



**PENGARUH PAPARAN UAP BENSIN TERHADAP  
FREKUENSI PEMBENTUKAN MIKRONUKLEUS  
MUKOSA BUKAL PADA PENJUAL  
BENSIN ECERAN**

**LAPORAN HASIL  
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian hasil Karya Tulis Ilmiah  
mahasiswa program Strata- 1 kedokteran umum**

**STEFANUS SATRIA ADI DHARMA  
G2A 008 182**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
TAHUN 2012**

**LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL KTI**  
**PENGARUH PAPARAN UAP BENSIN TERHADAP FREKUENSI**  
**PEMBENTUKAN MIKRONUKLEUS MUKOSA BUKAL**  
**PADA PENJUAL BENSIN ECERAN**

Disusun oleh:

**Stefanus Satria Adi Dharma**  
**G2A 008 182**

Telah disetujui:

**Pembimbing**

drg. Restdiamawati, Sp.KG  
NIP. 19640510 198910 2001

**Penguji**

Dr. drg. Oedijani, M.S  
NIP. 19490209 197901 2001

**Ketua Penguji**

drg. Gunawan Wibisono  
NIP. 19660528 199903 1001

## **PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Yang bertanda tangan ini,

Nama : Stefanus Satria Adi Dharma

NIM : G2A008182

Alamat : Jl. Tusam Raya L-12 Banyumanik, Semarang

Mahasiswa : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran  
UNDIP Semarang

Dengan ini menyatakan bahwa,

- a) Karya tulis ilmiah saya ini adalah asli dan belum pernah di publikasi atau diajukan untuk mendapatkan gelar akademik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- b) Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali pembimbing dan pihak lain sepengetahuan pembimbing
- c) Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka

Semarang, 20 Juli 2012  
Yang membuat pernyataan,

Stefanus Satria Adi Dharma

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan tugas Karya Tulis Ilmiah ini. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penulis menyadari sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terselesaikannya laporan hasil Karya Tulis Ilmiah ini. Bersama ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro
2. Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik lancar
3. drg. Restdiamawati, Sp.KG selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Dr. drg. Oedjani, M.S dan drg. Gunawan Wibisono selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan penulisan Karya Tulis Ilmiah.
5. Orang tua beserta keluarga penulis yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material.
6. Pascaline Fiestarika yang telah memberi ide dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Candra Wibowo yang telah membantu pencetakan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Pandega Gama Mahardika selaku rekan satu kelompok yang telah ikut membantu dan berjuang dari awal penulisan hingga Karya Tulis Ilmiah ini selesai.

9. Para sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Serta pihak lain yang tidak mungkin penulis sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis ini dapat terselesaikan dengan baik

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, 20 Juli 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR SINGKATAN .....	x
ABSTRAK .....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Orisinalitas .....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Bahan Bakar Minyak (BBM) bensin .....	6
2.2 Benzena.....	6
2.2.1 Definisi Benzena.....	6
2.2.2 Genotoksisita Benzena .....	9
2.3 Mikronukleus .....	10
2.3.1 Definisi Mikronukleus .....	10
2.3.2 Terjadinya Mikronukleus .....	12
2.3.3 Biomonitoring Mikronukleus.....	14
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	15
3.1 Kerangka Teori .....	15
3.2 Kerangka Konsep.....	15
3.3 Hipotesis .....	16

BAB 4 METODE PENELITIAN.....	17
4.1 Ruang Lingkup Penelitian.....	17
4.2 Jenis Penelitian.....	17
4.3 Identifikasi Variabel.....	17
4.4 Populasi dan Sampel.....	18
4.4.1 Populasi .....	18
4.4.2 Sampel .....	18
4.5 Definisi Operasional .....	19
4.6 Bahan dan Alat.....	20
4.6.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	20
4.6.2 Jalannya Penelitian.....	21
4.7 Alur Penelitian .....	24
4.8 Pengolahan dan Analisis Data .....	25
4.9 Etika Penelitian .....	26
BAB 5 HASIL PENELITIAN .....	27
BAB 6 PEMBAHASAN .....	31
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA .....	36
LAMPIRAN.....	40

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tabel Orisinalitas Penelitian.....	4
Tabel 2. Sifat Fisik dan Kimia Benzena.....	7
Tabel 3. Batas Jumlah dan Lama Paparan Benzene di Udara.....	10
Tabel 4. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Frekuensi Mikronukleus....	28
Tabel 5. Tabel Hasil Uji-T Independen Terhadap Kelompok Penjual Bensin Eceran Dan Kontrol.....	29
Tabel 6. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Frekuensi Mikronukleus Pada Subkelompok Lama Paparan.....	30
Tabel 7. Tabel Hasil Uji-T Independent Terhadap Subkelompok Lama Paparan Penjual Bensin Eceran.....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Abnormalitas Inti Sel .....	12
Gambar 2. Mikronukleus Lapisan Superfisial .....	14
Gambar 3. Rerata Dan Standar Deviasi Frekuensi Mikronukleus Pada Kedua Kelompok .....	28
Gambar 4. Rerata Dan Standar Deviasi Frekuensi Mikronukleus Pada Dua Subkelompok Lama Paparan .....	30

## DAFTAR SINGKATAN

ACGIH	: <i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>
BBM	: Bahan Bakar Minyak
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EPA	: <i>Environmental Protection Agency</i>
IACR	: <i>International Agency for Cancer Research</i>
MN	: Mikronukleus
NIOSH	: <i>National Institute of Occupational Safety and Health</i>
OHI-S	: <i>The Simplified Oral Hygiene Index</i>
OSHA	: <i>Occupational Safety and Health Administration</i>
SPBU	: Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum

## ABSTRAK

**Latar Belakang** Uap bensin mengandung senyawa benzena yang bersifat genotoksik. Zat genotoksik mampu merusak kromosom sehingga mampu menginduksi mikronukleus. Pemeriksaan mikronukleus adalah tes yang sederhana dalam melihat mikronukleus sebagai indikator kerusakan kromosom dan cukup menjanjikan sebagai tes yang valid di masa depan.

**Tujuan** Mengetahui pengaruh paparan uap bensin terhadap peningkatan frekuensi pembentukan mikronukleus pada mukosa bukal penjual bensin eceran.

**Metode** Rancangan penelitian adalah observasional *cross sectional*. Subjek penelitian terdiri dari 70 laki-laki sehat di sepanjang jalan lingkar utara, Yogyakarta. Subjek dibagi dalam dua kelompok : 35 laki-laki penjual bensin eceran (dengan lama masa kerja minimal 3 tahun) dan 35 laki-laki yang dalam pekerjaannya tak terpapar uap bensin. Sel epitel bukal diambil menggunakan *cytobrush* dan diapuskan pada gelas obyek yang telah dibasahi dengan NaCl 0,09%, serta difiksasi dengan metanol – asetat. Spesimen dicat menggunakan metode modifikasi Feulgen – Fast Green. Frekuensi mikronukleus dihitung per 1000 sel dengan mikroskop cahaya kemudian dianalisis dengan uji-t independen.

**Hasil** Pada uji-t independen didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok penjual bensin eceran dan kelompok tidak terpapar ( $p=0,000$ ). Hasil uji-t independen pada kelompok lama paparan  $\leq 5$  tahun dan kelompok lama paparan  $> 5$  tahun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

**Kesimpulan** Paparan uap bensin pada penjual bensin eceran berpengaruh terhadap peningkatan frekuensi pembentukan mikronukleus dibandingkan kelompok yang tidak terpapar.

**Kata kunci:** Uap Bensin, Mikronukleus, Penjual Bensin Eceran

## ABSTRACT

**Background** Petroleum vapor containing benzenes, may act as a genotoxic agent which cause damage of chromosomes. One of the manifestations of chromosomal damage is micronucleus. Micronucleus assay is a kind of method which capable as a biomarker for measuring chromosomal damage from genotoxic agents.

**Aim** Evaluate the effect of petroleum vapor on micronucleus frequency of buccal epithelial cells of petroleum retail sellers.

**Methods** The subject of this study were 70 healthy men who live along the north bypass, Yogyakarta. They were randomly divided into two groups : petroleum retail seller (have been worked at least for 3 years) and control group (who unexposed petroleum gas). Petroleum retail seller's group were divided into two subgroups based on duration of exposure :  $\leq 5$  years and  $> 5$  years of exposure. Exfoliated buccal cells were collected using a cytobrush and transferred on to an object glass which was wet by NaCL 0,09%. The specimen was fixated using methanol-acetate and stained using the modification of Feulgen-Fast Green method. The frequency of micronucleus was counted per 1000 cells and observed using light microscope. The data was analyzed using an Independent-Sample T Test.

**Result** Micronucleus frequency of petroleum retail seller's group was significantly increase compared to control group. There were no significantly differences between  $\leq 5$  years of exposure group and  $> 5$  years of exposure group.

**Conclusion** The exposure of petroleum vapor may trigger micronucleus formation on buccal epithelial cells of petroleum retail sellers.

