

Media Medika Muda

Copyright©2005 by Medical Faculty of Diponegoro University

Nomor 4

ARTIKEL ASLI

Januari - Juni 2010



GAMBARAN HISTOPATOLOGIK LIMPA WISTAR YANG DIBERI DIET SELULOSA DAN DIINDUKSI KARSINOGENESIS KOLON (Penelitian observasional laboratorik pada Wistar yang diinduksi 1,2 Dimethylhidrazine subkutan, diet tinggi lemak dan protein)

William Prasetyo¹⁾, Noor Yazid²⁾, Awal Prasetyo²⁾

THE WISTAR'S SPLEEN HISTOPATHOLOGICAL PATTERN INDUCED BY COLON'S CARCINOGENESIS AND CELLULOSE DIETARY

ABSTRACT

Background: Colon carcinogenesis induction by 1,2 DMH, high lipid and protein diet in Wistar rats is assumed having influence to their immunity system, causing injury on their spleen. Cellulose, being known as chemo-preventive agent for colon cancer, can reduce injury reaction on the spleen, because of the carcinogenesis process. The purpose of this research was to describe the effects of colon carcinogenesis induction, carcinogenesis induction plus cellulose dietary to Wistar's spleen histopathological pattern.

Methods: This laboratory observational study used 15 Wistars which divided into 3 groups. Each group consists of 5 Wistars with no intervention (normal condition), 5 Wistars induced colon carcinogenesis, and 5 Wistars induced colon carcinogenesis and given dietary cellulose orally before and during the induction. At the ninth week, all rats were terminated, and samples of histopathological pattern were made. Data measured were macroscopic (spleen's volume and weigh) and microscopic (mean diameter of centrum germinativum, white pulp, and marginal zone and the amount of lymphocytes, plasma cells, and macrophages). Data were analyzed descriptively then presented in table and graphics according to their intervention.

Results: The average weight of spleen for normal group is 0,33 gr, the volume is 0,38 ml, diameter of centrum germinativum 16 μ , white pulp 31,6 μ , and the distance of marginal zone is 1,4 μ , the count of lymphocyte 29, plasma cell 0, and macrophage 1. For induction group, the average weight is 0,76gr, the volume 0,62ml, diameter of centrum germinativum is 12,38 μ , white pulp 27,88 μ and the distance of marginal zone is 4,38 μ , lymphocyte 23, plasma cell 1 and macrophage 2; while for the cellulose group, the average weight is 0,52gr, the volume 0,65ml, diameter of centrum germinativum 13,67 μ , white pulp 28,5 μ and the distance of marginal zone is 2,17 μ , lymphocyte 33, plasma cell 1, macrophage 1.

Conclusion: This research have described about the effects of; carcinogenesis induction, carcinogenesis induction plus cellulose dietary to Wistar's spleen weight, volume, and histopathological pattern (average diameter of white pulp, centrum germinativum, and distance of marginal zone, the count of lymphocyte, plasma cells and macrophage) and in normal condition/without intervention.

Key Words: Cellulose, Spleen's histopathological pattern, Colon induction of carcinogenesis

ABSTRAK

Latar belakang: Induksi karsinogenesis kolon menggunakan 1,2 DMH, diet tinggi lemak dan protein pada tikus Wistar diduga mempengaruhi sistem imunitas dengan menimbulkan jejas pada organ limpa. Serat selulosa, yang selama ini dikenal sebagai agent kemopreventif kanker kolon, dapat mengurangi jejas pada limpa akibat proses induksi karsinogenesis tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran efek induksi karsinogenesis kolon, induksi karsinogenesis kolon dan pemberian diet selulosa terhadap gambaran histopatologi limpa Wistar.

Metode: Penelitian observasional laboratorik ini menggunakan 15 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I terdiri atas 5 ekor tikus Wistar normal yang tidak diberi perlakuan apa-apa, kelompok II terdiri atas 5 tikus yang diinduksi karsinogenesis kolon dan kelompok III terdiri atas 5 tikus yang di beri diet selulosa sebelum dan selama induksi karsinogenesis kolon. Pada minggu ke-9 semua tikus diterminasi untuk dibuat preparat histopatologi limpa. Data yang diambil berupa data makroskopis

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

²⁾ Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

(berat dan volume limpa) dan mikroskopis (rerata diameter dari *centrum germinativum*, pulpa putih, dan zona marginalis serta menghitung jumlah limfosit, sel plasma, dan makrofag). Data dianalisis secara deskriptif, kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menurut kelompok perlakuan.

