5.25±0.96	5.50±1.73
3	9.25±2.22	10.75±2.75	6.25±1.26	5.00±1.16
4	7.75±1.50	9.25±2.06	7.00±1.16	5.50±1.29
5	9.50±2.38	11.50±1.73	5.75±1.71	4.50±1.29

Tabel 2. Hasil penghitungan rerata jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit per lapang pandang untuk tiap-tiap individu

Nomor mencit	Rerata jumlah hiperplasia sel myoepitel			
	K	P1	P2	P3
1	0.00±0.00	0.00±0.00	8.25±10.53	20.00±18.40
2	0.00±0.00	0.00±0.00	16.50±21.42	50.25±10.78
3	0.00±0.00	5.75±6.75	12.25± 9.11	25.25±18.28
4	0.00±0.00	4.00±8.00	10.25±14.61	12.00±24.00
5	0.00±0.00	2.50±5.00	6.75± 8.62	11.75±18.01

± = standart deviasi



Gambar 4. Histogram penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit akibat induksi benzopirena

Dari grafik tersebut di atas dapat diketahui bahwa induksi benzopirena dengan konsentrasi 5 mg/kg berat badan sebanyak 10 kali injeksi, terjadi peningkatan jumlah makrofag dari rerata 9.15 menjadi 10.80. Berarti pada P1 terjadi peningkatan populasi makrofag sebesar 18,03%. Hal ini disebabkan karena benzopirena yang bersifat immunosupresif, pada dosis rendah, belum mempunyai kekuatan sebagai immunosupresif. Sedangkan pada induksi benzopirena dengan konsentrasi 10 mg/kg berat badan dan 20 mg/kg berat badan sebanyak 10 kali injeksi, terjadi penurunan jumlah makrofag dengan rerata sebesar 33,3% dan 46,44% jika dibandingkan dengan kontrolnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 10 mg/kg berat badan benzopirena sudah memperlihatkan sebagai agen immunosupresif. Untuk hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit akibat induksi benzopirena, menunjukkan grafik yang meningkat baik untuk induksi dengan konsentrasi 5 mg/kg berat badan, 10 mg/kg berat badan maupun 20 mg/kg berat badan. Dari data pada tabel 1, tabel 2 serta gambar 4, memperlihatkan bahwa benzopirena sudah bersifat karsinogenik pada dosis 5 mg/kg berat badan, sedangkan untuk sifat immunosupresif baru tampak pada dosis 10 mg/kg berat badan.

Dari tabel 1 dan 2, serta gambar 4, Untuk mengetahui apakah induksi benzopirena, berpengaruh terhadap penurunan jumlah makrofag dan peningkatan hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit, data dianalisis dengan menggunakan uji F. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 3, dan 4.

Untuk mengetahui adanya tingkat perbedaan penurunan jumlah makrofag dan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara menciit, pada keempat kelompok perlakuan, analisis dilanjutkan dengan uji LSD (Least Significance Difference). Hasilnya dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

Tabel 5 Hasil uji LSD penurunan jumlah makrofag

	K	P1	P2	P3
Rerata	9.15	10.80	6.10	4.90
K	9.15	0	1.65*	3.05*
P1	10.80	0	4.70*	5.90*
P2	6.10		0	1.20
P3	4.90			0

$$LSD_{0.01} = 1.61$$

\* = beda signifikan

Tabel 6. Hasil uji LSD peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara menciit

	K	P1	P2	P3
Rerata	0.00	2.45	10.80	23.85
K	0.00	0	2.45	10.80
P1	2.45	0	8.35	21.40*
P2	10.80		0	13.05
P3	23.85			0