**Keywords:** Petroleum Vapor, Micronucleus, Petroleum Retail Sellers

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mukosa bukal terdiri dari suatu susunan epitel skuamus berlapis tak berkeratin yang melapisi permukaan bukal rongga mulut. Secara histologik, mukosa bukal termasuk *lining mucosa* (mukosa pelindung) yang memiliki sifat lembut, lembab, mampu meregang dan menjadi bantalan. Susunan dari superfisial ke profunda yaitu lapisan superfisial, lapisan tengah, dan lapisan basal.<sup>1</sup>

Fungsi utama mukosa pelindung adalah melindungi permukaan bukal rongga mulut dari gesekan benda-benda yang ada di dalam rongga mulut, lapisan basalnya dapat membelah diri secara aktif dan terus menerus untuk mengganti lapisan superfisial yang rusak.<sup>1,2</sup> Waktu yang dibutuhkan untuk mengganti sel yang rusak pada mukosa pelindung membutuhkan 5-16 hari, lebih cepat dibandingkan epitel kulit yang butuh waktu 12-75 hari.<sup>2</sup>

Rongga mulut merupakan pintu pertama dari berbagai substansi yang masuk ke tubuh sehingga sangat rentan terhadap substansi yang berbahaya. Salah satu substansi yang berbahaya adalah substansi genotoksik karena mampu merusak tatanan *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang ada.<sup>3,4</sup>

Dalam kehidupan sehari-hari banyak sekali paparan substansi genotoksik yang dihadapi. Bensin dan emisi kendaraan merupakan salah satu substansi genotoksik yang sangat dekat dengan kita.<sup>3,5-8</sup> Bensin merupakan

bahan bakar mudah menguap yang mengandung komponen berbahaya yaitu benzena<sup>3,5-10</sup>

Bensin merupakan hasil pengolahan minyak mentah yang memiliki kandungan hidrokarbon. Salah satu zat yang terkandung dalam bensin dan kerap kali memicu kanker adalah benzena.<sup>5,8</sup> Benzena memiliki sifat mudah menguap dan sedikit mudah larut dalam air.<sup>7,8</sup> Sifatnya yang mudah menguap mengakibatkan manusia yang hidup dan tinggal di dekat benzena mudah sekali terpapar. Sebagian besar metabolit benzena akan dibuang bersama urin dalam waktu 2 hari setelah paparan.<sup>7</sup> Meskipun metabolit benzena dapat dibuang, saat di dalam tubuh, benzena mampu merusak DNA dan akan semakin parah bila paparan yang kita terima banyak dan lama.<sup>7,11,12</sup>

Pekerja disekitar lingkungan yang mengandung paparan benzena mempunyai risiko mengalami kerusakan DNA akibat sifat genotoksik zat tersebut.<sup>3,5-8,10-14</sup> Salah satu pekerjaan yang mendapat banyak paparan benzena adalah penjual bensin dimana mereka terpapar uap bensin cukup sering.<sup>3,5-8,11,12</sup> Penjual bensin eceran merupakan penjual bahan bakar diluar Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) dan tidak memenuhi standar keamanan sehingga termasuk penerima paparan benzena yang cukup banyak.

Perubahan DNA akibat zat genotoksik yang dapat dilihat pada sel mukosa bukal adalah mikronukleus.<sup>3</sup> Mikronukleus adalah inti sel kedua yang berukuran lebih kecil dari inti sel utama dalam satu sel.<sup>3,15,16</sup> Mikronukleus terjadi akibat kegagalan pembagian kromosom pada saat mitosis sel yaitu pada anafase. Kegagalan pembagian kromosom ini akan meninggalkan sebuah

bangunan yang menyerupai nukleus dan berukuran jauh lebih kecil. Proses pembelahan mitosis dimulai pada lapisan basal yang kemudian akan ikut terbawa ke lapisan superfisial mengikuti pergerakan pembaharuan sel epitel yang normal.<sup>2,3</sup> Mikronukleus yang terdapat pada lapisan superfisial mukosa bukal dapat kita gunakan sebagai indikator terjadinya mutasi gen. Dengan menggunakan lapisan superfisial mukosa bukal, pengambilan preparat untuk melihat adanya mutasi gen akan menjadi lebih mudah dan tidak perlu melukai probandus seperti pada pengambilan leukosit dan sumsum tulang.<sup>3,15,16</sup>

Berdasarkan hal-hal tersebut, penulis ingin melakukan penelitian mengenai pengaruh paparan uap bensin dan emisi kendaraan terhadap frekuensi pembentukan mikronukleus pada epitel mukosa bukal penjual bensin eceran.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adakah pengaruh paparan uap bensin terhadap peningkatan frekuensi pembentukan mikronukleus pada mukosa bukal penjual bensin eceran.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Mengetahui pengaruh paparan uap bensin terhadap peningkatan frekuensi pembentukan mikronukleus pada mukosa bukal penjual bensin eceran.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini antara lain :

1. Dapat memberikan informasi mengenai efek paparan uap bensin terhadap kesehatan rongga mulut.
2. Dokter mampu melakukan deteksi dini mutasi gen dengan pemeriksaan mikronukleus pada rongga mulut.
3. Dapat dijadikan dasar bagi penelitian selanjutnya.

#### 1.5 Orisinalitas

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh uap bensin terhadap frekuensi mikronukleus mukosa bukal.

**Tabel 1.** Tabel Orisinalitas Penelitian

No.	Peneliti/publikasi	Judul penelitian	Rancangan Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Gilka J, et al	Frequency of Oral Mucosa Mikronuclei in Gas Station After Introducing Methanol	Penelitian terhadap 76 petugas pengisian bahan bakar tanpa metanol tahun 1989, 76 petugas pengisian bahan bakar dengan methanol tahun 1992 dan petugas yang sama pada tahun 1995 di Sao Paolo, Brazil	Paparan uap methanol mampu meningkatkan frekuensi pembentukan mikronukleus pada petugas pengisian bahan bakar.

No.	Peneliti/publikasi	Judul penelitian	Rancangan Penelitian	Hasil Penelitian
2	Cibelem I	Micronucleus Test on Gas Station Attendants	Penelitian terhadap 20 orang pria dan 10 wanita yang bekerja di stasiun pengisian bahan bakar dan 30 orang sebagai kontrol pada tahun 2006 di Pelotas, Brazil	Pekerja stasiun pengisian bahan bakar mempunyai frekuensi mikronukleus lebih tinggi dari kelompok kontrol secara bermakna.
3.	Rajkokila K	Nuclear Anomalies in Exfoliated Buccal Ephithelial Cells of Petrol Station Attendants in Tamilnadu, South India	Penelitian terhadap 120 petugas pengisian bahan bakar dan 105 orang sebagai kontrol di Tamilandu, India	Petugas pengisian bahan bakar memiliki abnormalitas nukleus lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol.

Penelitian diatas membuktikan adanya pengaruh uap bensin yang meningkatkan frekuensi mikronukleus mukosa bukal pada pekerja SPBU. Seperti diketahui bahwa pekerja SPBU memiliki jam kerja dan rotasi yang telah ditetapkan agar keselamatan kerja terjamin. Pada penelitian ini akan meneliti pengaruh uap bensin pada penjual bensin eceran yang memiliki jam kerja melebihi anjuran lama paparan dan memiliki kecenderungan terpapar setiap hari.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bahan Bakar Minyak (BBM) Bensin**

Bensin dibutuhkan untuk menjalankan mesin termasuk kendaraan yang sangat berperan bagi mobilitas manusia. Dengan fungsinya yang sangat vital, bahan mentah penghasil bensin terus digali. Bensin merupakan hasil pengolahan minyak bumi yang terdiri dari campuran hidrokarbon, aditif, dan zat campuran lainnya. Komposisi bensin sangatlah bervariasi, tergantung dari minyak mentah yang digunakan sebagai bahan baku, pengolahan yang dilakukan di kilang minyak, keseimbangan produk yang diinginkan, dan spesifikasi produk. Komposisi hidrokarbon bensin pada umumnya: 4-8% alkana; 2-5% alkena; 25-40% isoalkana; 3-7% sikloalkana; 1-4% sikloalkena, dan 20-50% sisanya aromatik (0,5-2,5% benzena).<sup>5,6</sup>

Unsur aromatik pada bensin yang terbanyak adalah benzena, toluen, xylen, etilbenzena, C<sub>3</sub>-benzena, dan C<sub>4</sub>-benzena. Beberapa zat tersebut bersifat toksik tetapi hanya benzena yang bersifat karsinogenik.<sup>6</sup>

#### **2.2 Benzena**

##### **2.2.1 Definisi Benzena**

Benzena merupakan senyawa hidrokarbon aromatik yang terdapat pada bensin. Dalam suhu ruangan, benzena adalah cairan tidak berwarna, mudah menguap dengan bau aromatik yang khas. sedikit larut dalam air

tetapi sangat mudah larut dengan pelarut organik, benzena akan mengapung di permukaan air. Berikut ini adalah tabel yang menjelaskan sifat fisik dan kimia benzena.

**Tabel 2.** Sifat Fisik dan Kimia Benzena<sup>7</sup>

No	Sifat Fisik dan Kimia	Keterangan
1	Nama Kimia	Benzena
2	Rumus Kimia	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>
3	Berat Molekul	78,11 gr/mol
4	Berat Jenis pada 15 <sup>0</sup> C	0,8787
5	Bau	Aromatik
6	Warna	Tidak berwarna
7	Titik leleh	5,5 <sup>0</sup> C
8	Titik didih	80,1 <sup>0</sup> C
9	Titik Nyala	-11,1 <sup>0</sup> C
10	Kelarutan dalam air pada 25 <sup>0</sup> C	0,188% w/w atau 1,8 gr/L
11	Kelarutan dalam pelarut	Alkohol, kloroform, eter, karbon disulfida, aseton, minyak, karbon tetraklorida, asam asetat glasial
12	Suhu spontan terbakar	498 <sup>0</sup> C

Kebanyakan orang dapat mulai membau benzena di udara sekitar 60 per juta bagian udara (ppm) dan mengenalinya sebagai benzena pada 100 ppm sedangkan dalam air pada kadar 0,5-4,5 ppm. Satu ppm adalah sama dengan sekitar satu tetes benzena dalam 40 galon air. Benzena dapat ditemukan dalam kadar kecil di udara, air, dan tanah. Sedangkan pada hasil gejala alam dan industri, benzena ditemukan dalam kadar yang cukup banyak. Sumber benzena yang merupakan hasil gejala alam antara lain berasal dari emisi gas gunung berapi dan kebakaran hutan. Minyak bumi atau yang biasa kita kenal sebagai minyak mentah ini merupakan sumber terbanyak benzena dan digunakan sebagai bahan dasar yang banyak digunakan dalam industri. Berbagai hasil industri kimia yang merupakan hasil pengolahan minyak mentah karena kandungan benzenanya antara lain: stiren (untuk *styrofoam* dan plastik lainnya); *cumene* (untuk berbagai resin); dan sikloheksana (untuk nilon dan serat sintesis). Benzena juga digunakan dalam pembuatan beberapa jenis karet, pelumas, pewarna, deterjen, obat-obatan, dan pestisida.<sup>7</sup>

Bensin juga berasal dari minyak bumi, sehingga dalam kandungannya juga terdapat benzena. Para pekerja yang bekerja dalam industri pengolahan bensin akan terpapar benzena dalam jumlah besar.<sup>6,7</sup> Paparan inhalasi adalah paparan yang paling dominan karena benzena mudah diserap secara inhalasi (70-80% pada manusia). Kulit juga merupakan penyerap benzena yang baik, tetapi dengan sifat dari benzena yang mudah menguap kemampuan serap kulit hanya sekitar 0,05%.