Hasil: Pada kelompok normal didapati rerata berat limpa 0,33 gr, volume 0,38 ml, diameter *centrum germinativum* 16 μ , pulpa putih 31,6 μ , jarak zona marginalis 1,4 μ , hitung limfosit 29, sel plasma 0, dan makrofag 1. Untuk kelompok induksi rerata berat limpa 0,76gr, volume 0,62ml, diameter *centrum germinativum* 12,38 μ , pulpa putih 27,88 μ jarak zona marginalis 4,38 μ , hitung limfosit 23, sel plasma 1 dan makrofag 2 Sedang pada kelompok selulosa rerata berat limpa 0,52gr, volume 0,65ml, diameter *centrum germinativum* 13,67 μ , pulpa putih 28,5 μ dan jarak zona marginalis 2,17 μ , hitung limfosit 33, sel plasma 1, makrofag 1.

Simpulan: Penelitian ini telah dapat memberikan gambaran tentang efek; induksi karsinogenesis, induksi karsinogenesis plus diet selulosa, terhadap berat, volume, dan gambaran histopatologi limpa yang meliputi rerata diameter pulpa putih, *centrum germinativum*, dan jarak zona marginalis serta jumlah sel limfosit, makrofag, dan sel plasma, juga pada kondisi normal atau tanpa perlakuan.

Kata Kunci: selulosa, gambaran histopatologik limpa, induksi karsinogenesis kolon

PENDAHULUAN

Serat atau fiber merupakan bahan alami dari tumbuhan yang banyak dijumpai hampir pada semua bahan makanan di sekitar kita. Konsumsi serat telah terbukti memiliki efek protektif terhadap berbagai penyakit seperti kanker usus, penyakit jantung koroner, diabetes, dan obesitas. Potensi serat dalam melindungi usus dan menjaga kadar lipid dalam darah menunjukkan langkah preventif terhadap berbagai ancaman penyakit metabolik dan degeneratif. Efek protektif dan preventif serat ternyata juga sangat bermanfaat untuk melindungi saluran cerna dari proses keganasan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa mekanisme ini tidak hanya melibatkan proses dalam saluran cerna saja tetapi diduga juga melibatkan reaksi sistem imunitas tubuh.¹

Kanker kolon adalah salah satu jenis kanker yang paling sering menimbulkan kematian ketiga di dunia. Insidensi kanker tersebut hampir sama pada pria dan wanita sampai usia lima puluh tahun.² Diet telah diketahui sebagai faktor risiko yang paling penting dalam menimbulkan kanker saluran cerna.³ Kebiasaan mengkonsumsi makanan yang tinggi kadar lemak, tinggi protein dan rendah kandungan seratnya ternyata berperan dalam induksi kanker kolon.⁴ Data epidemiologi menunjukkan terdapat hubungan terbalik antara tingginya konsumsi serat dan angka kejadian kanker kolon.⁵

Proses terjadinya kanker kolon melibatkan interaksi genetik dan pengaruh lingkungan. Lingkungan menunjukkan pengaruh yang lebih dominan bila dibandingkan faktor genetik dalam hal induksi kanker.⁶ Faktor diet diketahui sebagai modulator kanker pada manusia yang paling penting, terutama kanker di saluran pencernaan.

Konsumsi lemak dan serat telah menjadi komponen utama yang berkaitan dengan meningkat atau berkurangnya risiko kanker. Orang yang suka mengkonsumsi diet tinggi lemak dan sedikit serat terbukti memiliki insiden kanker saluran pencernaan yang tinggi.⁷ Proses terjadi kanker ditandai terutama oleh pertumbuhan jaringan yang berlebihan karena adanya gen-gen yang abnormal, proses ini berjalan bertahap dan penyebabnya multifaktorial.^{8,9}

Potensi serat sebagai agen preventif kanker saluran cerna yang telah lama banyak diteliti. Selulosa sebagai salah satu serat polisakarida bagian dari dinding sel tanaman terutama ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, sereal dan padi-padian.¹⁰⁻¹² Konsumsi selulosa sering dikaitkan dengan rendahnya prevalensi kanker kolon.¹³ Berbagai penelitian menunjukkan bahwa efek preventif selulosa terhadap karsinogenesis lebih besar bila dibandingkan dengan efek kuratifnya.¹⁴ Selulosa digolongkan sebagai serat yang tidak larut dalam air, sehingga bila dikonsumsi manusia tidak akan tercerna dengan baik. Di dalam usus besar, serat ini akan difermentasi oleh bakteri anaerob menghasilkan asam lemak rantai pendek seperti asam butirat, asam asetat, dan asam propionat.¹⁵

