



**GAMBARAN HISTOPATOLOGIK LIMPA
WISTAR YANG DIBERI DIET LIGNIN
DAN DIINDUKSI KARSINOGENESIS KOLON**

(Penelitian observasional laboratorik terhadap Wistar yang diinduksi
1,2 Dimethylhydrazine subkutan, diet tinggi lemak dan protein)

**ARTIKEL
KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan
melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun oleh:

**Margaretha Vianny
NIM : G2A002111**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

Histopathological Pattern of Wistar's Spleen Given Lignin Dietary and Induced Colon Carcinogenesis

(A laboratory observational study on Wistar induced 1,2 DMH,
high lipid & high protein dietary)

Margaretha Vianny*, Noor Yazid AD**, Awal Prasetyo**

ABSTRACT

Background: 1,2 Dimethylhydrazine (DMH) is a potent carcinogen which induces colon carcinogenesis. Lignin can increase bile acid absorption to be excreted through feces, consequently can avoid carcinogenic substance formation. This avoiding carcinogen effect is assumed can prevent spleen's injury in colon carcinogenesis. This study had purpose to see the description of colon carcinogenesis induction and colon carcinogenesis plus Lignin dietary to spleen's histopathological pattern.

Method: This laboratory observational study used 15 Wistars which were divided into 3 groups. Group I, 5 normal Wistars without any intervention. Group II, 5 Wistars induced 1,2 DMH subcutaneous, high lipid and protein dietary. Group III, 5 Wistars given Lignin dietary before and during carcinogenesis induction. At the beginning of 9th week, all of Wistars were terminated and histopathological sample of the spleens were made for furthermore examination. Data include in macroscopic (weight and volume of the spleen) and microscopic (diameter of *centrum germinativum*, white pulp, and marginal zone, also count of lymphocyte, plasma cell, and macrophage). Data were analyzed descriptively and presented in table and graphic.

Result: In group I spleen's volume 0,38±0,04ml; weight 0,33±0,04gr; mean of *centrum germinativum* diameter is 16,00±3,94µm; white pulp 31,60±4,22µm; marginal zone 1,40±0,55µm; count of lymphocyte 29, plasma cell 0, and macrophage 1. Group II volume 0,62±0,13ml; weight 0,76±0,18gr; *centrum germinativum* diameter 12,38±3,54µm; white pulp 27,88±5,25µm; marginal zone 4,38±1,69µm; lymphocyte 23, plasma cell 1, macrophage 2. Group III volume 0,52±0,08ml; weight 0,48±0,08gr; *centrum germinativum* diameter 14,40±2,07µm; white pulp 32,40±3,43µm; marginal zone 1,80±0,45µm; lymphocyte 26; plasma cell 1, macrophage 1.

Conclusion: Spleen's macroscopic data (weight and volume) and the histopathological pattern had been described in normal group (without intervention), carcinogen induced group, and group that was given Lignin dietary before and during carcinogenesis induction.

Key Words: Lignin, spleen's histopathological pattern, colon carcinogenesis induction

* Student of Medical Faculty Diponegoro University

** Lecturer of Pathological Anatomy Medical Faculty Diponegoro University

Gambaran Histopatologik Limpa Wistar yang Diberi Diet *Lignin* dan Diinduksi Karsinogenesis Kolon

(Penelitian observasional laboratorik terhadap Wistar yang diinduksi *1,2 DMH* subkutan,
diet tinggi lemak dan tinggi protein)

Margaretha Vianny*, Noor Yazid AD**, Awal Prasetyo**

ABSTRAK

Latar Belakang: *1,2 Dimethylhydrazine (DMH)* merupakan karsinogen poten yang dapat menginduksi karsinogenesis kolon. *Lignin* meningkatkan absorpsi asam empedu untuk dikeluarkan melalui feses, sehingga mencegah terbentuknya zat-zat karsinogenik. Tidak terbentuknya zat-zat karsinogenik ini diduga mencegah terjadinya jejas pada limpa dalam karsinogenesis kolon. Penelitian ini bertujuan melihat gambaran efek induksi karsinogenesis kolon dan induksi karsinogenesis kolon ditambah diet *lignin* terhadap gambaran histopatologik limpa Wistar.

Metode: Penelitian observasional laboratorik ini menggunakan 15 tikus Wistar yang dibagi tiga kelompok. Kelompok I, 5 tikus normal tanpa diberi perlakuan apapun. Kelompok II, 5 tikus diinduksi *1,2 DMH* subkutan, diet tinggi lemak dan protein. Kelompok III, 5 tikus diberi diet *Lignin* sebelum dan selama induksi *1,2 DMH* subkutan, diet tinggi lemak, dan tinggi protein. Pada awal minggu ke-9 dilakukan terminasi dan dibuat preparat histopatologi limpa tikus untuk diamati lebih lanjut. Data meliputi makroskopis (berat dan volume limpa) dan mikroskopis (rerata diameter dari *centrum germinativum*, pulpa putih, dan zona marginalis serta jumlah limfosit, sel plasma, dan makrofag). Data dianalisis secara deskriptif, kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menurut kelompok perlakuan.