$$LSD_{0.01} = 16.99$$

\* = beda signifikan

nik. mampu menimbulkan perubahan dari sel myoepitel normal, menjadi sel myoepitel hiperplastik atipik. Kejadian ini dapat dilihat dari perubahan inti sel menjadi lebih besar dan terjadi hiperkromasi pada inti, serta ditandai dengan peningkatan mitosis sel, sehingga satu tubulus kelenjar payudara terisi penuh dengan sel-sel hiperplastik yang atipik.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa di samping bersifat karsinogenik, benzopirena juga bersifat imunotoksik dan immunosupresif, yang mampu menghambat pembentukan sel-sel imunokompeten seperti makrofag. Penurunan jumlah makrofag pada kelenjar payudara mencit, dapat menyebabkan peningkatan pembentukan sel kanker, karena makrofag berperanan sebagai *antigen presenting cell* (APC), yang berperanan dalam proses pengenalan dan penghancuran sel kanker secara langsung. Penurunan jumlah makrofag dapat menurunkan respon imun seluler, sehingga aktifitas sel kanker menjadi semakin besar. Di samping itu benzopirena juga mampu menghalangi produk interleukin 1 (IL-1) oleh makrofag. Penurunan produk IL-1 juga dapat menghambat aktifitas makrofag dalam merusak sel kanker secara langsung, sehingga pada saat yang sama akan terjadi peningkatan jumlah reseptor Fc immunoglobulin di permukaan makrofag. Apabila makrofag mengalami penurunan jumlah maupun aktifitasnya akibat induksi benzopirena, maka kemampuan makrofag dalam merusak sel kanker akan mengalami penurunan, sehingga populasi sel kanker akan meningkat.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Induksi benzopirena dapat menurunkan jumlah makrofag pada kelenjar payudara menci
2. Induksi benzopirena dapat meningkatkan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara menci
3. Ada hubungan antara penurunan jumlah makrofag dengan peningkatan jumlah hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara menci yang diinduksi dengan benzopirena.

#### 2. Saran

Karena dampak negatif masuknya benzopirena ke dalam tubuh, yang bersifat imunotoksik, immunosupresif dan karsinogenik, maka disarankan untuk penelitian lebih lanjut dilakukan penelitian dengan menggunakan variabel *immune surveillance* yang lain seperti pemeriksaan terhadap sel T dan sel NK, yang memerlukan marker tertentu dengan menggunakan metode imunohistokimia.



- Hardin, JA. 1992. Mechanism by Which Benzo(a)pyrene, and Environmental Carcinogen, Suppresses B Cell Lymphopoiesis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 117(2) : 155- 164.
- Hengartner, H. 1996. Decreased Tumor Surveillance in Perforin-Deficient Mice. *J. Exp. Med.* Nov. 1. 184 : 1781-1790.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 1997. **Pathologic Basis of Disease.** 5<sup>th</sup> edition. London. WB Saunders Company.
- Lu, F.C. 1995. **Toksikologi Dasar: Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Risiko.** Edisi ke 2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Marhendra, APW. 1995. Profil Protein Serum, Struktur Bronkiolus dan Komposisi Leukosit setelah Pemberian Benzopiren Pada Tikus (*Rattus norvegicus, L*). **Tesis Program Pasca Sarjana UGM.** Yogyakarta.
- Martoprawiro, SS. 1992. **Kanker Kegagalan Pengendalian Sel.** Bagian Patologi anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Putra, S.T. 1997a. **Biologi Molekular Kedokteran.** Airlangga University Press. Surabaya.
- 1997b. **Patofisiologi Kedokteran.** Bagian Patologi anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sudiana, I.K. 1991. **Technik Praktis Untuk Jaringan Sel.** Penerbit CV. Dharma Shandi. Jemberana Negara.
- Sudjana, 1989. **Metode Penelitian.** Edisi ke 5. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Sugianto. 1992. **Karsinogenesis Kimiawi.** Materi kursus Singkat Onkologi. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta.

Tjokroprawiro,A. 1997. **Pedoman Penelitian Kedokteran**. Editor oleh Askandar Tjokropreawiro, Widodo Jatim Pudjirahardjo, Suhartono Taat Putra. Airlangga University Press. Surabaya.

Wasito.1992. Inisiasi Promosi Tumorigenik II. Materi Kursus singkat onkologi. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta.