Benzena diserap dengan cepat didistribusikan ke seluruh tubuh dan cenderung terakumulasi dalam jaringan lemak. Bila terus terakumulasi dalam jangka panjang akan mengakibatkan kanker organ maupun kanker darah. *International Agency for Cancer Research* (IACR) dan *Environmental Protection Agency* (EPA) telah menentukan bahwa benzena adalah karsinogenik untuk manusia.<sup>7</sup>

### **2.2.2 Genotoksisitas Benzena**

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui toksisitas benzena tetapi sampai saat ini belum sepenuhnya dipahami. Metabolit benzena diyakini memiliki peran dalam toksisitas benzena. Hepar merupakan tempat terjadinya metabolisme benzena dan mengubahnya menjadi metabolit yang reaktif. Telah diteliti bahwa dengan bantuan sitokrom p-450 (CYP) isomer 2E1 yang terdapat di hati, benzena akan teroksidasi menjadi benzena oksida, benzena oxepin, fenol, katekol, dan hidrokuinon yang nantinya bisa dimetabolisme lagi menjadi berbagai metabolit lainnya.<sup>7,18,19</sup>

Metabolit benzena seperti benzena oksida, benzena oxepin, fenol, katekol, dan hidrokuinon, telah diteliti dan terbukti merupakan zat genotoksik. Hasil dari oksidasi benzena ini mampu merusak rantai DNA sehingga terjadi peningkatan juga pada pembentukan mikronukleus.<sup>7,20,21</sup>

Kerusakan DNA akibat Benzena tergantung seberapa banyak kita terpapar dalam kurun waktu tertentu. Tabel di bawah ini menjelaskan

kebijakan beberapa agensi mengenai batas maksimal jumlah paparan benzena di udara dalam kurun waktu tertentu.

**Tabel 3.** Batas Jumlah dan Lama Paparan Benzena di Udara<sup>7</sup>

Agensi	Waktu		
	10 Jam	8 Jam	15 Menit
ACGIH	-	0,5 ppm	2,5 ppm
NIOSH	0,1 ppm	-	1 ppm
OSHA	-	1 ppm	5 ppm

## 2.3 Mikronukleus

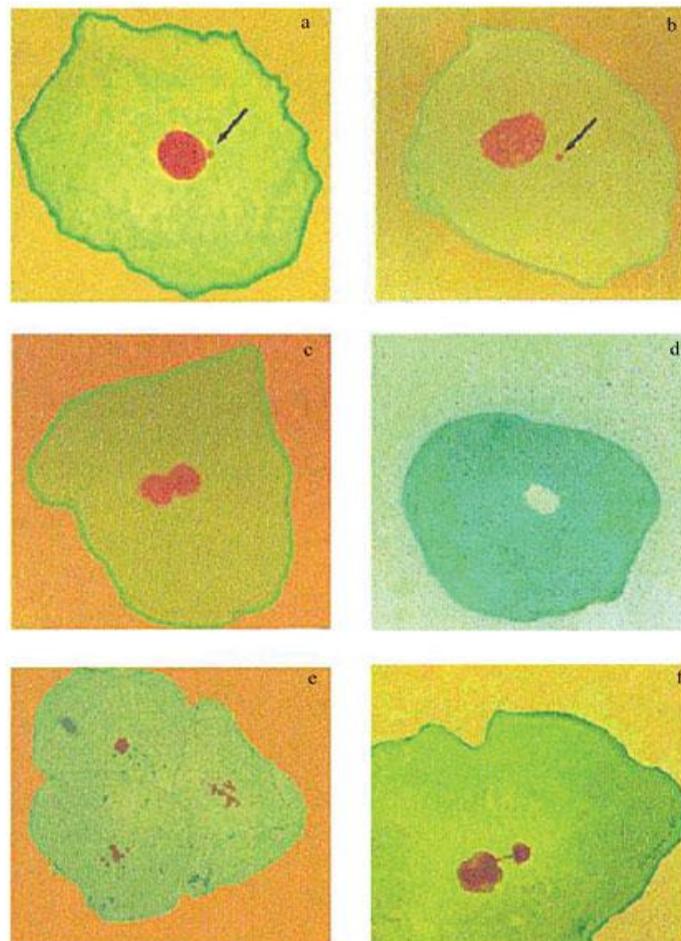
### 2.3.1 Definisi Mikronukleus

Nukleus adalah organel dalam sel yang berisi materi genetik (DNA) yang mengarahkan fungsi sel normal dan reproduksi sel. Sedangkan mikronukleus adalah inti sel yang berukuran kecil dan merupakan suatu tambahan inti sel berukuran kecil diluar inti sel utama. Pada sel organisme eukariotik, inti sel mengandung DNA yang dikemas dalam bentuk kromosom. Bentuk, ukuran, dan jumlah kromosom sama untuk suatu spesies. Selama pembelahan sel, bahan genetik akan direplikasi dan kemudian dibagi sama rata antara dua sel baru yang dihasilkan. Jika proses ini terganggu karena kromosom rusak akibat bahan kimia atau radiasi, maka distribusi bahan genetik nukleus baru

selama pembelahan sel akan terpengaruh dan sebagian atau mungkin seluruh kromosom akan gagal untuk dimasukkan dalam salah satu dari dua nukleus baru. Ketika ini terjadi, materi genetik yang tidak dimasukkan ke dalam inti akan membentuk sendiri nukleus yang berukuran lebih kecil dari nukleus utama yang terlihat jelas dengan mikroskop.<sup>3,22</sup>

Selain mikronukleus terdapat beberapa bentuk abnormalitas inti sel yang perlu diperhatikan agar dapat dibedakan dengan mikronukleus yaitu *binucleated cell*, *karyorrhetic cell*, *karyolytic cell*, *nuclear budd*, dan *fragmented nucleus*.<sup>3,12</sup> Pada gambar 1 telah dikelompokkan macam-macam abnormalitas inti sel. Gambar (a) dan (b) merupakan gambaran sel yang mengandung mikronukleus dengan panah yang menunjuk pada mikronukleus. Gambar (c) adalah *binucleated cell* yang merupakan abnormalitas inti sel dan digambarkan dengan adanya dua inti pada satu sel dimana keduanya saling terhubung. *Binucleated cell* terbentuk akibat pembelahan inti sel tidak diikuti oleh pembelahan sel karena adanya kegagalan sitokinesis. Gambar (d) adalah gambaran inti sel yang padat dengan elemen nukleokromatin yang kemudian dapat terjadi fragmentasi menjadi *fragmented nucleus* sehingga disebut *karyorrhetic cell*. Pada gambar (e) tidak ada gambaran inti sama karena sudah mengalami penghancuran. *Nuclear budd* atau *broken egg* adalah abnormalitas inti sel yang sangat mirip dengan mikronukleus, dibedakan dari mikronukleus dengan adanya hubungan antara inti sel sejati dan inti sel kedua yang

berukuran lebih kecil seperti pada gambar (f). Kelainan ini timbul karena adanya amplifikasi gen inti sel.<sup>3,12,19</sup>



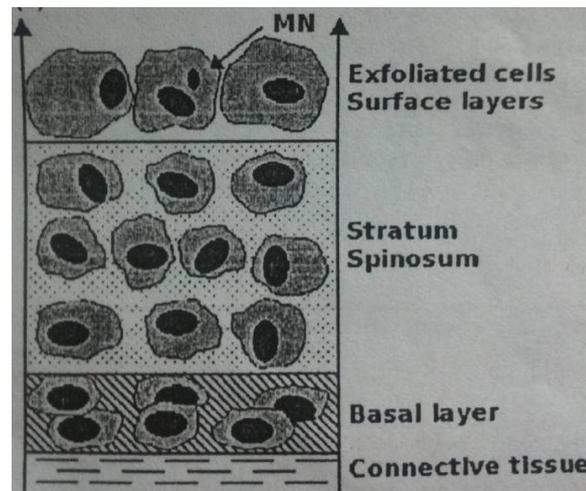
**Gambar 1.** Abnormalitas inti sel: mikronukleus (a,b); *binucleated cell* (c); *karyolysis* (d); *karyorrhexis* (e) dan *broken egg* (f).<sup>22</sup>

### 2.3.2 Terjadinya Mikronukleus

Mikronukleus terjadi akibat adanya kerusakan kromosom atau kegagalan fungsi benang spindel karena suatu proses genotoksisitas.