Hasil: Pada limpa kelompok I didapatkan volume $0,38 \pm 0,04$ ml; berat $0,33 \pm 0,04$ gr; rerata diameter *centrum germinativum* $16,00 \mu\text{m}$; pulpa putih $31,60 \mu\text{m}$; jarak zona marginalis sebesar $1,40 \mu\text{m}$; jumlah limfosit 29, sel plasma 0, dan makrofag 1. Kelompok II didapat volume $0,62 \pm 0,13$ ml; berat $0,76 \pm 0,18$ gr; *centrum germinativum* $12,38 \mu\text{m}$; pulpa putih $27,88 \mu\text{m}$; zona marginalis $4,38 \mu\text{m}$; jumlah limfosit 23, sel plasma 1, makrofag 2. Kelompok III didapat volume $0,52 \pm 0,08$ ml; berat $0,48 \pm 0,08$ gr; *centrum germinativum* sebesar $14,40 \pm 2,07 \mu\text{m}$; pulpa putih $32,40 \pm 3,43 \mu\text{m}$; zona marginalis $1,80 \pm 0,45 \mu\text{m}$; jumlah limfosit 26; sel plasma 1, makrofag 1.

Kesimpulan: Data Makroskopis limpa (berat dan volume) dan gambaran histopatologiknya telah dideskripsikan pada kelompok Wistar yang normal (tanpa perlakuan) , kelompok yang diinduksi karsinogenesis , dan kelompok dengan diet *lignin* sebelum dan selama induksi karsinogenesis.

Kata Kunci: *Lignin*, gambaran histopatologik limpa, induksi karsinogenesis kolon.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

LEMBAR PENGESAHAN

Telah disetujui artikel karya tulis ilmiah yang berjudul

Gambaran Histopatologik Limpa Wistar yang Diberi Diet *Lignin* dan Diinduksi Karsinogenesis Kolon

(Penelitian observasional laboratorik terhadap Wistar yang diinduksi
1,2 Dimethylhydrazine subkutan, diet tinggi lemak dan protein)

yang disusun oleh:

Margaretha Vianny
NIM: G2A002111

di depan para penguji pada tanggal 2 Februari 2006 dan telah diperbaiki sesuai
dengan saran-saran yang diberikan

TIM PENGUJI:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

dr. Noor Yazid AD, SpPA(K)
NIP.130 530 281

dr. Awal Prasetyo, M.Kes
NIP. 132 163 893

Ketua Penguji,

Penguji,

Dra.Henna Rya Sunoko,M.E.S.,Apt.

dr.BambangWitjahyo,M.Kes

NIP. 320 002 005

NIP. 131 281 555

PENDAHULUAN

Banyak penelitian yang telah mengungkapkan potensi serat dalam mencegah kanker saluran cerna. *Lignin* adalah salah satu jenis serat tak larut (*insoluble*) yang merupakan komponen keras atau *woodlike* dari tanaman dan biji-bijian.¹ Serat ini tidak dicerna oleh enzim yang dihasilkan manusia atau pun mikroflora di usus.²

Kanker kolon menduduki urutan kedelapan tertinggi penyebab kesakitan di negara berkembang.³ Bahkan di Amerika Serikat, kanker kolorektal merupakan kanker keempat yang sudah umum diderita baik oleh pria dan wanita.⁴ Studi genetik eksperimental dan epidemiologik menunjukkan bahwa karsinoma kolorektal disebabkan oleh interaksi yang kompleks antara kerentanan genetik dan faktor lingkungan atau gaya hidup.⁵ Faktor diet, terutama diet tinggi lemak, tinggi protein, dan rendah serat meningkatkan risiko terjadinya kanker kolon.^{6,7}

Selain faktor genetik, risiko kanker kolon juga meningkat pada usia lanjut, pola makan yang salah (tinggi lemak dan kurang serat makanan), serta mengalami radang usus besar. Risiko terkena kanker kolon dapat diturunkan dengan cara peningkatan konsumsi serat makanan, penurunan konsumsi lemak, dan peningkatan konsumsi probiotik.⁸ Menurut Robbins (1995), diet rendah serat merupakan salah satu predisposisi kanker kolon. Risiko kanker kolon pun menjadi rendah dengan tingginya asupan serat, terutama serat tak larut air. Banyak penelitian mengenai hal ini telah dilakukan, tetapi masih banyak pertentangan diantara para ahli.^{9,10}

Lignin dapat berperan sebagai substrat energi mukosa kolon sehingga dapat

menjalankan fungsinya secara optimal, menurunkan kadar kolesterol serta meningkatkan absorpsi asam empedu untuk dikeluarkan melalui feses. Kemampuan *lignin* sebagai zat anti tumor semakin efektif oleh karena kemampuannya untuk mencegah terbentuknya radikal bebas serta menstimulasi apoptosis sel. *Lignin* terbukti menyebabkan peningkatan berat kering feses dan total ekskresi asam empedu, serta menyebabkan penurunan transit time di usus, pH kolon, dan konsentrasi asam empedu.¹¹ Fermentasi dari serat *lignin* juga menghasilkan asam lemak rantai pendek yang dapat menurunkan pH di usus sehingga dapat mencegah risiko kanker kolon.¹²