Selulosa dapat mencegah terjadinya kanker kolon melalui berbagai macam cara. Konsumsi selulosa terbukti memperhalus jalannya bolus di saluran cerna. Selain itu, mekanisme selulosa sebagai antikanker juga disebabkan oleh peranannya dalam memperpendek waktu transit bolus di kolon dan meningkatkan pembentukan feses, sehingga akan menurunkan waktu kontak bahan karsinogen dengan mukosa kolon.¹⁶

Masuknya bahan karsinogen ke dalam tubuh, dapat mempengaruhi sistem imunitas hospes.³

Bahan-bahan tersebut dikenal sebagai benda asing oleh tubuh (antigen) dan dapat menimbulkan jejas pada organ-organ terkait. Reaksi yang paling sering muncul dari organ yang terkena jejas adalah respon inflamasi. Bila terjadi respon inflamasi, terjadi peningkatan proliferasi sel-sel imunitas yang diperantarai oleh mediator-mediator tertentu, selain itu meningkat pula aliran darah ke organ tersebut sehingga dapat menimbulkan perbesaran ukuran dari organ yang terkena jejas. Secara klinis, reaksi inflamasi dapat berupa hipertrofi dan hiperplasia dari sel-sel imunitas yang pada akhirnya bermanifestasi pada ukuran makroskopisnya.¹⁷

Sejauh ini belum diketahui efek konsumsi serat terhadap proses inflamasi yang dialami oleh organ tertentu. Peneliti menduga bahwa serat mempunyai daya menghambat reaksi inflamasi, sehingga dengan mengkonsumsi serat dapat memperbaiki kondisi organ yang mengalami reaksi inflamasi. Pada penelitian induksi kanker kolon ini, efek inflamasi pada sistem imunitas yang terkena jejas dapat dilihat dari organ-organ limfoid penghasil sistem kekebalan seperti limpa. Limpa sebagai organ limfoid sekunder terbesar mengandung bermacam-macam sel-sel imunitas. Peningkatan jumlah sel-sel tersebut tercermin dari perubahan struktur limpa itu sendiri, baik secara makroskopis (berat dan volume) atau mikroskopisnya.

Banyak eksperimen-eksperimen klinik telah dilakukan untuk membuktikan potensi serat sebagai antikanker, namun hasilnya masih jauh dari yang diharapkan. Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya yang menyelidiki potensi serat dalam mencegah kanker kolon. Efek yang ingin dilihat adalah tentang respon limpa terhadap jejas karsinogen dan pengaruh pemberian diet selulosa terhadap proses tersebut. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang efek; induksi karsinogen, induksi karsinogenesis plus diet selulosa, terhadap gambaran histopatologi limpa yang meliputi rerata diameter pulpa putih, *centrum germinativum*, dan jarak zona marginalis serta jumlah sel limfosit, sel plasma, dan makrofag.

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberi informasi tentang efek pemberian bahan karsinogenik terhadap limpa, potensi serat selulosa sebagai agent kemopreventif kanker kolon dan

peranan diet selulosa terhadap respon imun limpa yang timbul pada proses karsinogenesis kolon.

METODE

Penelitian observasional laboratorik ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Biokimia Fakultas Kedokteran UNDIP selama 9 minggu. Populasi yang diteliti adalah lima belas ekor tikus wistar jantan yang berusia antara 12–18 minggu dengan berat 180–200 gram, sehat, tingkah laku normal, tidak sakit ataupun mati selama penelitian. Induksi karsinogenesis diperankan oleh 1,2 *DMH*, dengan dosis subkutan 20mg/tikus seminggu sekali (Duckrey, 1967) ditambah dengan pemberian diet tinggi lemak dan protein secara *ad libitum* tiap hari dimulai dari awal minggu kelima hingga akhir minggu ke delapan pada kelompok ketiga.