Mikronukleus terbentuk pada proses mitosis antara metafase dan anafase. Ketika memasuki metafase, semua kromosom akan tersusun berjajar di ekuator kemudian tiap sentromer kromosom diikat oleh benang spindel dan ditarik menuju ke kedua kutub pada anafase. Jika terdapat kerusakan inti sel pada saat proses ini berlangsung dimana akan menghasilkan fragmentasi kromosom yang tidak memiliki sentromer (asentrik) maka fragmen tersebut tidak dapat ditarik ke kutub sehingga akan tertinggal di salah satu sel baru hasil mitosis. Memasuki telofase, fragmen yang tertinggal ini akan mendapat perlakuan sama halnya dengan inti sel yang sejati yaitu akan mengalami suatu proses pembentukan membran inti sehingga mikronukleus terbentuk terpisah sempurna dari inti sel yang sesungguhnya.<sup>14,24</sup>

Pada awalnya, mikronukleus hanya terdapat pada lapisan basal. Dengan sifat epitel yang selalu memperbaharui lapisan yang superfisial dengan lapisan yang berada di bawahnya, sel yang mengandung mikronukleus akan ikut terbawa ke superfisial. Waktu yang diperlukan untuk perjalanan ini memakan waktu 7 sampai 10 hari sebagai proses regenerasi sel-sel pada lapisan superfisial yang senantiasa mengalami pengelupasan terus menerus. Mikronukleus juga bersifat menetap yaitu tidak direduksi oleh sistem metabolisme sel setelah terbentuk di lapisan basal.<sup>3</sup>



**Gambar 2.** Mikronukleus lapisan superfisial.<sup>3</sup>

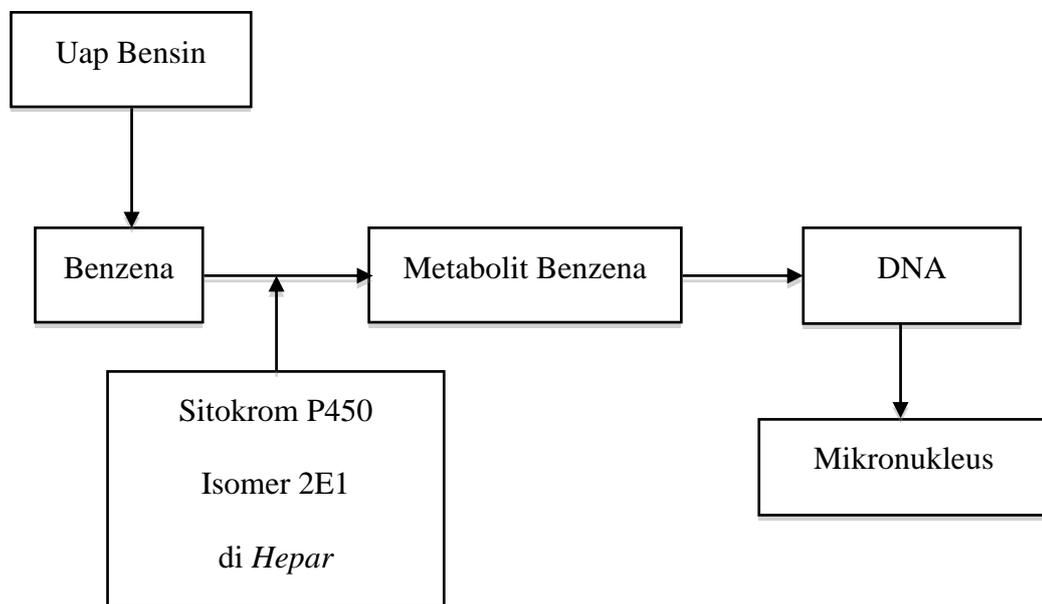
### 2.3.3 Biomonitoring Mikronukleus

Mikronukleus merupakan biomarker faktor risiko kanker yang menjanjikan di masa depan karena prosesnya cukup sederhana dan hasilnya cukup sensitif. Pemeriksaan terbaik sebenarnya menggunakan pengecatan DNA, tetapi cara ini kurang praktis dan terlalu mahal biayanya. Pemeriksaan mikronukleus dilakukan dengan mengambil preparat dari apusan mukosa bukal menggunakan *cytobrush* lalu dilakukan pengecatan Fuelgen-Rossenback. Hasil pengecatan preparat diamati di bawah mikroskop. Penghitungan sel yang ideal seharusnya adalah 10.000 sel, tetapi dengan jumlah itu terlalu memakan waktu maka banyak penelitian yang hanya menghitung sel hanya hingga 1000-3000 sel. Pada orang normal atau tanpa paparan genotoksik, nilai rata-rata mikronukleus berkisar antara 0,05-11,5 MN/1000 sel dengan rata-rata 0,5-2,5 MN/1000 sel.<sup>3</sup>

## BAB 3

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Teori



#### 3.2 Kerangka Konsep



### **3.3 Hipotesis**

Paparan uap bensin berpengaruh pada peningkatan frekuensi mikronukleus mukosa bukal penjual bensin eceran dibandingkan frekuensi mikronukleus rata-rata.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini tercakup dalam bidang kesehatan gigi dan mulut. Penelitian ini dilakukan di *ring road* (jalan lingkar) utara Jogjakarta karena memiliki jalan yang panjangnya 16 km, populasi kios penjual bensin sekitar 66 di sepanjang jalan utama dan kepadatan lalu lintasnya relatif sama. Hal ini memudahkan peneliti dalam mengumpulkan sampel.

#### **4.2 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *cross-sectional*.

#### **4.3 Identifikasi Variabel**

1. Variabel Pengaruh

Paparan uap bensin

2. Variabel Terpengaruh

Frekuensi mikronukleus sel epitel mukosa bukal.

3. Variabel Terkendali

a. Usia : 20 – 40 tahun

- b. Jenis Kelamin : Laki-laki
- c. Lama Masa Kerja : minimal 3 tahun<sup>12</sup>
- d. Status kebersihan mulut menggunakan kriteria *Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S)* : cukup

#### 4. Variabel Tidak Terkendali

Sifat genetik subyek

### 4.4 Populasi dan Sampel

#### 4.4.1 Populasi

##### a. Populasi Target

Meliputi semua penjual bensin eceran.

##### b. Populasi Terjangkau

Meliputi penjual bensin eceran berusia 20-40 tahun di jalan lingkaran utara Kota Jogjakarta.

#### 4.4.2 Sampel

Besar sampel minimal dihitung dengan rumus:<sup>25</sup>

$$n_1 = n_2 = 2x \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta) \cdot s}{x_1 - x_2} \right]^2$$

Berdasarkan rumus di atas apabila diinginkan tingkat kepercayaan 95% maka didapatkan angka  $Z_\alpha = 1,96$  dan  $Z_\beta = 0,842$  nilai s didapatkan 2,05 dan  $x_1 - x_2$  adalah 1,5 maka didapatkan sampel minimal adalah 29 orang.

Sampel penelitian ini adalah 35 orang penjual bensin eceran yang memenuhi kriteria inklusi dan kontrol 35 orang yang tidak bekerja sebagai penjual bensin, tidak merokok, dan tidak terkena uap bensin dalam pekerjaannya. Pemilihan sampel penelitian dengan *consecutive sampling*.

#### Kriteria Inklusi

- a. Penjual bensin eceran yang berumur 20-40 tahun
- b. Penjual bensin eceran yang hadir ketika penelitian dilaksanakan.
- c. Penjual bensin eceran dengan kriteria OHI-S minimal “cukup”
- d. Lama masa kerja sebagai penjual bensin eceran lebih dari 3 tahun

#### Kriteria Eksklusi

Penjual bensin eceran yang tidak mau diperiksa saat penelitian dilakukan

### 4.5 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Skala
1.	Mikronukleus	Inti sel tambahan berdiameter sepertiga dari diameter nukleus utama dan tampak setelah dilakukan pengecatan Feulgen-Rossenback	Numerik

Oral hygiene indeks : Nilai kebersihan mulut yang didapat dari hasil penjumlahan Indeks Kalkulus dan Indeks Debris dengan penilaian: <sup>26</sup>

- a. 0,1-1,2 berarti kebersihan mulut “baik”
- b. 1,3-3,0 berarti kebersihan mulut “cukup”
- c. 3,1-6,0 berarti kebersihan mulut “jelek”

## 4.6 Bahan dan Alat

### 4.6.1 Alat dan Bahan Penelitian

- a. Alat dan bahan untuk pengambilan preparat sel epitel bukal subyek

1. Sikat sel



2. Air

- b. Alat dan bahan untuk pembuatan preparat dan pengecatan

1. Gelas obyek
2. NaCl 0,09%
3. Metanol-asam asetat (3:1)
4. 5M HCl
5. Aquades
6. Reagen Schiff's
7. *Counterstained Fast Green 1%*
8. *Glass cover slip*

c. Alat dan bahan untuk penghitungan sel

1. Mikroskop cahaya (200x)
2. *Handy counter*

#### 4.6.2 Jalannya Penelitian

a. Pengisian *informed consent*

1. Peneliti melakukan perkenalan dan wawancara untuk mendapatkan data diri subyek. Setelah itu, peneliti menjelaskan alur dan risiko subyek dalam penelitian.
2. Bila setuju menjadi subyek, pihak tersebut diminta untuk mengisi formulir *informed consent*.

b. Pengambilan sel epitel mukosa bukal

1. Sebelum memulai pengambilan sampel, subyek diminta untuk berkumur dengan air putih satu gelas 250cc untuk menghilangkan debris di rongga mulut.
2. Tiap subjek diambil sediaan dengan metode *smear* menggunakan *cytobrush* yang sudah dibasahi dengan air. Pengusapan dilakukan di mukosa bukal kanan dengan cara memutar sikat sel sekurang-kurangnya 360°.
3. Sikat sel diusapkan kembali pada gelas obyek agar sel tersebut menempel di plat tersebut. Pengusapan dilakukan dengan cara memutar sikat sel berlawanan dengan arah putaran pengusapan yang sebelumnya dilakukan pada mukosa bukal kanan.

4. Proses pengusapan mukosa dan pemindahan sel pada gelas obyek juga dilakukan pada mukosa bukal sebelah kiri.
  5. Sel yang sudah diusap di gelas obyek diberi dua tetes NaCl 0,09% dan dibiarkan sampai kering.
  6. Fiksasi dilakukan dengan merendam gelas obyek tersebut dalam larutan metanol-asetat (3:1).
- c. Pengecatan preparat
1. Pengecatan dilakukan dengan metode modifikasi reaksi Feulgen-Rossenback.
  2. Spesimen direndam dalam larutan 5M HCl pada suhu ruang selama 15 menit lalu dicuci dengan aquades selama 10-15 menit.
  3. Selanjutnya spesimen diwarnai dengan reagen Schiff's selama 90 menit dilanjutkan dengan pewarnaan *Fast Green* 1% selama 1 menit.
- d. Interpretasi sel dan penghitungan sel
1. Spesimen kemudian diidentifikasi dengan menggunakan mikroskop cahaya (200x).
  2. Dalam satu gelas obyek setidaknya didapat hasil *smear* sejumlah 1000 sel setiap individu.
  3. Sebelum menginterpretasi mikronukleus, sel yang dimasukkan dalam kriteria perhitungan harus memiliki parameter tertentu untuk bisa dilakukan skoring.