1,2 DMH (Dimethylhydrazine) merupakan bahan karsinogen dalam menginduksi kanker kolon. Duckrey et al (1967), pertama kali melaporkan efek karsinogenik *1,2 DMH* pada tikus¹³. Penelitian epidemiologik eksperimental dan klinis menyatakan bahwa diet kaya lemak, protein, alkohol, dan daging berhubungan dengan peningkatan insiden kanker kolorektal.¹⁴ Diet tinggi lemak juga menstimulasi efek karsinogenik *1,2 DMH* pada hewan coba.¹⁵

Induksi *1,2 DMH* mengakibatkan timbulnya cedera atau jejas pada tubuh hospes. Bila sel-sel atau jaringan tubuh mengalami cedera, ada respon yang menyolok pada jaringan hidup di sekitarnya. Respon ini dinamakan peradangan atau inflamasi.¹⁶

Limpa mempunyai fungsi utama sebagai penghasil respon imun spesifik dan fagositosis dari zat-zat asing yang ada dalam sirkulasi. Benda-benda asing seperti mikroorganisme, toksin, atau pun sel-sel abnormal dalam sirkulasi dapat menghasilkan antigen-antigen yang merangsang aktivitas limpa. Perangsangan aktivitas limpa tercermin dengan adanya hiperplasia sel-sel limfoid maupun makrofag.¹⁷ Karsinogen

yang masuk ke dalam tubuh diduga juga dapat mempengaruhi sistem imun.¹⁸ Hiperplasia reaktif dari limpa yang sering disebut juga *inflammatory splenomegaly* dapat disebabkan karena hiperplasia sel mieloid dan limfoid dalam pulpa, serta kongesti eritrosit yang sering terjadi akibat respons terhadap munculnya mediator-mediator inflamasi.¹⁹

Pengaruh limpa secara fungsional terhadap induksi dan pertumbuhan kanker belum diketahui dengan jelas. Kemampuan limpa untuk melindungi individu dari induksi kanker kolon dengan *DMH* kemungkinan tergantung dari pertahanan sistem imun individu tersebut.²⁰ Efek konsumsi serat terhadap proses inflamasi juga belum diketahui dengan pasti. Namun, diduga serat berperan dalam menghambat reaksi inflamasi terhadap jejas atau karsinogen, sehingga memperbaiki gambaran jaringan yang terkena jejas. Ada pula sumber yang menyebutkan bahwa lignin mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas dan menghambat terbentuknya produk-produk karsinogen dari asam empedu.¹¹ Hal ini dapat pula menjadi salah satu faktor yang menghambat reaksi inflamasi terhadap karsinogen.

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang mempelajari tentang peran serat dalam mencegah kanker kolon. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan gambaran mengenai efek induksi 1,2 DMH dan induksi 1,2 DMH bersama dengan *Lignin* melalui respon imun yang terjadi. Respon imun akan diukur berdasarkan gambaran histopatologik limpa tikus Wistar yang meliputi rerata diameter *centrum germinativum*, pulpa putih, jarak zona marginalis, serta jumlah sel limfosit, sel plasma, dan makrofag.

Penelitian ini bermanfaat untuk memberi informasi tentang efek pemberian zat karsinogenik terhadap limpa, kemampuan serat *Lignin* sebagai agent kemopreventif kanker kolon dan peran diet *Lignin* terhadap gambaran histopatologik limpa sebagai wujud respon imun dalam induksi karsinogenesis kolon.

METODE PENELITIAN

Penelitian observasional laboratorik ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Undip selama 9 minggu, dengan rancangan acak lengkap. Populasi tikus Wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi (umur 12 - 18 minggu, berat badan 180-200 gram, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, tidak sakit ataupun mati dalam masa penelitian).

Induksi karsinogenesis dilakukan menurut cara Duckrey (1967) dengan *1,2 DMH* 20 mg/tikus per minggu subkutan selama sembilan minggu. Dosis *Lignin* untuk tikus 200 gram adalah 90 mg atau 0,45 gr/kgBB tikus/hari, sesuai konversi dosis menurut Laurence Bacharach (1964), pemberian *Lignin* dengan cara dilarutkan dalam 1cc aquades dan disonde ke tikus; sedangkan pemberian diet tinggi lemak (24%) dan protein (40%) secara *ad libitum*.¹³

Tikus diaklimatisasi selama satu minggu serta diberi pakan standar dan minum *ad libitum*, kemudian dipilih secara acak dan dibagi menjadi tiga kelompok masing-masing terdiri dari lima tikus. Kelompok I, 5 ekor tikus yang hanya diberi pakan standar (AIN 93M) dan tidak diberikan perlakuan apapun. Kelompok II, 5 ekor tikus yang diberi diet tinggi lemak dan protein serta induksi *1,2 DMH* subkutan. Kelompok III, 5 ekor tikus diberi diet *Lignin* per sonde, kemudian pada

minggu kelima sampai kedelapan dilakukan induksi *1,2 DMH* subkutan serta diet tinggi lemak dan protein. Pada awal minggu kesembilan, seluruh tikus diterminasi lalu diambil limpanya untuk dibuat preparat dengan pengecatan Hematoksilin Eosin, selanjutnya dilakukan pengamatan dengan mikroskop. Tiap limpa tikus dijadikan 1 blok parafin, masing-masing blok parafin dihitung sebagai satu sampel sehingga didapat total sampel adalah 15 buah. Masing-masing sampel dilihat 3 folikel dan dideskripsikan gambaran histopatologisnya.