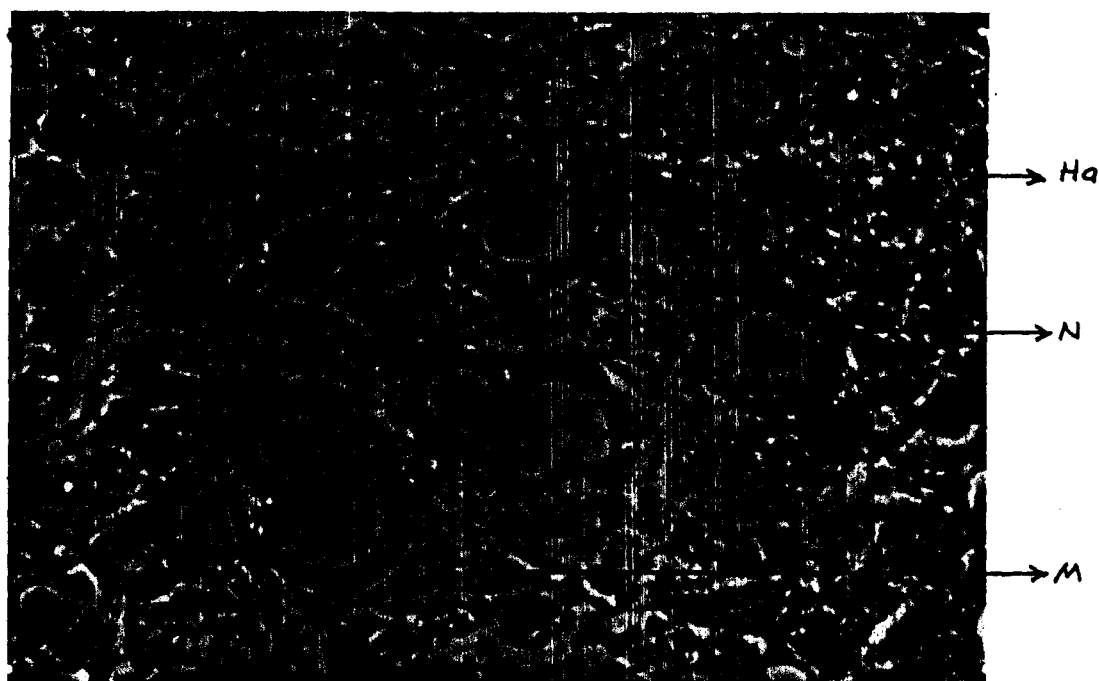
Weiss,GR.1993. **The Cancer Problem in Clinical Oncology**. Prentice Hall Int. Inc

**LAMPIRAN**

Lampiran 1. Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara menciit, kelompok kontrol dan perlakuan



Gambar 6. Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara menciit kelompok kotrol