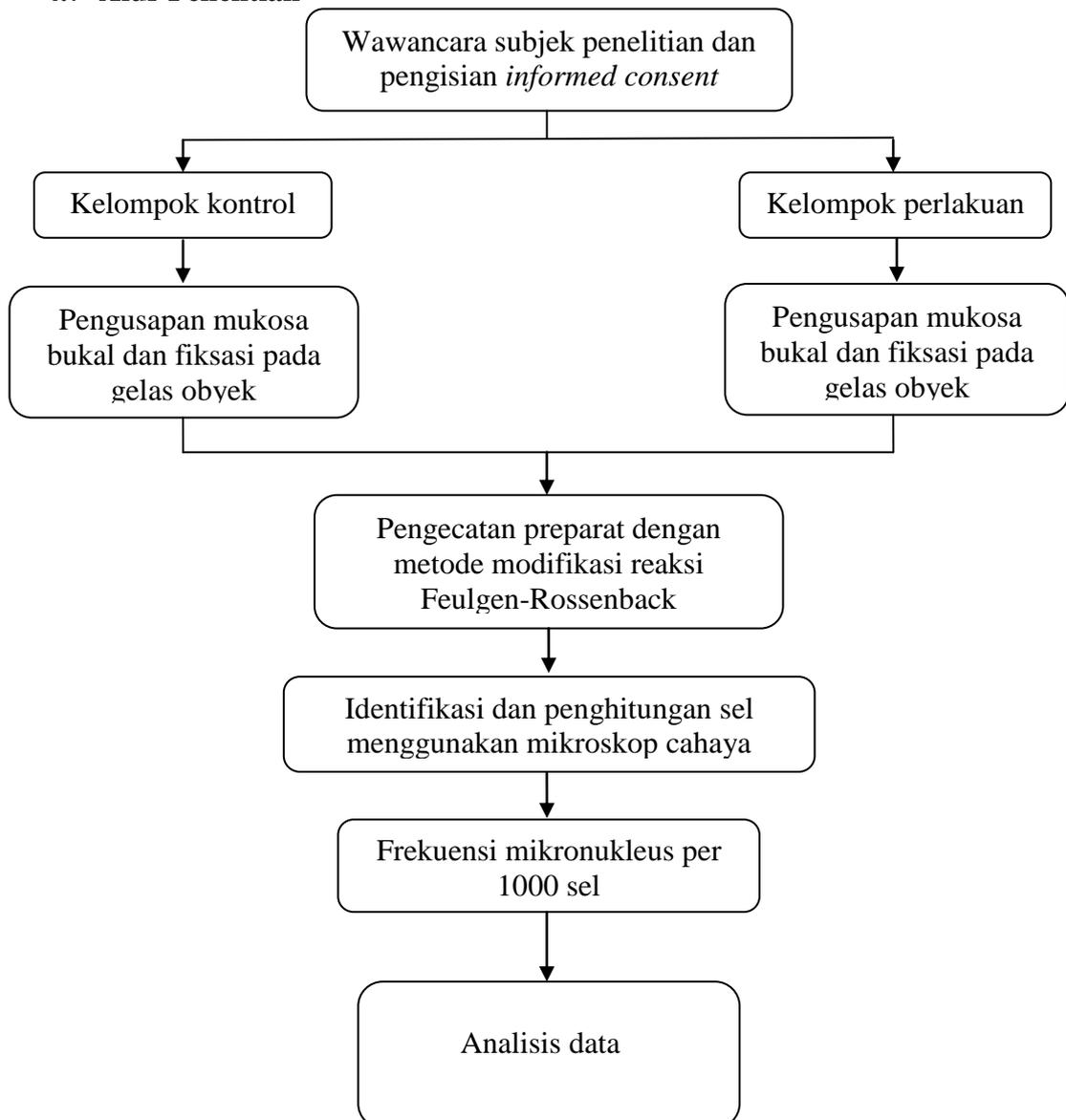
4. Parameter yang harus terpenuhi yaitu :
  - a. Sitoplasma sel masih utuh dan posisi sel dalam gelas obyek relatif datar.
  - b. Sel yang diamati sedikit atau tidak bertumpukan dengan sel disebelahnya
  - c. Nukleus normal dan utuh, perimeter nuklear halus, dan berbatas jelas
  - d. Preparat mengandung sedikit atau tidak ada debris sama sekali
5. Kriteria yang digunakan untuk mengidentifikasi mikronukleus pada sel antara lain :
  - a. Perimeter nukleus bulat dan halus
  - b. Ukurannya kurang dari sepertiga diameter nukleus tetapi cukup besar untuk bisa dilihat baik bentuk maupun warnanya.
  - c. Pewarnaan Feulgen positif (nukleus berwarna merah muda dengan sedikit iluminasi)
  - d. Intensitas warna dan teksturnya mirip dengan nukleus
  - e. Inti sel tidak bertumpukan dan seolah memiliki jembatan dengan nukleus
6. Mikronukleus yang teridentifikasi dan sesuai kriteria diatas dihitung dengan menggunakan *handy counter*. Frekuensi mikronukleus ditulis dalam satuan per 1000 sel yang dihitung.

7. Anomali nukelus yang lain selain mikronukleus seperti nukleus piknotik, *karyolytic*, *karyorhetic*, *nuclear bud (broken eggs)*, dan *binucleated cell* tidak dihitung.

e. Analisis data

Analisis data dengan menggunakan uji T independen dengan program SPSS 12.

#### 4.7 Alur Penelitian



#### 4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh untuk masing-masing responden dalam formulir pencatatan data yang ada, ditabulasi kemudian dilakukan analisis statistik melalui proses

a. Penyuntingan

Bertujuan untuk mengoreksi data, meliputi kebenaran dan kelengkapan pencatatan. Penyuntingan dilakukan di tempat pengumpulan data agar apabila terjadi kesalahan atau kekurangan dapat segera dilakukan perbaikan.

b. Tabulasi dan Pengelompokan data

Data yang terkumpul dipindahkan ke dalam tabel dan dikelompokkan sesuai variabel penelitian.

c. Analisis Data

Data hasil penelitian adalah rerata jumlah sel mikronukleus kelompok terpapar dan kontrol yang akan dimasukan kedalam file komputer dan disajikan dalam bentuk tabel. Data dari kelompok perlakuan tersebut dianalisis normalitasnya dengan Kolmogorov smirnov. Bila distribusi datanya normal, dilakukan analisis statistik parametrik Uji T independen, sedangkan bila distribusi datanya tidak normal, dilakukan analisis statistik nonparametrik Mann-whitney. Nilai kemaknaan atau signifikasi uji ini apabila nilai  $p < 0,05$  (tingkat

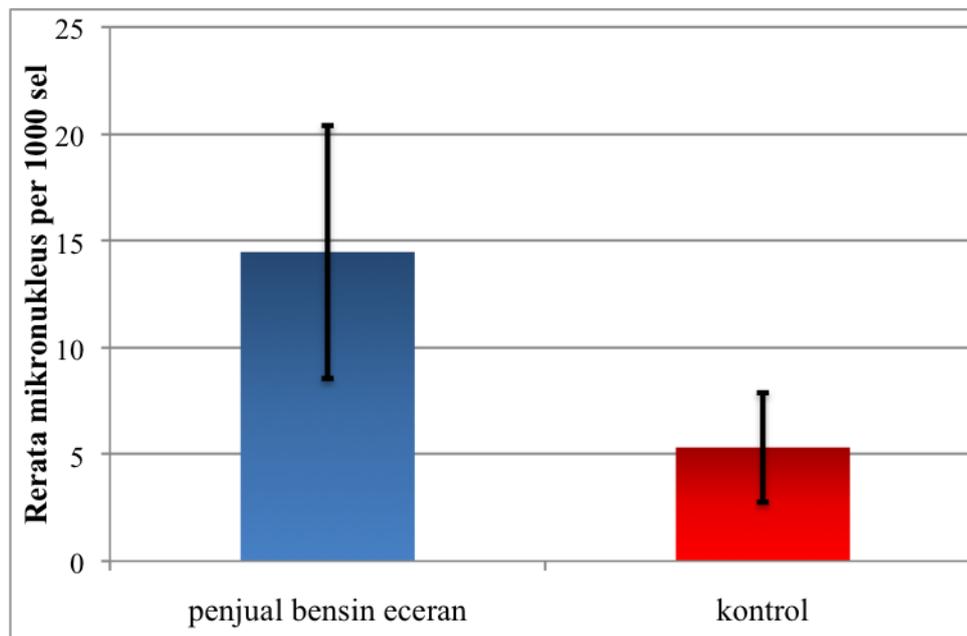


## **BAB 5**

### **HASIL PENELITIAN**

Jumlah sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah 70 preparat, terdiri dari 35 sampel kelompok penjual bensin eceran dan 35 sampel kelompok kontrol yang diambil dari pekerja yang tidak terpapar. Dari seluruh jumlah sampel yang diambil, hanya 30 sampel dari kelompok penjual bensin eceran dan 34 sampel dari kelompok kontrol yang diamati. Lima sampel dari kelompok penjual bensin eceran dan satu sampel dari kelompok kontrol dinyatakan *drop out* karena tidak memenuhi kriteria jumlah sel yang diamati (1000 sel epitel mukosa bukal). Hal ini disebabkan oleh putaran *cytobrush* yang lebih dari 360° pada saat proses pengusapan mukosa bukal sehingga pada pengamatan dengan mikroskop cahaya, banyak sel epitel yang saling bertumpang tindih sehingga tidak dapat dihitung. Selain itu, pemberian NaCl 0,09% yang berlebih sebelum fiksasi juga dapat mengurangi jumlah sel karena banyak sel yang belum terfiksasi ikut terbang saat proses pemerataan hasil usapan. Meskipun beberapa sampel dinyatakan *drop out*, jumlah sampel di atas masih memenuhi kriteria sampel minimal yaitu 30 sampel dari masing-masing kelompok.