Tikus diaklimatisasi selama 1 minggu dengan diberi pakan standar dan minum *ad libitum* lalu dipilih secara acak dan dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok pertama adalah 5 ekor tikus Wistar yang tidak diberi perlakuan apa-apa, hanya diberi pakan standar (kelompok normal), kelompok kedua 5 ekor tikus Wistar yang diinduksi karsinogenesis dan yang ketiga adalah 5 ekor tikus Wistar yang diberi diet selulosa 3,15 gr/KgBB yang dilarutkan dalam akuades hingga 3cc, lalu disonde peroral selama 8 minggu, sesuai teknik konversi dosis menurut Laurence Bacharach (1964) dan diinduksi karsinogenesis kolon mulai awal minggu kelima hingga akhir minggu kedelapan. Pada akhir minggu kesembilan seluruh tikus diterminasi lalu diambil organ limpanya.⁹ Tiap-tiap tikus dibuat satu preparat dari tiap blok parafin, lalu dari masing-masing preparat dilihat 3 folikel. Tiap folikel dideskripsikan gambaran histopatologisnya.

Pengukuran limpa dilakukan secara makroskopis yaitu mengukur volume dengan tabung volume dan berat masing-masing limpa dengan timbangan elektronik, mikroskopis dengan menganalisis gambaran histopatologiknya. Gambaran histopatologi yang dimaksud adalah mengukur diameter rerata pulpa putih, *centrum germinativum*, dan zona marginalis dengan menggunakan mikrometer pada perbesaran mikroskop 10 kali, dan menghitung jumlah sel limfosit, sel plasma dan makrofag dengan bilik hitung 5x5 kotak dengan perbesaran 40 kali pada

lapangan pandang yang susunan sel-selnya longgar dan dihitung pada 4 kotak dipojok dan 1 kotak ditengah dibawah bimbingan ahli Patologi Anatomi.

Data yang telah terkumpul dianalisa dengan program komputer *SPSS 12.0 for Windows*. Tiap variable dianalisa secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menurut kelompok perlakuannya.

HASIL

Selama berlangsung penelitian terdapat dua ekor tikus yang dieklusikan karena mati pada minggu ke 5 percobaan oleh karena suatu infeksi, namun diganti dengan sampel cadangan, sehingga jumlah tikus tetap memenuhi syarat yang ditetapkan. Data makroskopis yang diukur adalah berat dan volume limpa Wistar pada kelompok normal, induksi dan kelompok yang diberi diet selulosa.

Pada tabel 1 menjelaskan data makroskopis yang berupa rerata berat dan volume limpa Wistar pada ketiga kelompok.

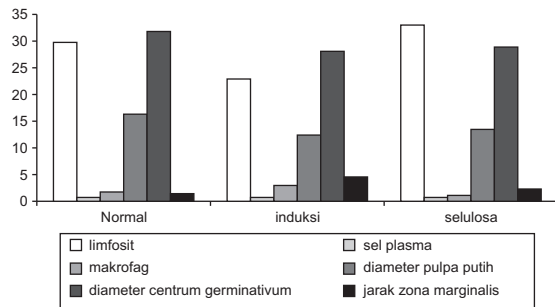
Tabel1. Mean & standar deviasi variabel pengukuran data makroskopis limpa pada ketiga kelompok

Kelompok	Variabel Pengukuran	Mean \pm SD	Maksimum	Minimum
I	Berat (gr)	0,33 \pm 0,04	0,40	0,30
	Volume (mL)	0,38 \pm 0,04	0,40	0,30
II	Berat (gr)	0,76 \pm 0,18	1,14	0,58
	Volume (mL)	0,62 \pm 0,13	0,80	0,40
III	Berat (gr)	0,52 \pm 0,05	0,59	0,53
	Volume (mL)	0,65 \pm 0,10	0,80	0,50

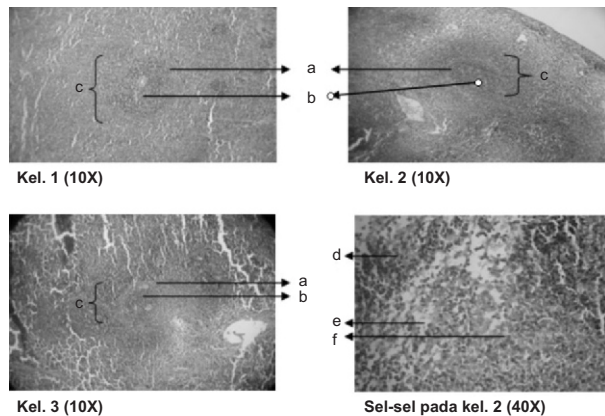
Data mikroskopis yang diukur meliputi rerata diameter *centrum germinativum*, pulpa putih, jarak zona marginalis, dan hitung sel limfosit, sel plasma dan makrofag pada ketiga kelompok. Uraian data tersebut dipaparkan di tabel 2.