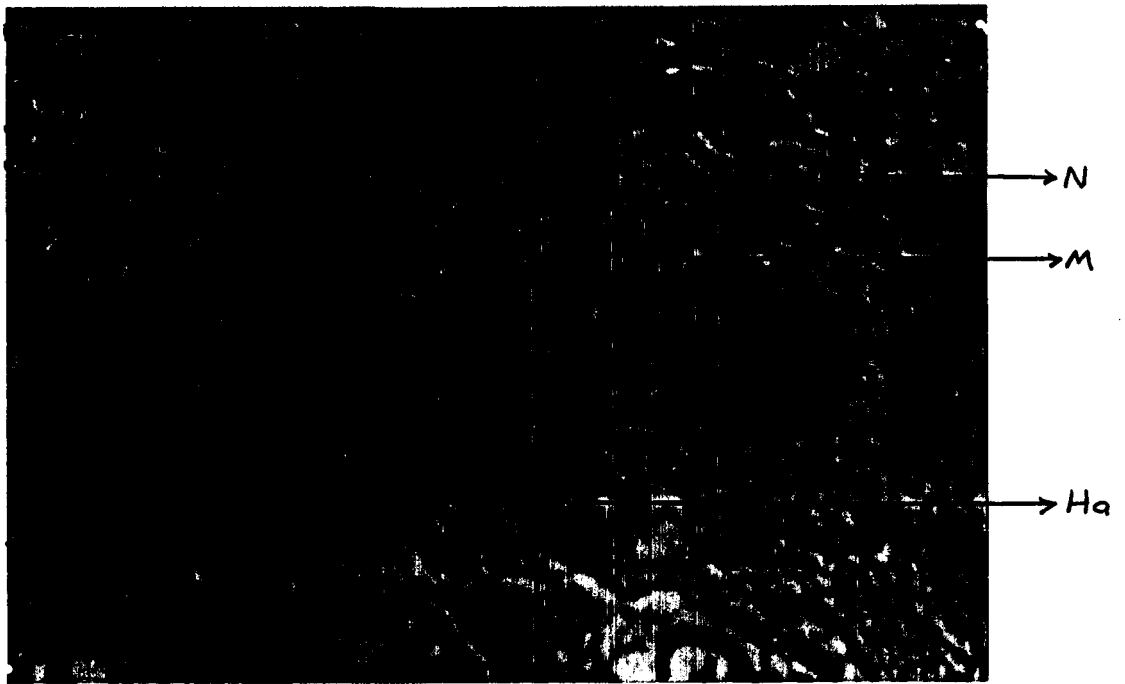


Gambar 7. Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara menciit kelompok perlakuan 1

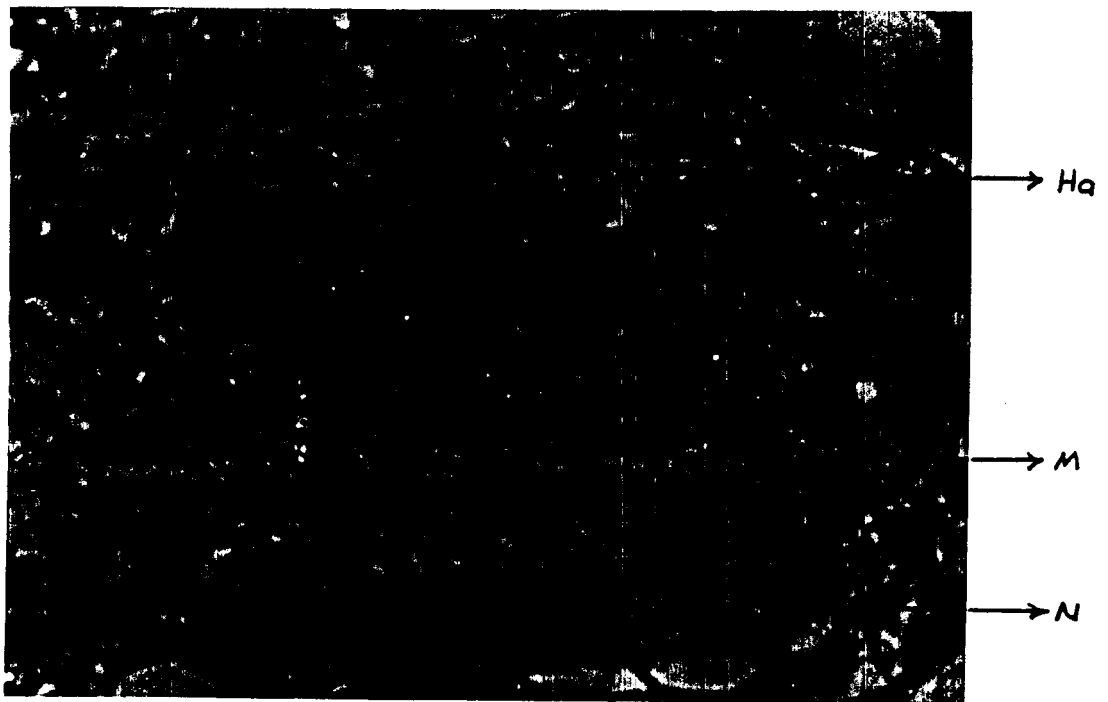
**M = Makrofag**

**Ha = Hiperplasia atipik**

**N = Sel Myoepitel normal**



Gambar 8. Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok perlakuan 2



Gambar 9. Gambar histopatologis irisan kelenjar payudara mencit kelompok perlakuan 3

**M = Makrofag**                      **Ha = Hiperplasia atipik**  
**N = Sel myoepitel normal**