Pengukuran limpa Wistar dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis yaitu mengukur berat limpa dengan timbangan elektronik dan volume limpa dengan tabung volume. Kemudian dibuat preparat untuk pengamatan secara mikroskopis gambaran histopatologiknya yaitu mengukur diameter rerata pulpa putih, *centrum geminativum*, dan zona marginalis dengan perbesaran mikroskop 10x menggunakan mikrometer linier, serta menghitung sel limfosit, sel plasma, dan makrofag pada daerah yang selnya longgar menggunakan bilik hitung 5x5 kotak, dihitung pada 4 kotak di pojok dan 1 kotak di tengah dengan perbesaran mikroskop 40x dibawah bimbingan ahli Patologi Anatomi.

Data yang terkumpul diolah dengan program komputer *SPSS 12.0 for Windows*. Masing-masing variabel yang didapat dianalisa secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik berdasarkan kelompok perlakuannya.

HASIL PENELITIAN

Selama penelitian terdapat satu ekor tikus dari kelompok II dan dua ekor tikus dari kelompok III yang dieksklusikan karena mati pada minggu ke 4 percobaan diperkirakan karena terkena infeksi, tetapi telah diganti oleh sampel cadangan.

Data Makroskopis

Data makroskopis meliputi pengukuran volume dan berat limpa masing-masing kelompok. Pada penelitian ini, Kelompok II yang diinduksi *1,2 DMH* memiliki berat dan volume limpa yang lebih besar (0,76g dan 0,62mL) bila dibandingkan dengan kelompok normal (0,33g dan 0,38mL). Berat dan volume limpa pada kelompok III yang diberi diet *Lignin* lebih besar (0,48g dan 0,52mL) bila dibandingkan kelompok normal (0,33g dan 0,38mL).

Tabel 1. Mean & standar deviasi variabel pengukuran makroskopis(berat dan volume) limpa pada ketiga kelompok

Kelompok	Variabel Pengukuran	Mean±SD	Minimum	Maksimum
I	Volume (ml)	0,38±0,04	0,30	0,40
	Berat (g)	0,33±0,04	0,28	0,40
II	Volume (ml)	0,62±0,13	0,40	0,80
	Berat (g)	0,76±0,18	0,58	1,14
III	Volume (ml)	0,52±0,08	0,40	0,60
	Berat (g)	0,48±0,08	0,40	0,61

Data mikroskopis

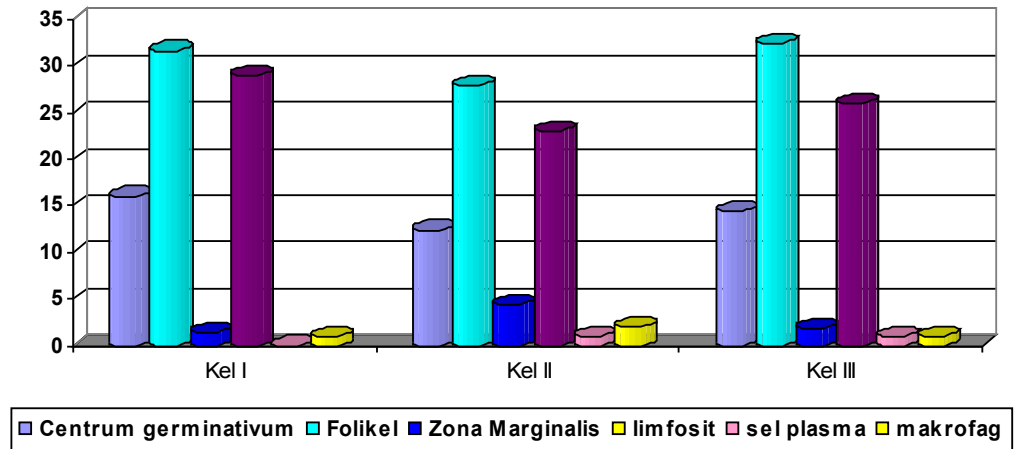
Data mikroskopis penelitian ini meliputi rerata diameter Centrum germiativum, folikel, zona marginalis, serta hitung sel plasma, limfosit, dan makrofag.

Kelompok II yang diinduksi 1,2 DMH gambaran histopatologiknya menunjukkan jarak zona marginalis yang lebih besar (4,38 μm) bila dibanding dengan kelompok normal (1,40 μm). Diameter folikel dan *centrum germinativum* kelompok II didapat ukuran yang lebih kecil (27,88 μm dan 12,38 μm) dibandingkan normal (31,60 μm dan 16,00 μm). Kelompok II (induksi) mempunyai jumlah limfosit yang lebih sedikit (23), tetapi jumlah sel plasma dan makrofag lebih besar (1 dan 3) bila dibandingkan dengan kelompok I/normal (limfosit 29, sel plasma tidak ditemukan, dan makrofag 1).