Tabel2. Mean & standar deviasi variabel pengukuran histopatologik limpa pada ketiga kelompok

Kelompok	Variabel Pengukuran	Mean \pm SD (μ m)	Maksimum (μ m)	Minimum (μ m)	Rerata Jumlah Sel
I	Diameter sentrum germinativum	16 \pm 3,94	21	12	-
	Diameter folikel	31,6 \pm 4,22	37	26	-
	Jarak zona marginalis	1,40 \pm 0,55	2	1	-
	S Limfosit	-	-	-	29
	S Sel plasma	-	-	-	0
	S Makrofag	-	-	-	1
	II	Diameter sentrum germinativum	12,38 \pm 3,54	19	9
Diameter folikel		27,88 \pm 5,25	35	20	-
Jarak zona marginalis		4,38 \pm 1,68	7	2	-
S Limfosit		-	-	-	23
S Sel plasma		-	-	-	1
S Makrofag		-	-	-	2
III		Diameter sentrum germinativum	13,67 \pm 4,50	21	9
	Diameter folikel	28,50 \pm 4,89	34	23	-
	Jarak zona marginalis	2,17 \pm 0,41	3	2	-
	S Limfosit	-	-	-	33
	S Sel plasma	-	-	-	1
	S Makrofag	-	-	-	1



Gambar 1. Histogram perbandingan variabel pengukuran histopatologik limpa pada ketiga kelompok



Gambar 2. Gambaran mikroskopis histopatologik limpa pada ketiga kelompok (a: zona marginalis, b: *centrum germinativum*, c: folikel, d: limfosit, e: sel plasma, f: makrofag)

PEMBAHASAN

Induksi karsinogenesis kolon dengan menggunakan 1,2 DMH, diet tinggi protein dan lipid dapat mempengaruhi sistem imunitas tubuh dengan menimbulkan jejas pada organ-organ pertahanan tubuh. Limpa, sebagai organ limfoid terbesar, dapat mengalami reaktif hiperplasia oleh karena proses induksi tersebut.¹⁷ Selulosa diduga dapat mengurangi jejas akibat induksi karsinogenesis ke limpa.

Limpa merupakan salah satu organ pertahanan tubuh yang penting. Bagian dalam limpa banyak terdapat sel-sel limfosit dan pengatur kekebalan lainnya. Banyaknya sel-sel ini menunjukkan fungsi limpa yang utama sebagai sistem imunitas terhadap mikroorganisme yang masuk ke dalam darah. Limpa juga bereaksi terhadap antigen-antigen yang dibawa oleh darah, seperti protein produk inflamasi dan protein asing.¹⁷

Masuknya benda asing (antigen) ke dalam darah, akan menimbulkan reaksi dari tubuh untuk menetralsir. Reaksi itu melibatkan sel-sel imun yang banyak dijumpai pada organ-organ limfoid. Antigen tersebut tidak hanya berupa infeksi mikroorganisme, tetapi juga paparan jejas fisik (panas, radiasi) dan kimia (produk radang, bahan kemotaktik, enzim, dan karsinogen) juga dapat merangsang timbulnya reaksi. Respon sistem limfoid terhadap paparan karsinogen meliputi reaksi dari organ limpa, limfonodus dan reaksi komponen seluler dari target organ seperti limfosit dan makrofag. Reaksi yang sering timbul akibat jejas kimia pada limpa adalah berupa hiperplasia reaktif.¹⁷

Reaksi hiperplasia akut ditandai dengan pembesaran dan pelunakan konsistensi limpa. Istilah lain yang sering digunakan adalah splenomegali atau *septic splenitis*. Splenomegali diakibatkan hiperplasi dari sel-sel mielosit dan limfosit, disertai kongesti oleh sel-sel eritrosit. Reaksi ini dapat disebabkan oleh organisme patogen, tetapi paling sering terjadi karena produk-produk inflamasi, zat-zat yang bertanggung jawab atas mobilisasi sel-sel neutrofil (PMN), dan limfosit. Limpa juga bereaksi terhadap produk-produk non inflamasi, seperti protein asing atau jaringan nekrotik yang jauh letaknya.¹⁷