Rerata dan standar deviasi frekuensi mikronukleus kedua kelompok uji ditunjukkan pada Gambar 3. Standar deviasi merupakan rata-rata selisih tiap data terhadap rata-rata keseluruhan.



**Gambar 3.** Rerata dan standar deviasi frekuensi mikronukleus pada kedua kelompok. Frekuensi mikronukleus pada penjual bensin eceran lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Hasil uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan nilai  $p > 0.05$  yang berarti distribusi data frekuensi mikronukleus pada kedua kelompok sesuai dengan kurva normal, seperti yang tercantum pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Frekuensi Mikronukleus ( $p < 0,05$ )

Kelompok	<i>Kolmogorov-Smirnov</i> (normalitas)		
	n	p	
Frekuensi mikronukleus	Penjual Bensin Eceran	30	0,200
	Kontrol	34	0,150

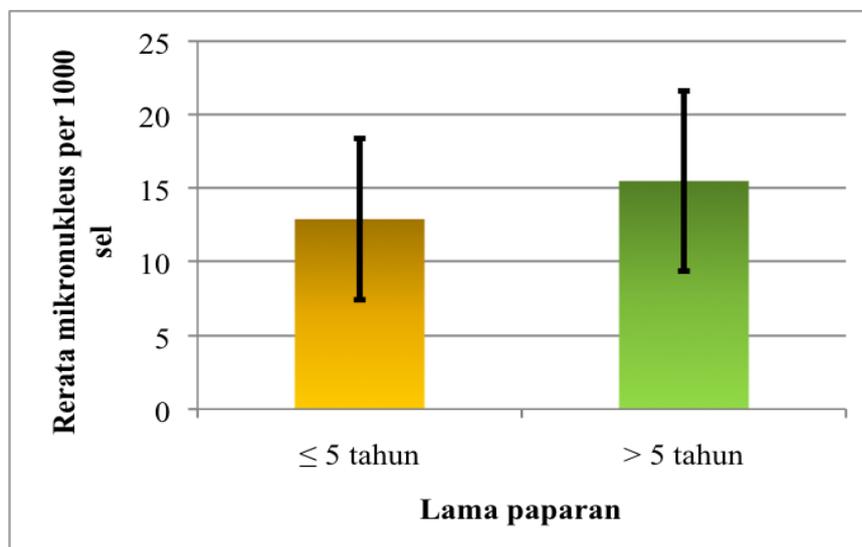
Dari hasil uji-t tes independen (tabel 5), didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara rerata frekuensi mikronukleus kelompok penjual bensin eceran dan kontrol. Dengan demikian, uap bensin dapat

meningkatkan frekuensi mikronukleus epitel bukal pada kelompok penjual bensin eceran.

**Tabel 5.** Tabel Hasil Uji-T Independen Terhadap Kelompok Penjual Bensin Eceran Dan Kontrol ( $p < 0,05$ )

	<b>n</b>	<b>Rerata <math>\pm</math> S.D</b>	<b>p</b>
<b>Penjual Bensin Eceran</b>	30	14,47 $\pm$ 5,92	0,000
<b>Kontrol</b>	34	5,32 $\pm$ 2,56	

Menurut *Occupational Safety and Health Administration*, lama paparan benzena lebih dari lima tahun mampu merusak kromosom lebih jauh sehingga pada penelitian ini kelompok penjual bensin eceran dibagi menjadi dua subkelompok lama paparan untuk dianalisis lebih lanjut, yaitu lama paparan  $\leq 5$  tahun dan  $> 5$  tahun.<sup>27</sup> Rerata dan standar deviasi frekuensi mikronukleus pada dua subkelompok tersebut dirangkum pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Rerata dan standar deviasi frekuensi mikronukleus pada dua subkelompok lama paparan. Frekuensi mikronukleus subkelompok lama paparan  $> 5$  tahun lebih tinggi daripada subkelompok lama paparan  $\leq 5$  tahun.

Hasil uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov menunjukkan nilai  $p > 0,05$  (Tabel 6), yang berarti sebaran data frekuensi mikronukleus pada dua subkelompok lama paparan terdistribusi normal.

**Tabel 6.** Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Frekuensi Mikronukleus Pada Subkelompok Lama Paparan ( $p < 0,05$ )

	Subkelompok Lama Paparan (tahun)	Kolmogorov-Smirnov (normalitas)	
		n	p
Frekuensi mikronukleus	$\leq 5$	12	0,200
	$> 5$	18	0,200

Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji-t tes independen. Setelah dilakukan uji-t tes independen seperti yang tercantum pada tabel 7, didapatkan perbedaan rerata mikronukleus sel epitel bukal yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) antara subkelompok lama paparan  $\leq 5$  tahun dengan subkelompok lama paparan  $> 5$  tahun.

**Tabel 7.** Tabel Hasil Uji-T Independent Terhadap Subkelompok Lama Paparan Penjual Bensin Eceran ( $p < 0,05$ )

Subkelompok Lama Paparan (tahun)	n	Rerata	p
$\leq 5$	12	12,91	0,239
$> 5$	18	15,50	

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mikronukleus tidak hanya ditemukan pada kelompok penjual bensin eceran, tetapi juga pada kelompok kontrol. Hal ini juga ditemukan oleh Cibelem I dan Rajkokila K pada penelitian mereka. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata mikronukleus pada kelompok kontrol lebih tinggi (5,3235 per 1000 sel) dibandingkan penelitian Cibelem I (2,53 per 1000 sel) dan Rajkokila K (2,68 per 1000 sel).<sup>11,12</sup> Perbedaan ini kemungkinan diakibatkan adanya beberapa faktor yang tidak dapat dikendalikan oleh peneliti seperti polusi udara dan diet. Polusi udara mengandung hasil gas buang kendaraan yang mampu menginduksi mikronukleus. Demikian pula dengan makanan yang diawetkan dan yang mengandung pestisida.<sup>3</sup>

Rerata mikronukleus pada kelompok penjual bensin eceran adalah sebesar 14,4667 atau dua kali lipat lebih besar daripada kontrol. Hal ini diperkuat dengan hasil uji-t tidak berpasangan yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada rerata frekuensi mikronukleus kedua kelompok tersebut ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian hasil penelitian ini sesuai dengan hipotesis yang menyatakan bahwa uap bensin mampu menginduksi peningkatan frekuensi mikronukleus pada penjual bensin eceran dibandingkan dengan kontrol.

Kelompok penjual bensin eceran ternyata mendapatkan efek genotoksisitas yang lebih besar dibandingkan dengan individu yang tidak terpapar. Hal ini sesuai dengan penelitian Cibelem I dan Rajkokila K.<sup>11,12</sup> Hasil penelitian Cibelem I

menunjukkan frekuensi mikronukleus sel epitel bukal pada pekerja stasiun pengisian bahan bakar di Brazil mengalami peningkatan yang bermakna dibandingkan kontrol.<sup>12</sup> Rajkokila K juga menunjukkan hal yang sama pada petugas pengisian bahan bakar di India.<sup>11</sup>

Paparan uap bensin pada penjual bensin eceran terjadi melalui inhalasi. Salah satu senyawa yang terkandung dalam uap bensin adalah benzena. Di dalam tubuh, senyawa ini akan diuraikan oleh enzim sitokrom p-450 isomer 2E1 melalui reaksi oksidasi. Reaksi ini akan menghasilkan metabolit reaktif seperti benzena oksida, benzena oxepin, dan phenol. Ketiga metabolit ini masih dapat terurai lagi menjadi katekol, hidrokuinon, 1,2-benzokuinon dan 1,4-benzokuinon. Metabolit-metabolit tersebut akan masuk ke dalam aliran darah dan akhirnya tiba di sel epitel bukal. Di dalam sel epitel bukal, metabolit tersebut akan memicu patahnya rantai kromosom pada saat pembelahan sel.<sup>7,18,19</sup>

Salah satu manifestasi efek genotoksisitas pada sel adalah terbentuknya mikronukleus. Patahan kromosom yang terbentuk oleh metabolit reaktif akan tertinggal di ekuator pada saat fase anafase pembelahan mitosis. Pada saat fase telofase, membran inti akan membungkus patahan kromosom tersebut dan akhirnya menjadi inti sel baru. Inti sel baru ini berukuran lebih kecil dan terpisah dari nukleus utama.<sup>3,14,22,24</sup> Mikronukleus awalnya terdeteksi pada lapisan basal karena lapisan tersebut merupakan lapisan yang aktif melakukan pembelahan. Namun, karena adanya proses *turnover* pada epitel bukal, sel bermikronukleus akan ikut berdiferensiasi dan bermigrasi ke lapisan di atasnya. Dengan demikian,

sel bermikronukleus dapat diambil dan diamati melalui uji mikronukleus sel epitel bukal.<sup>3</sup>

Kelompok penjual bensin eceran kemudian dianalisis lebih lanjut berdasarkan lama paparan. Kelompok penjual bensin eceran dibagi menjadi dua subkelompok lama paparan, yakni subkelompok lama paparan  $\leq 5$  tahun dan  $> 5$  tahun. Rerata mikronukleus pada subkelompok lama paparan  $>5$  tahun (15,5 per 1000 sel) lebih tinggi dari subkelompok lama paparan  $\leq 5$  tahun (12,9167 per 1000 sel). Hasil uji-t tidak berpasangan menunjukkan perbedaan rerata yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ). Rajkocila K dan Cibelem I juga mendapatkan hasil serupa pada kelompok yang terpapar.<sup>11,12</sup>

Peningkatan mikronukleus pada subkelompok lama paparan  $>5$  tahun diakibatkan adanya akumulasi benzena di dalam tubuh. Benzena yang terhirup, akan masuk ke tubuh melalui paru-paru lalu ke aliran darah. Aliran darah akan mendistribusikan sebagian benzena ke hepar dalam jumlah tertentu dan akan dibuang oleh ginjal dalam jumlah terbatas. Hepar hanya mampu melakukan metabolisme sebagian dari benzena dalam tubuh dan sisanya akan disimpan di jaringan lemak. Simpanan benzena di jaringan lemak akan terus bertambah bila kita terus menerus terpapar. Tetapi, paparan uap bensin (benzena) dalam jumlah besar dan terus menerus membuat metabolisme benzena akan menjadi jenuh. Ketika metabolisme mulai jenuh dan jaringan lemak sudah terisi oleh benzena, senyawa ini akan dibuang secara utuh melalui ekspirasi sehingga kadar benzena di dalam tubuh peningkatannya akan terbatas.<sup>7,18,19</sup>

Selain itu, sel memiliki *DNA damage response mechanism* untuk mengaktifkan mekanisme pertahanan sebagai bentuk respon terhadap zat asing yang berbahaya.<sup>28</sup> Mekanisme pertahanan ini dilakukan melalui jalur *cell cycle checkpoints*. Jalur ini mampu untuk mendeteksi adanya kerusakan DNA yang kemudian akan diperbaiki atau malah menginduksi apoptosis sel sehingga munculnya mikronukleus dapat ditekan.<sup>29</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa uap bensin merupakan zat genotoksik yang mampu menginduksi mikronukleus sehingga hasil dari pengolahan minyak mentah ini bisa dimasukkan dalam kelompok faktor risiko penyebab kanker. Namun uap bensin tidak langsung menginduksi terjadinya kanker karena sistem pertahanan tubuh masih mampu menghentikan dan membunuh sel yang berpotensi menjadi kanker.