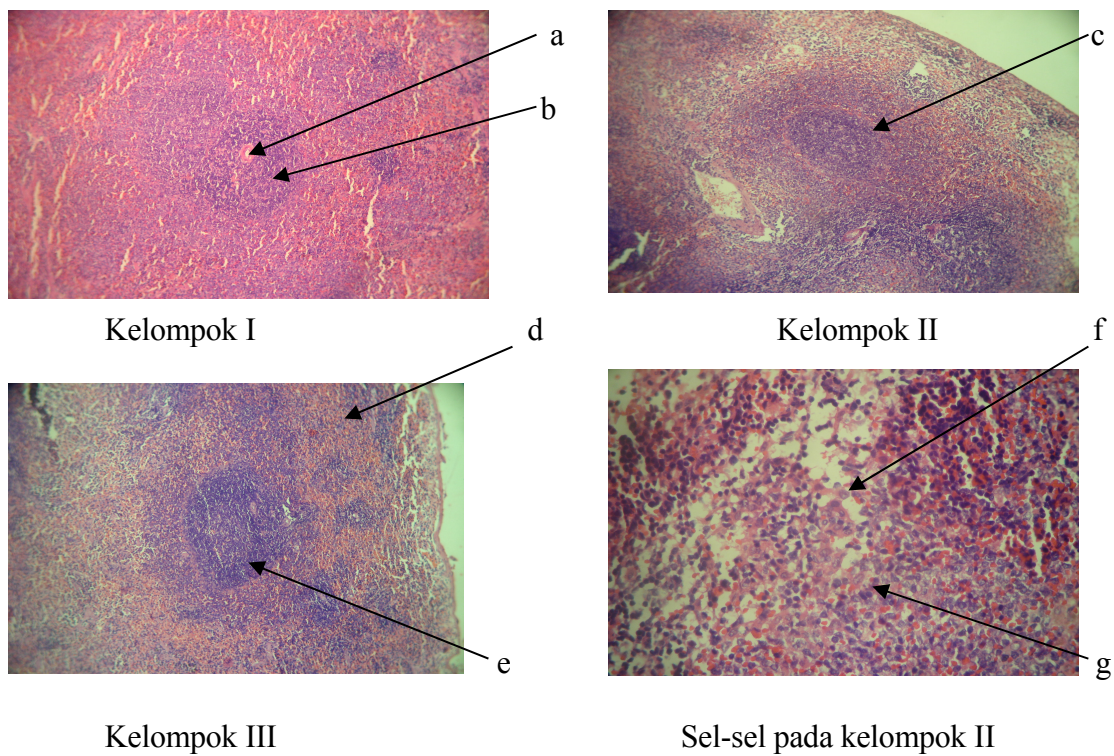
Pada kelompok III yang diberi diet *Lignin*, diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis lebih besar (32,40 dan 1,80 μm), tetapi *centrum germinativum* yang lebih kecil (14,40 μm) dibandingkan pada kelompok normal. Data hitung sel menunjukkan penurunan sel limfosit (26), sedangkan sel plasma dan makrofag masing-masing ditemukan sekitar 1 buah pada satu lapangan pandang.

Tabel 2. Mean & standar deviasi variabel pengukuran histopatologik limpa pada ketiga kelompok

Kelompok	Variabel Pengukuran	Mean±SD (μ)	Minimum (μ)	Maksimum (μ)	Juml (sel)	
I	Diameter centrum germinativum	16,00±3,94	12	21	-	
	Diameter folikel	31,60±4,22	26	37	-	
	Jarak zona marginalis	1,40±0,55	1	2	-	
	Limfosit	-	-	-	29	
	Sel plasma	-	-	-	0	
	Makrofag	-	-	-	1	
	II	Diameter sentrum germinativum	12,38±3,54	9	19	-
		Diameter folikel	27,88±5,25	20	35	-
Jarak zona marginalis		4,38±1,69	2	7	-	
Limfosit		-	-	-	23	
Sel plasma		-	-	-	1	
Makrofag		-	-	-	2	
III		Diameter sentrum germinativum	14,40±2,07	12	17	-
		Diameter folikel	32,40±3,43	29	37	-
	Jarak zona marginalis	1,80±0,45	1	2	-	
	Limfosit	-	-	-	26	
	Sel plasma	-	-	-	1	
	Makrofag	-	-	-	1	



Gambar 1. Grafik gambaran histopatologik limpa pada ketiga kelompok



Gambar 2. Gambaran mikroskopis histopatologik limpa pada ketiga kelompok

Keterangan: a = Arteria sentralis
 b = Pulpa putih
 c = Zona marginalis

d = Pulpa merah
 e = Centrum germinativum
 f = Sel makrofag

g = Sel limfosit

PEMBAHASAN

Serat makanan (*dietary fiber*) adalah komponen dalam tanaman yang tidak tercerna secara enzimatik menjadi bagian-bagian yang dapat diserap di saluran pencernaan. Lignin merupakan contoh serat yang tak larut air. Beberapa mekanisme serat mengurangi risiko kanker kolon yang telah diketahui adalah: pertama, serat meningkatkan ukuran feses dan menyelubungi komponen penyebab kanker dalam feses, kedua, serat mempersingkat waktu lewatnya sisa pencernaan pada saluran pencernaan sehingga mengurangi paparan dinding usus terhadap karsinogen.¹

Pengaruh pemberian *1,2 DMH* terhadap organ limpa dalam induksi karsinogenesis kolon masih belum dapat dimengerti sepenuhnya karena keterbatasan referensi yang ada. Reaksi pada limpa akibat jejas karsinogen masih belum jelas mekanismenya, apakah merupakan reaksi paparan langsung dari injeksi secara subkutan atau melalui produk-produk hasil dari proses pembentukan kanker kolon.