Reaksi hiperplasia limpa dicirikan oleh jumlah sel yang meningkat di pulpa merah. Pada permukaan irisan tampak secara makroskopis berwarna merah keabuan dengan pulpa putih yang menonjol. Pengamatan mikroskopis ditemukan jumlah sel neutrofil yang meningkat, menyebabkan warna permukaan menjadi keabuan. Sel-sel fagosit juga meningkat, di dalamnya dapat dijumpai sisa-sisa dari lekosit mati, eritrosit, dan mikroorganisme yang mati tercerna. Sel plasma kadang ditemukan, pulpa putih biasanya mengalami hiperplasi dan pulpa merah mengalami kongesti. Pulpa putih terkadang dijumpai dengan pusat germinal yang membesar, yang menunjukkan aktivitas fagositosis.¹⁷

Pengaruh jejas pada limpa akibat pemberian 1,2 DMH masih belum dapat dimengerti sepenuhnya oleh karena terbatasnya referensi yang menerangkan. Bagaimana jalur 1,2 DMH dapat menimbulkan jejas pada limpa belum dapat dijelaskan secara memuaskan, apakah efek langsung dari injeksi subkutan atau melalui proses

bertahap dari karsinogenesis kolon terlebih dahulu. Dari berbagai penelitian diketahui bahwa pemberian 1,2 DMH melalui jalur apapun, asalkan dosisnya tepat, dapat menginduksi timbulnya kanker kolon dan usus halus pada tikus percobaan.¹⁸ Injeksi 1,2 DMH secara subkutan dapat menyebabkan displasia kolon dan rektum. Displasia yang terjadi meliputi adenoma hingga bermacam-macam jenis adenokarsinoma. Pada hewan pengerat, induksi subkutan merupakan metode paling efektif untuk menginduksi kanker kolon.²⁰

Bruce WR et al (2000) menyatakan bahwa mekanisme karsinogenesis kolon berkaitan dengan dengan proses inflamasi. Defek pada epitel mukosa yang disebabkan bahan kimia seperti karsinogen dapat menimbulkan iritasi lokal. Iritasi ini akan memacu respon inflamasi dimana terjadi aktivasi enzim COX-2 dan terbentuknya prostaglandin. Proses ini akan memicu sel-sel radang, dimana sel-sel tersebut akan melepaskan radikal bebas yang bersifat mutagenik dan mitogenik.²²

Diet tinggi lemak menstimulasi peningkatan insidensi hiperplasia pusat-pusat germinal dan pulpa putih. Mekanisme pastinya belum diketahui, namun efeknya lebih kuat jika dibandingkan dengan pemberian karsinogen 1,2 DMH.²³ Efek diet tinggi protein yang dapat menimbulkan jejas di organ limpa tidak diketahui. Diduga bahwa protein yang tidak dicerna dalam tubuh meningkatkan kadar amin dan amida yang berperan dalam pembentukan nitrosamide sebagai agen karsinogenik yang ikut menimbulkan jejas di limpa.²⁴

Pada kelompok induksi dijumpai organ limpa yang lebih berat (0,7gr) dengan volume yang lebih besar (0,6mL) bila dibandingkan dengan kelompok normal (0,3gr dan 0,4mL). Analisa gambaran histopatologik menunjukan jarak zona marginalis yang lebih besar (4,4 μ) bila dibanding dengan kelompok normal (1,4 μ). Hal ini dimungkinkan oleh karena di daerah ini banyak berisi antigen sehingga aktivitas imunologis pada kelompok induksi meningkat yang ditandai dengan bertambahnya jumlah sel-sel fagosit.¹⁸ Diameter pulpa putih dan *centrum germinativum* kelompok induksi didapat ukuran yang lebih kecil (27,8 μ dan 12,4 μ) dibandingkan dengan normal (31,6 μ dan 16 μ). Berdasarkan teori (Anderson, 1985) seharusnya limpa yang mengalami reaktif

hiperplasia mengalami penambahan diameter baik pulpa putih dan *centrum germinativum* namun pada kelompok induksi didapat data yang sebaliknya. Hal ini bertentangan dengan referensi yang menyatakan seharusnya meningkat.¹⁷ Alasan mengapa ini terjadi belum dapat dijelaskan secara memuaskan oleh karena tidak ada referensi yang menjelaskan.