## **BAB 7**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Simpulan**

Pada saat pengambilan dan setelah pengambilan sampel jaringan epitel mukosa bukal, tidak ada keluhan dari subyek sehingga uji mikronukleus terbukti aman, hanya saja diperlukan ketelitian saat pengambilan sampel agar tidak terjadi kendala kurangnya jumlah sel selama pengamatan. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa paparan uap bensin pada penjual bensin eceran dapat meningkatkan frekuensi pembentukan mikronukleus mukosa bukal pada penjual bensin eceran dibandingkan kelompok yang tidak terpapar. Sedangkan lama paparan uap bensin pada penjual bensin eceran tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

#### **6.2 Saran**

Untuk perkembangan pemeriksaan mikronukleus, diperlukan penelitian kohort untuk mengetahui nilai normal frekuensi sel mengandung mikronukleus dan peningkatan mikronukleus pada mukosa bukal akibat paparan asap rokok. Asap rokok termasuk paparan zat genotoksik yang sulit dihindari di Indonesia. Dengan mengetahui nilai normal sel mengandung mikronukleus dan pengaruh paparan asap rokok, penelitian mikronukleus dapat dikaji lebih dalam.

Penjual bensin eceran perlu diberi pembimbingan dan pengarahan untuk mengurangi paparan dari uap bensin dengan cara menyimpan bensin dengan botol yang tertutup rapat, menyimpan bensin jauh dari tempat tinggal, dan penggunaan masker selama pelayanan konsumen.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bath-Balogh M and Fehrenbach M.J. Illustrated Dental Embriology, Histology, and Anatomy third edition.WB. Saunders Company.2006; 127-150
2. Moss-Salentijn L and Klyvert M. Dental and Oral Tissues : An Introduction for Paraprofessionals in Dentistry. Philadelphia : Lea & Febiger. 1980; 27-43
3. Nina H, Claudia B, Micheline K, Stefano B, Errol Z, Siegfried K. The micronucleus assay in human buccal cell as a tool for biomonitoring DNA damage : The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps.Elsevier.2008; 16-30
4. Dorland W. Kamus Kedokteran ed. 29. EGC:Jakarta.2002;910
5. Agency for Toxic Substance and Disease Registry. Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH). Atlanta: Agency for Toxic Substance and Disease Registry. 1999; 1-5
6. Agency for Toxic Substance and Disease Registry. Toxicological Profile for Gasoline. Atlanta: Agency for Toxic Substance and Disease Registry.1995:1-87
7. Agency for Toxic Substance and Disease Registry. Toxicological Profile for Benzene. Atlanta: Agency for Toxic Substance and Disease Registry. 2007: 1-308
8. Agency for Toxic Substance and Disease Registry. Benzene Toxicity. Atlanta: Agency for Toxic Substance. 2006: 1-16
9. Pertamina [homepage on the internet]. c2011. Available from <http://www.pertamina.com/index.php/detail/read/premium>
10. Direktorat-Pemasaran dan Niaga PT.PERTAMINA. Material Safety Data Sheet. Jakarta: PT. PERTAMINA (PERSERO). 2007: 1-9

11. Rajkokila, Shajithanoop, and Usharani. Nuclear anomalies in exfoliated buccal epithelial cell of petrol station attendants in Tamilnadu, South India. *Journal of Medical Genetics and Genomics*. 2010; 2(2):18-22
12. Cibelem I.M, Amado L.L, Vianna R.A.P, Martino-Roth M.G. Micronucleus Test on Gas Station Attendants. *Genet. Mol. Res*. 2006; 5 (1): 45-54
13. Keshava N and Ong T. Occupational Exposure To Genotoxic Agents. *Mutation Research*. 2000; 437(2) : 175 – 194.
14. Erik W. *Cell Genotoxicity*. West Sussex: Ellis Horwood Limited. 1990:130-157
15. Bonassi S, Biasotti B, Micheline Kirsch-Volders, Knasmueller S, Zeiger E, Burgaz S, Bolognesi C, Holland N, Thomas P, Fenech M. State Of Art Survey Of The Buccal Micronucleus Assay – A First Stage In The HUMN Project Initiative. *Mutagenesis*. 2009; 24: 295 – 302
16. Fenech M, Holland N, Knasmueller S, Burgaz S, Bonassi S. Report On The Buccal Micronucleus Assay Workshop Organized By International Human Micronucleus (HUMN) Project – Atlanta, Turkey. *Mutagenesis*. 2008; 24 (2): 199 – 201
17. Gilka G.J.F, Cardoso L.A, Medrado-Faria M.A, Saldanha P.H. Frequency of Oral Mucosa Micronuclei in Gas Station Operators After Introducing Methanol. *Occup. Med*. 2001; 51 (2): 107-113
18. Seaton M.J, Schlosser P.M, Bond J.A, Medinsky M.A. Benzene Metabolism by Human Liver Microsomes in Relation to Cytochrome P450 2E1 Activity. *Carcinogenesis*.1994; 15 (9): 1799-1806
19. Powley M.W, Carlson G.P. Cytochrome P450 Isozymes Involved in The Metabolism of Phenol, a Benzene Metabolite. *Toxicology Letters*. 2001; 125: 117-123
20. Gillis B, Gavin I.M, Arbieva Z, King S.T, Jayaraman S, Prabhakar B.S. Identification of Human Cell Responses to Benzene and Benzene Metabolites. *Genomics*. 2007; 90: 324-333
21. Yager J.W, Eastmond D.A, Robertson M.L, Paradisin W.M, Smith M.T. Characterization of Micronuclei Induced in Human Lymphocytes by Benzene Metabolites. *Cancer Res*. 1990; 50(2): 393-399

22. National Toxicology Program [homepage on the internet]. c2012. Available from <http://ntp.niehs.nih.gov/go/9401>
23. Ramirez A and Saldanha P.H. Micronucleus Investigation of Alcoholic Patients with Oral Carcinomas. *Genet. Mol. Res.* 2002; 1 (3): 246-260
24. John V. *Genetic Stability and Instability in Tumours*. West Sussex: Ellis Horwood Limited.1990: 9-18
25. Dahlan M.S. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan* ed. 5. Salemba Medika: Jakarta. 2011; 1-53
26. Shivakumar M. *Preventive and Community Dentistry*. Jaypee: New Delhi. 2006; 26-34
27. Occupational Safety & Health Administration [homepage on the internet]. c2012. Available from <http://www.osha.gov/SLTC/benzene/>
28. Jackson S.P, Bartek J. The DNA-Damage Response in Human Biology and Disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071-8
29. Niida H, Nakanishi M. DNA Damage Checkpoints in Mammals. *Mutagenesis*. 2006; 21(1): 3-9

## LAMPIRAN 1

Tabel Deskripsi Hasil Pengamatan Jumlah Mikronukleus Kelompok Bengkel dan Kontrol

	Keterangan	Statistic	Std. Error
Jumlah mikronukleus per 1000 sel	Mean	14,4667	1,08037
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	12,2571 16,6763
	5% Trimmed Mean	14,2037	
	Median	13,5000	
	Variance	35,016	
	Bensin Std. Deviation	5,91744	
	Minimum	5,00	
	Maximum	30,00	
	Range	25,00	
	Interquartile Range	8,50	
	Skewness	,735	,427
	Kurtosis	,189	,833
	Mean	5,3235	,43820
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	4,4320 6,2150
	5% Trimmed Mean	5,3595	
	Median	5,0000	
	Variance	6,529	
	Kontrol Std. Deviation	2,55510	
	Minimum	1,00	
	Maximum	9,00	
Range	8,00		
Interquartile Range	5,00		
Skewness	-,141	,403	
Kurtosis	-1,228	,788	

## LAMPIRAN 2

Tabel Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Kelompok Penjual Bensin Eceran

Tests of Normality		
Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
Statistic	df	Sig.
.098	30	.200*

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Tabel Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Kelompok Kontrol

Tests of Normality		
Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
Statistic	df	Sig.
.126	34	.185

a. Lilliefors Significance Correction

### LAMPIRAN 3

Tabel Hasil Uji-t Independen Kelompok Penjual Bensin Eceran dan Kelompok Kontrol

#### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	16,204	,000	-8,192	62	,000	-9,14314	1,11611	-11,37421	-6,91207
Equal variances not assumed			-7,842	38,413	,000	-9,14314	1,16586	-11,50246	-6,78382

#### LAMPIRAN 4

Tabel Deskripsi Hasil Pengamatan Jumlah Mikronukleus Penjual Bensin Eceran Subkelompok Lama Paparan  $\leq 5$  tahun dan Subkelompok Lama Paparan  $> 5$  tahun