Richards dalam *Chemical Induction of Colon Cancer* (1982), mengatakan bahwa aksi *1,2 DMH* melalui dua tahap yaitu tahap inisiasi dan promosi.¹³ Menurut Bruce WR (2000), terdapat dua mekanisme karsinogenesis kolon yang berhubungan dengan inflamasi. Pertama, defek pada barier epitelial (yang bisa disebabkan oleh bahan kimiawi seperti karsinogen) menimbulkan iritasi lokal. Iritasi ini akan menyebabkan respon inflamasi dimana terjadi aktivasi enzim COX-2 dan terbentuknya prostaglandin dari asam arakhidonat. Ini akan memicu sel radang, dimana sel radang akan melepaskan radikal bebas yang bersifat mutagenik dan mitogenik serta mempromosi karsinogenesis kolon. Mekanisme kedua, defek barier

epitel yang akan menimbulkan ketidakseimbangan elektrolit berupa *efflux* kalium serta *influx* natrium dan kalsium. Gangguan elektrolit ini menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan pembentukan radikal bebas. Radikal bebas sebaliknya juga akan menginduksi COX-2 dan prostaglandin yang akan mempromosi karsinogenesis.²⁰ Kami menduga bahwa munculnya respon inflamasi tersebut juga dapat mempengaruhi gambaran histopatologik organ limpa.

Saat sel-sel atau jaringan tubuh mengalami cedera/jejas, terjadilah respon peradangan yang merupakan reaksi vaskuler berupa pengiriman cairan, zat-zat terlarut, dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstitial pada daerah yang cedera atau nekrosis.¹⁶

Zat-sat asing yang masuk ke tubuh dianggap sebagai antigen dan dinetralisir oleh sistem limfoid meliputi reaksi dari organ limpa, limfonodus, dan reaksi seluler dari organ target seperti limfosit dan makrofag. Reaksi yang muncul adalah pembesaran limpa yang disebut juga hiperplasia reaktif limpa.¹⁹ Demikian pula halnya pada penelitian ini, induksi *1,2 DMH* dapat dianggap sebagai antigen yang kemungkinan juga mempengaruhi limpa dengan menimbulkan jejas langsung ke limpa, akan tetapi proses ini masih belum jelas.

Hiperplasia reaktif limpa ditandai dengan peningkatan jumlah sel di pulpa merah. Pada permukaan irisan tampak secara makroskopis berwarna merah keabuan dengan pulpa putih yang menonjol. Pada pengamatan mikroskopis ditemukan jumlah sel neutrofil yang meningkat dan menyebabkan warna permukaan menjadi keabuan. Sel-sel fagosit juga meningkat, di dalamnya terdapat sisa-sisa dari leukosit,

eritrosit, dan mikroorganisme yang mati. Kadang ditemukan pula sel plasma. Pulpa putih biasanya mengalami hiperplasi, sedangkan pulpa merah mengalami kongesti. Pusat germinal yang membesar pada pulpa putih menunjukkan adanya aktivitas fagositosis.¹⁹

Pada penelitian ini, Kelompok II yang diinduksi *1,2 DMH* memiliki berat dan volume limpa yang lebih besar (0,76g dan 0,62mL) bila dibandingkan dengan kelompok normal (0,33g dan 0,38mL). Gambaran histopatologiknya menunjukkan jarak zona marginalis yang lebih besar (4,38 μ m) bila dibanding dengan kelompok normal (1,40 μ m). Hal ini dimungkinkan oleh karena zona marginalis banyak berisi antigen yang menunjukkan aktivitas imunologis pada kelompok induksi meningkat dan ditandai dengan bertambahnya jumlah sel-sel fagosit.²¹ Diameter folikel dan *centrum germinativum* kelompok induksi didapat ukuran yang lebih kecil (27,88 μ m dan 12,38 μ m) dibandingkan normal (31,60 μ m dan 16,00 μ m). Referensi yang ada menyatakan bahwa kelompok yang terkena jejas seharusnya mengalami respon inflamasi dan limpanya mengalami hiperplasia reaktif.¹⁹ Akan tetapi, pada penelitian ini justru didapatkan diameter folikel dan *centrum germinativum*nya mengecil. Bagaimana terjadinya hal ini masih belum dapat dijelaskan dengan pasti karena keterbatasan informasi dari referensi yang ada. Kemungkinan fenomena ini timbul karena respon inflamasi yang menyebabkan pengiriman cairan ke limpa dan menyebabkan kongesti pada pulpa merah, sehingga didapatkan ukuran makroskopis yang lebih besar dari kelompok normal, tetapi belum tentu diikuti dengan pembesaran diameter folikel dan *centrum germinativum* secara mikroskopis.