Pada hitung sel, kelompok induksi didapat jumlah limfosit yang lebih sedikit (23), namun jumlah sel plasma dan makrofag lebih besar (1 dan 3), bila dibandingkan dengan kelompok normal (limfosit 29, sel plasma tidak ditemukan, dan makrofag 1). Berdasarkan pendapat Anderson (1985) menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis karena adanya antigen dari bahan karsinogen.¹⁸

Limpa pada kelompok selulosa menunjukan berat dan volume yang lebih besar (0,5gr dan 0,6mL) bila dibandingkan kelompok normal (0,3gr dan 0,4mL). Jarak zona marginalis lebih besar (2,2 μ) tetapi diameter pulpa putih dan *centrum germinativum* yang lebih kecil dibanding normal (28,5 μ dan 13,6 μ). Data hitung sel menunjukkan peningkatan sel limfosit, plasma dan makrofag (33, 1, dan 1). Hal ini dimungkinkan karena pemberian diet selulosa dilakukan sebelum dan selama induksi karsinogenesis kolon.

Beberapa teori menerangkan bahwa selulosa termasuk pada serat yang tahan terhadap proses hidrolisis atau katabolisme oleh enzim dan air atau disebut juga *non starch polysaccharide* (NSP). Selulosa juga termasuk pada *resistant starch* (RS), sehingga dapat mencapai kolon dalam keadaan tak tercerna. Serat ini di dalam kolon akan difermentasi oleh bakteri anaerob, sehingga dihasilkan asam lemak rantai pendek seperti asam butirat, asam propionat dan asam laktat.¹⁴ Butirat telah diketahui sebagai zat antineoplastik *in vivo*. Peranan butirat yang lain adalah menghambat proliferasi sel kanker, menginduksi apoptosis, menghambat proliferasi sel kolon, menghambat invasi sel kanker dan menurunkan senyawa radikal bebas hidrogen peroksida yang mampu merusak DNA.²⁶ Kemampuan selulosa untuk mengikat air akan memperpendek waktu transit makanan di usus, sehingga kesempatan kontak antara bahan karsinogen dan mukosa usus akan dipersingkat. Selulosa juga dapat mengikat bahan-bahan kimia organik seperti asam empedu, karsinogen, dan

mutagen.²⁵ Pada tahapan karsinogenesis kolon ada suatu reaksi radang pada epitel mukosa akibat pemberian 1,2 DMH sebelum akhirnya terjadi *adenocarcinoma colon*. Reaksi inflamasi tersebut menghasilkan berbagai macam mediator yang beredar dalam peredaran darah. Mediator yang berperan dalam reaksi hiperplasia limpa belum diketahui dengan pasti, diduga prostaglandin dari aktivitas enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) memicu reaksi pada limpa.²²

Serat makanan dalam hal ini selulosa, diduga dapat mengontrol reaksi inflamasi pada proses karsinogenesis kolon, sehingga efeknya ke limpa dapat berkurang. Gambaran histopatologis limpa diharapkan dapat membaik, baik ukuran struktur maupun jumlah sel di dalamnya. Mekanisme pasti bagaimana selulosa dapat mempengaruhi reaksi limpa akibat pemberian karsinogen belum bisa dijelaskan walaupun pada penelitian ini didapatkan gambaran histopatologi pada limpa yang mengalami hiperplasia reaktif.

Oleh karena penelitian ini hanya mengamati deskripsi histopatologi limpa pada; kondisi normal (tanpa perlakuan), induksi karsinogenesis kolon, induksi karsinogenesis plus diet selulosa, maka tidak dapat dilakukan perbandingan efek ketiganya, disamping ada perbedaan lama perlakuan pada kelompok ketiga yang hanya diberi diet selulosa selama empat minggu.

SIMPULAN

Penelitian ini telah dapat memberikan gambaran tentang efek; induksi karsinogenesis, induksi karsinogenesis plus diet selulosa, terhadap gambaran histopatologi limpa yang meliputi rerata diameter pulpa putih, *centrum germinativum*, dan jarak zona marginalis serta gambaran histopatologi yang sama pada kondisi normal atau tanpa perlakuan.

SARAN

Perlu adanya penelitian lanjutan mengingat penelitian semacam ini masih jarang dilakukan dan eksplorasi lebih lanjut mengenai variasi dosis selulosa untuk dapat mengoptimalkan respon imun terhadap karsinogenesis, namun tetap layak diujicobakan pada manusia. Selain itu juga disarankan untuk melakukan penelitian sejenis

dengan durasi penelitian yang lebih lama dan proporsional dengan desain penelitian *randomized control double blind*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan syukur dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Dra. Henna Rya Suroko, Apt., dr. Bambang Withjaya, M.Kes, serta segenap staf laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP.