	Keterangan	Statistic	Std. Error	
Jumlah mikronukleus per 1000 sel	Mean	12,9167	1,58333	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 9,4318 Upper Bound 16,4016		
	5% Trimmed Mean	12,7407		
	Median	13,0000		
	Variance	30,083		
	Std. Deviation	5,48483		
	Minimum	5,00		
	Maximum	24,00		
	Range	19,00		
	Interquartile Range	8,50		
	Skewness	,550	,637	
	Kurtosis	-,133	1,232	
		Mean	15,5000	1,44224
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 12,4571 Upper Bound 18,5429	
		5% Trimmed Mean	15,1667	
		Median	14,0000	
		Variance	37,441	
		Std. Deviation	6,11892	
		Minimum	7,00	
		Maximum	30,00	
		Range	23,00	
		Interquartile Range	9,50	
	Skewness	,832	,536	
	Kurtosis	,205	1,038	

## LAMPIRAN 5

Tabel Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Penjual Bensin Eceran Subkelompok Lama Paparan  $\leq 5$  tahun

Tests of Normality		
Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
Statistic	df	Sig.
.179	12	.200*

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Tabel Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Penjual Bensin Eceran Subkelompok Lama Paparan  $> 5$  tahun

Tests of Normality		
Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
Statistic	df	Sig.
.159	18	.200*

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

## LAMPIRAN 6

Tabel Hasil Uji-t Independen Penjual Bensin Eceran Subkelompok Lama Paparan  $\leq 5$  tahun dan Subkelompok Lama Paparan  $> 5$  tahun

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	,148	,703	-1,179	28	,248	-2,58333	2,19059	-7,07056	1,90389
Equal variances not assumed			-1.206	25,477	,239	-2,58333	2,14173	-6,99012	1,82346

## LAMPIRAN 7

Dokumentasi Penelitian:



**Gambar 2.** Bahan pengecatan



**Gambar 1.** Proses fiksasi preparat



**Gambar 4.** Perendaman preparat di dalam larutan HCL



**Gambar 3.** Pencucian preparat dengan akuades



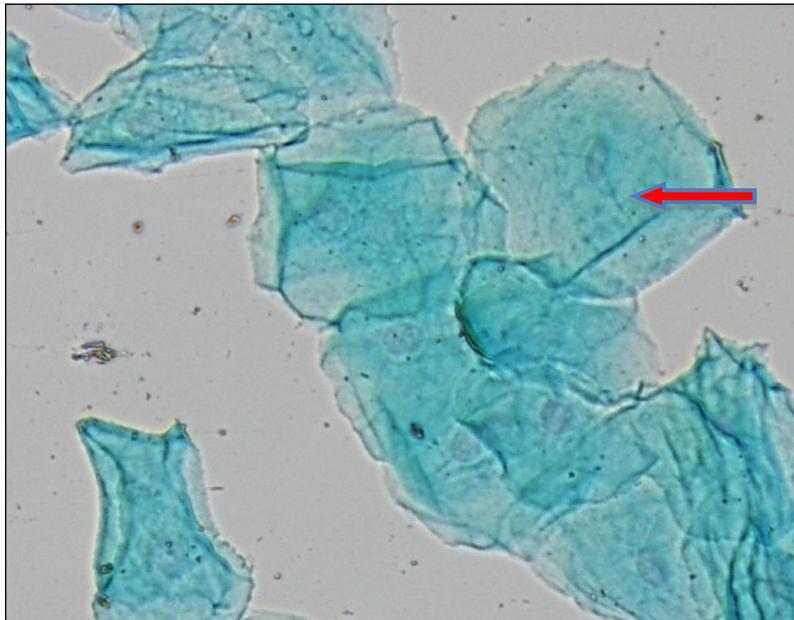
**Gambar 6.** Perendaman preparat dengan Reagen Schiff



**Gambar 5.** Pengecatan preparat dengan Fast Green



**Gambar 7.** Preparat ditiriskan setelah dicuci dengan akuades



**Gambar 8.** Mikronukleus pada sel epitel

**LAMPIRAN 8**  
*Ethical Clearance*

	<b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG</b> Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905	
<hr/> <b>ETHICAL CLEARANCE</b> <b>No. 264/EC/FK/RSDK/2012</b>		
<p>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian dengan judul :</p>		
<b>PENGARUH PAPARAN UAP BENSIN TERHADAP FREKUENSI PEMBENTUKAN MIKRONUKLEUS MUKOSA BUKAL PADA PENJUAL BENSIN ECERAN</b>		
Peneliti	:	Stefanus Satria Adi Dharma
Pembimbing	:	drg. Restadiamawati, Sp.KG
Penelitian	:	Dilaksanakan di Kota Yogyakarta
<p>Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.</p>		
<p>Peneliti harus melampirkan 2 kopi lembar Informed consent yang telah disetujui dan ditandatangani oleh peserta penelitian pada laporan penelitian.</p>		
 Fakultas Kedokteran Undip Dekan	Semarang, 24 Juli 2012 Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi Sekretaris	 Prof. Dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GK NIP. 1303806700
 dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K) NIP. 195608061985032001		

## LAMPIRAN 9

Format dan contoh *Informed Consent*:

**JUDUL PENELITIAN : PANGARUH PAPANAN UAP BENSIN  
TERHADAP FREKUENSI PEMBENTUKAN  
MIKRONUKLEUS MUKOSA BUKAL PADA  
PENJUAL BENSIN ECERAN**

**PENELITI : Stefanus Satria Adi Dharma**

### **Persetujuan Setelah Penjelasan**

***(INFORMED CONSENT)***

---

Berikut ini naskah yang akan dibacakan pada Responden Penelitian:

Bapak yang saya hormati,

Nama saya Stefanus Satria Adi Dharma, mahasiswa semester VIII Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang saat ini sedang melakukan penelitian tentang Pengaruh Paparan Uap Bensin Terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus Mukosa Bukal Pada Penjual Bensin Eceran. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui frekuensi pembentukan mikronukleus mukosa rongga mulut pada penjual bensin eceran. Mikronukleus adalah perubahan inti sel dimana terdapat gambaran inti sel tambahan yang berukuran lebih kecil dari inti sel yang sesungguhnya. Mikronukleus yang terbentuk ini mempunyai potensi menyebabkan terbentuknya sel kanker di rongga mulut. Dengan demikian penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kesehatan rongga mulut yang menyeluruh kepada Anda. Hasil penelitian ini tidak akan disebarluaskan secara umum, hanya akan dibahas pada diskusi ilmiah. Dengan demikian, kerahasiaan identitas Anda akan terjamin sesuai dengan pernyataan kesediaan yang Anda isi. Saya memohon bantuan Anda untuk kesediaannya menjadi subyek penelitian, sebab keberhasilan penelitian ini bergantung pada kerja sama Anda. Terima kasih atas perhatian dan partisipasi Anda.

Setelah mendengar dan memahami penjelasan penelitian, dengan ini saya menyatakan

**SETUJU / TIDAK SETUJU**

Untuk ikut sebagai subyek / sampel penelitian.

Jogjakarta, 2012

1. Nama :
2. Usia :
3. Pekerjaan :
4. Lama masakerja :

Dengan ini saya menyatakan telah menerima penjelasan secukupnya mengenai penelitian berjudul “Pengaruh Paparan Uap Bensin Terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus Mukosa Bukal Pada Penjual Bensin Eceran” dan bersedia menjadi subyek penelitian tersebut beserta risikonya.

Peneliti

Probandus

(\_\_\_\_\_)

(\_\_\_\_\_)

Informed Consent yang telah disetujui:

Setelah mendengar dan memahami penjelasan Penelitian, dengan ini saya menyatakan

**SETUJU / TIDAK SETUJU**

untuk ikut sebagai subyek / sampel penelitian.

Jogjakarta, 2012

1. Nama : Jaya S.
2. Usia : 26.
3. Pekerjaan : Warung (Ada Bensin)
4. Lama masa kerja : 5.

Dengan ini saya menyatakan telah menerima penjelasan secukupnya mengenai penelitian berjudul "Pengaruh Paparan Uap Bensin Terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus Mukosa Bukal Pada Penjual Bensin Eceran" dan bersedia menjadi subyek penelitian tersebut beserta risikonya.

Peneliti

  
( STEFANUS S. )

Probandus

  
( JAYA S. )

Setelah mendengar dan memahami penjelasan Penelitian, dengan ini saya menyatakan

**SETUJU / TIDAK SETUJU**

untuk ikut sebagai subyek / sampel penelitian.

Jogjakarta, 2012

1. Nama : Darta
2. Usia : 30
3. Pekerjaan : Waring Bensin
4. Lama masa kerja : 5

Dengan ini saya menyatakan telah menerima penjelasan secukupnya mengenai penelitian berjudul "Pengaruh Paparan Uap Bensin Terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus Mukosa Bukal Pada Penjual Bensin Eceran" dan bersedia menjadi subyek penelitian tersebut beserta risikonya.

Peneliti

  
(Stepanus S.)

Probandus

  
(Darta T.)

## **Identitas**

Nama : Stefanus Satria Adi Dharma  
NIM : G2A008182  
Tempat/tanggallahir : Semarang, 10 Oktober 1990  
Jeniskelamin : Laki-Laki  
Alamat : Jl. Tusam Raya L-12 Banyumanik, Semarang  
NomorTelpon : (024)7464241  
Nomor HP : 087832184777  
E-mail : [steve.anusapati@gmail.com](mailto:steve.anusapati@gmail.com)

## **RiwayatPendidikan Formal**

1. SD	: SD Antonius 02	Lulus tahun	: 2002
2. SMP	: SMP PL DomenicoSavio	Lulus tahun	: 2005
3. SMA	: SMA Kolese Loyola	Lulus tahun	: 2008
4. FK UNDIP		Masuk Tahun	: 2008

## **KeanggotaanOrganisasi**

1. Moment Hunter	Tahun 2006 s/d 2008
2. Baskom Event Organizer	Tahun 2010 s/d 2011
3. Seraphine Kennel	Tahun 2011 s/d 2012