Kelompok II (induksi) mempunyai jumlah limfosit yang lebih sedikit (23), tetapi jumlah sel plasma dan makrofag lebih besar (1 dan 3) bila dibandingkan dengan kelompok I/normal (limfosit 29, sel plasma tidak ditemukan, dan makrofag 1). Hal ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dari antigen yang ditimbulkan oleh induksi *1,2 DMH*.²¹

Berat dan volume limpa pada kelompok III yang diberi diet *Lignin* lebih besar (0,48g dan 0,52mL) bila dibandingkan kelompok normal (0,33g dan 0,38mL). Diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis lebih besar (32,40 dan 1,80 μ m), tetapi *centrum germinativum* yang lebih kecil (14,40 μ m) dibandingkan pada kelompok normal. Data hitung sel menunjukkan penurunan sel limfosit (26), sedangkan sel plasma dan makrofag masing-masing ditemukan sekitar 1 buah pada satu lapangan pandang. Hal ini kemungkinan karena pemberian diet *Lignin* sebelum dan selama induksi karsinogenesis kolon mengurangi reaksi inflamasi yang timbul, sehingga limfosit menurun, sedangkan sel plasma dan makrofag merupakan penanda adanya fagositosis.¹⁹ Namun, hal ini juga masih belum pasti karena belum ditemukan referensi yang jelas.

Lignin dapat meningkatkan absorpsi asam empedu untuk dikeluarkan melalui feses. Asam empedu lalu difermentasi oleh bakteri anaerob menjadi asam lemak rantai pendek (asam butirat) yang dapat menurunkan pH kolon dan menghambat terbentuknya asam empedu sekunder yang memacu karsinogenesis.⁴ Asam lemak rantai pendek tersebut dapat berupa: asam butirat, asam propionat, dan asam asetat. Alkali-*lignin* komersial juga dapat menunjukkan aktivitas antiviral, perangsangan

iodinasi granulosit, aktivitas imunopotensiasi, aktivitas stimulasi sel limpa.²² Sumber lain menyebutkan *lignin* sendiri dapat difermentasi menjadi asam lemak rantai pendek (asam butirat) yang diduga mempunyai efek protektif terhadap kanker kolon. Namun, masih ada pertentangan mengenai hal ini. Butirat merupakan sumber energi utama bagi sel kolon. Butirat telah dibuktikan mampu menurunkan pertumbuhan kanker kolon dengan menghambat proliferasi dan memacu apoptosis.²³ Peran asam butirat dalam sistem imun adalah sebagai sumber energi bagi sel kolon sehingga menstimuli sel epitel dan membebaskan sejumlah sitokin dan mediator seperti IL-8 yang mampu mengaktifkan sel T sitotoksik sehingga mampu mengeliminasi secara dini sel-sel yang abnormal.²⁴

Potensi *lignin* sebagai antitumor juga didukung oleh kemampuannya untuk menangkap radikal bebas dan menghambat aromatase pada sel tumor. *Lignin* dapat berikatan dengan asam empedu dan meningkatkan absorpsinya, sehingga dapat menyebabkan bertambahnya ekskresi asam empedu melalui feses. Ekskresi asam empedu yang meningkat dapat mencegah terbentuknya zat-zat karsinogenik hasil dari konjugasi dan reduksi asam empedu.¹¹ Efek pencegahan terhadap terbentuknya zat-zat karsinogenik ini diduga juga mencegah terjadinya jejas pada limpa.

Konsumsi serat makanan khususnya *lignin*, diduga mempengaruhi respon imun tubuh terhadap adanya jejas dari karsinogen. Dengan demikian, gambaran histopatologik limpa juga diharapkan lebih baik, yang mana dapat terlihat melalui gambaran makroskopis dan mikroskopisnya. Akan tetapi, mekanisme *lignin*

mempengaruhi limpa dalam karsinogenesis belum ditemukan adanya referensi yang jelas.