DAFTAR PUSTAKA

1. No author. Serat benteng terhadap aneka penyakit. Available from: http://www.indomedia.com/intisari/press/2001/Juli/warna_serat.htm.
2. Oslon J. Colorectal cancer statistik. c2004. Available from: <http://www.preventcancer.org/colorectal/press/2k3Statistics.efm>
3. Kossoy G, Stark A, Zusman I, Madar, Z. Effects of a 15% orange-pulp diet on tumorigenesis and immune response in rats with colon tumors. *Oncol Rep.* 2001;8: 1387-91.
4. Relation of meat, fat, and fibre intake to the risks of colon cancer in a prospective study among women. c2003. Available from: <http://www.content.nejm.org/cgi/content/abstract/323/24/1664>
5. Jacobs LR. Relationship between dietary fiber and cancer: metabolic, physiologic, and cellular mechanisms. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1986; 183(3): 299-310. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve>
6. Alabaster O, Tang Z, Shivapurkar N. Dietary fiber and the chemopreventive modulation of colon carcinogenesis. *Mutat Res.* 1996;350(1):185-97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd>
7. Wijnands MVW, Appel MJ, Hollanders VMH, Woutersen RA. A comparison of the effects of dietary cellulose and fermentable galactooligosaccharide, in rat model of colorectal carcinogenesis. TNO Nutrition and Food Research Institute.
8. Kikuchi Y, Dinjens WN, Bosman FT. Proliferation and apoptosis in proliferative lesions of the colon and rectum. *Vichows Arch.* 1997;431(2):111-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?uids>
9. Arcos, Joseph C, Yin Tak Woo. Chemical induction of cancer. London Academic Pres, 1982;350-93.
10. Dietary fiber and health. Available from: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hyhealth.html>
11. Ferguson R, Lynnette. Changing concept in dietary fiber: implication for carcinogenesis. *Nutrition and Cancers.* 2001; 39:155 159.
12. Neubauer S, Bebo P. Fiber and colon cancer. *Vegetarian Nutrition DPG.* Available from: http://www.vegetarian-nutrition.info/vn/fiber_colon_cancer.html
13. Freeman HJ, Spiller GA, Kim YS. A double-blind study on the effects of purified cellulose dietary fiber on 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colonic neoplasia. *Cancer Research.* c2004 [cited 2004 June 6]. Available from:

- <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/content/abstract/38/9/2912>
14. The prevention of colon carcinogenesis in rats by dietary cellulose. American Society for Nutrient Science. 2004; 435-439.
 15. Fiber dynamics part 1. Available from: <http://www.abcbodysbuilding.com/magazine03/fiberdynamics.htm>
 16. Coleman, Leana J. A diet containing-cellulose and fish oil reduces aberrant crypt foci formation and modulation other possible marker for colon cancer risk in azoxymethane-treated rats. Nutrition and Cancer Journal. 2002;132:2312-18. Available from: <http://www.nutrition.org/cgi/content/full/132>
 17. Kissane JM, Anderson WAD. Anderson's pathology. 2nd ed. Missouri: The C.V. Mosby Company; 1985.
 18. Raviola E. Limpa. Dalam: Fawcett DW, editor. Buku ajar histologi. Edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2002;409-17.
 19. New Jersey Departement of Health and Senior Services. Hazardous substances fact sheet. Available from: <http://www.states.nj.us/health/eoh/rtkweb/1008.pdf>.
 20. 1,2-Dimethylhidrazine. CAS. 1999;71:947.
 21. Joseph CA, Woo YT, Argus MF. Chemical induction of cancer. London: Academic Press, 1982;380-93.
 22. Bruce WR, Giacca A, Medline A. Possible mechanism relating diet and risks of colon cancer. Cancer epidemiology biomarkers and prevention. c2000 [cited 2004 June 12]. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/content/full/9/12/1271>
 23. Locniskar M, Nauss KM, Newberne PM. Effect of colon tumor development and dietary fat on the immune system of rats treated with DMH. Nutr Cancer. 1986; 8(2): 73-84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
 24. Crawford JM, Liu C. The gastrointestinal tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. Robbins and Cotran pathologic basic of disease. 7th ed. Philadelphia: Elseveirs-Saunders, 1999;857-66
 25. Cellulose. Available from: <http://www.Clmhurst.edu/chm/vehembool/547>
 26. McIntyre A, Gibson PR, Young GP. Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. Gut. 1993;34:386-391. Available from: <http://www.ajcn.org/cgi/content/abstract>