Oleh karena penelitian ini hanya mendeskripsikan gambaran histopatologik limpa Wistar pada keadaan normal (tidak dilakukan perlakuan), induksi karsinogenesis, dan induksi karsinogenesis disertai diet *Lignin*, maka tidak bisa dilakukan perbandingan efek diantara ketiga kelompok tersebut. Selain itu, juga ada perbedaan lama pemberian induksi 1,2 DMH pada kelompok III yaitu hanya dilakukan selama 4 minggu saja.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah dapat memberikan deskripsi tentang efek; induksi karsinogen, induksi karsinogen plus diet *Lignin*, terhadap gambaran histopatologi limpa yang meliputi rereata diameter centrum germinativum, pulpa putih, jarak zona marginalis, jumlah sel limfosit, sel plasma, dan makrofag, serta deskripsi histopatologik yang sama pada kondisi normal(tanpa pelakuan).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis *Lignin* yang lebih bervariasi, mengingat penelitian ini belum diketahui dosis *Lignin* yang optimal terhadap respon imun karsinogenesis tetapi tetap aman, sehingga layak untuk diujicoba ke manusia. Perlu pula disediakan waktu penelitian yang lebih panjang dan proporsional mengingat suatu karsinogenesis dapat memakan waktu berbulan-bulan, disertai dengan desain penelitian *randomized control double blind*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis memanjatkan puji syukur setinggi-tingginya kepada Tuhan dan terima kasih kepada Dra. Henna Rya Sunoko, Dipl. Env., M.E.S., Apt selaku reviewer proposal; dr. Bambang Witjahyo, M.Kes selaku dosen penguji; dr. Ika Pawitra Miranti; dr. Aswiyanti Asri, SpPA; dr. Hidayat; Kepala Bagian dan seluruh staf Bagian Patologi Anatomi dan Biokimia; Bapak Dukut yang telah membantu memelihara tikus selama penelitian; dan pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siagian A. Tentang serat makanan. 2003. [cited 2005 March 10]. Available from URL: <http://www.kompas.com-cetak/0306/12/ipitek/tentangserat.html>.
2. Brody, Tom. Nutritional biochemistry. United States of America: Academic Press Inc, 1994.
3. Riwanto I. Skrinning dan surveilan karsinoma kolorektal perpaduan antara risiko kejadian penyakit terhadap biaya yang diperlukan. Media Medika Indonesiana 2003; 38(4): 167-77.
4. Neubauer S, Bebo P. Fiber and colon cancer. [cited 2005 April 1]. Available from URL: http://www.vegetarian.nutrition.info/vn/fiber_colon_cancer.html.
5. National Cancer Institute. Screening for colorectal cancer [online]. [cited 2004 April 29]. Available from URL: <http://www.jnci.cancerspectrum.oupjournals.org/cgi/pdq/jncidq:0000062753>.
6. Underwood JCE, editor. Sistem pencernaan. Dalam: Patologi umum dan sistematik, edisi kedua. Jakarta: EGC, 1999: 463-5.
7. Nixon D, Wargovich M. Colon cancer. 1999 June. [cited 2005 March 25]. Available from URL: <http://www.cmbm.org/conferences.ccc99/transcript99/sa16.html>.
8. Prangdimurti E. Probiotik dan efek perlindungannya terhadap kanker kolon (serial online). 2001. [cited 2005 March 31]. Available from URL: http://rudyc2.250x.com/sem1_012/endang_prangdimurti.htm.
9. Robbins, Kumar. Buku ajar patologi II, edisi 4. Jakarta: EGC, 1995: 284-92.
10. Suyono H. Serat benteng terhadap aneka penyakit. 2001. [cited 2005 March 25]. Available from URL: http://www.indonesia.com/intisari/2001/juli/warna_serat.htm.
11. The Lignin Institute. Lignins-products with many uses. 2002. [cited 2005 April 1]. Available from URL: <http://www.lignin.info/whatis.html>.
12. Kaur S. Biochemistry 3200 introductory nutrition. [online]. [cited 2005 May 28]. Available from URL: <http://www.UCS.mun.ca/~skaur/3200CHORole.html>.
13. Joseph CA, Woo YT, Argus MF. Chemical induction of cancer. London: Academic Press, 1982: 350-93.

14. Quade G. Prevention of colorectal cancer. [online]. 2002 .[cited 2004 April 29]. Available from URL: <http://www.meb.uni-bonn.de/cancernet/304731.html>.
15. Juergen EG. A diet rich in fat and poor in dietary fiber increases the in vitro formation of reactive oxygen species in human feses. The Journal of Nutrition 1997; 127(5): 706-9.
16. Price S, Wilson L. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit buku1, Edisi keempat. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1995.
17. Anderson JR. Muir's textbook of pathology, 11th edition. London: English Language Book Society, 1980.
18. Kosssoy G, Stark A, Zusman I, Madar Z. Effect of a 15% orange-pulp diet on tumorigenesis and immune response in rats with colon tumors. Oncology Reports 2001Aug; 8: 1378-91.
19. Kissane JM, Anderson WAD. Anderson's pathology, volume two. Missouri: The C.V.Mosby Company, 1985.
20. Bruce WR. Giacca A. Medline A. Possible mechanism relating diet and risk of colon cancer. Cancer epidemiology biomarkers and prevention. 2000 Dec. [cited 2005 August 12]; 9. Available from URL: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/content/full/9/12/1271>.
21. Raviola E. Limpa. Dalam: Buku ajar histologi, edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2002: 409-17.
22. Okagami H. Molecular species of antitumor & antiviral fraction from pine cone tract. Anticancer Research ,1989 Nov-Dec; (6): 539-8.
23. Joanne R, Lupton. Microbial degradation product influence colon cancer risk: the butyrate controversy. The American Society for Nutritional Sciences, 2004; 134: 479-82.
24. Fouad T. Multistage carcinogenesis. [online].1993. [cited 2004 June 7]. Available from URL: <http://www.thedoctorslounge.net/oncolounge/articles/oxidcar1.htm>.
25. Utama YH. Gambaran histopatologik kolon wistar yang diber diet *lignin* dibanding ileus-ileus sebelum dan selama induksi kanker kolon (artikel). Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2005.
26. Tjarta A. Prosedur baku pemeriksaan patologi anatomi. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1992.

