

PENGARUH DIET BERKADAR LEMAK TINGGI TERHADAP EFEK TOKSIK ATAU KARSINOGENIK INISIATOR N-NITROSODIMETILAMIN DAN PROMOTOR ETINIL ESTRADIOL PADA PARU TIKUS WISTAR

EFFECTS OF DIETS WITH HIGH LEVEL OF FATS ON THE TOXIC OR CARCINOGENIC EFFECTS OF INITIATOR N-NITROSODIMETHYLAMINE AND PROMOTOR ETHYNYL ESTRADIOL ON THE LUNG OF WISTAR RAT

Charles Rangga Tabbu
Bagian Patologi, FKH-UGM, Yogyakarta

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh diet berkadar lemak tinggi dan sumber lemak terhadap efek toksik ataupun karsinogenik N-nitrosodimetilamin (NDMA) dan etinil estradiol (EE) pada paru tikus percobaan.

Penelitian ini dilakukan pada 72 ekor tikus betina yang diberi NDMA dan/atau EE serta diberi pakan dengan kadar lemak normal atau lemak 15%, yang mengandung 10% lemak hewani ataupun nabati. Tikus dibunuh pada hari ke-135 setelah promosi, kemudian seluruh paru dimasukkan kedalam formalin 10% dan contoh jaringan paru diwarnai dengan metode hematoxilin dan eosin (H & E).

Secara makroskopik dapat ditemukan adanya noduli pada paru kelompok tikus yang diberi NDMA, NDMA dan EE atau EE. Penambahan 10% lemak hewani atau nabati dalam diet ternyata mempunyai efek yang lebih besar untuk meningkatkan jumlah noduli paru dibandingkan dengan diet normal. Sumber lemak ternyata tidak mempunyai efek yang berbeda terhadap perkembangan noduli pada paru. Secara mikroskopik, noduli pada paru dapat digolongkan sebagai adenoma yang mungkin berasal dari sel epitel alveoli.

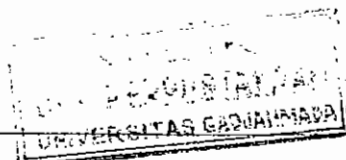
Hasil penelitian ini memberi petunjuk tentang adanya efek yang lebih besar dari diet yang mengandung tambahan 10% lemak hewani atau nabati terhadap karsinogenesis paru dibandingkan dengan diet normal.

Kata kunci : karsinogenik; N-nitrosodimetilamin; etinil estradiol; lemak; noduli paru.

ABSTRACT

This experiment was designed to study the effects of high level of fats and its source in the diets on the toxic or carcinogenic effects of N-nitrosodimethylamine (NDMA) and ethynyl estradiol (EE) on the lung of experimental rats.

This experiment was done in 72 rats given NDMA and/or EE and fed diets of normal fat level or 15% fats, consisted of 10% animal or vegetable fats. Rats were killed at 135 days after promotion, then lungs were put into 10% formalin. Tissue samples were stained with the method of hematoxylin and eosin (H & E).



Macroscopic examination revealed the presence of lung nodules in group of rats given NDMA, NDMA and EE or EE. Addition of 10% animal or vegetable fats in the diets were found to have a greater effects in increasing the number of lung nodules compared to groups fed normal diets. The source of fats were not have a different effects on the development of lung nodules. Microscopic examination revealed that the lung nodules were classified as adenoma which might be originated from alveolar epithelial cells.

Results indicate that diets with additional 10% animal or vegetable fats showed a greater effects on the lung carcinogenesis compared to normal diets.

Key words: *Carcinogenic, N-nitrosodiethylamin, ethynylestradiol, lung nodul*

PENDAHULUAN

Sejalan dengan pesatnya pembangunan diberbagai sektor di Indonesia, terdapat juga kecenderungan adanya perubahan dalam berbagai aspek kehidupan masyarakat. misalnya gaya hidup, kebiasaan individu dan pola konsumsi makanan. Salah satu aspek yang banyak mendapat perhatian dari para peneliti adalah faktor diet, misalnya yang menyangkut kandungan dan sumber lemak. Pada kelompok masyarakat tertentu di Indonesia, terutama golongan menengah keatas terdapat kecenderungan untuk mengkonsumsi lebih banyak lemak asal hewani maupun nabati. Para peneliti sebelumnya (Armstrong dan Doll, 1975; Anon., 1982; Cotran *et al.*, 1989) melaporkan bahwa peningkatan konsumsi lemak sangat erat hubungannya dengan kejadian tumor atau kerusakan patologik lainnya pada berbagai jaringan, misalnya kelenjar *mammae*, hati, kolon, prostat, pembuluh darah dan jantung.

Abnormalitas tertentu pada paru dapat merupakan suatu akibat dari sejumlah faktor yang bersifat komplek dan saling menunjang, misalnya gaya hidup, kebiasaan merokok, alkoholik, pemakaian obat-obatan tertentu, diet dan lingkungan yang tercemar limbah industri. Walaupun hubungan antara kandungan dan jenis asam lemak dalam diet terhadap kejadian tumor hati telah dilaporkan oleh McCay *et al.* (1980), pengaruh lemak terhadap kejadian tumor saluran pernapasan belum diketahui secara pasti.

Kenyataan lain yang ditemukan di negara kita adalah pemakaian hormon estrogen sintetik sebagai pil pencegah kehamilan ataupun suatu upaya pengobatan pada individu yang mengalami gangguan keseimbangan hormonal. Keadaan ini juga dapat mendukung terjadinya tumor pada paru oleh karena beberapa golongan estrogen sintetik, misalnya etinil estradiol (EE) telah dilaporkan sebagai promotor tumor hati (Cameron *et al.*, 1982; Yager *et al.*, 1984).

Mekanisme pembentukan tumor pada manusia atau hewan meliputi banyak tahapan, yang terdiri dari inisiasi, promosi dan progresi (Scherer, 1984). Pada hewan percobaan, proses karsinogenesis buatan biasanya meliputi inisiasi dan promosi (Goldsworthy *et al.*, 1986), yang dikenal sebagai model karsinogenesis dua tahap (Farber dan Sarma, 1987). Model ini telah digunakan secara luas untuk uji karsinogenesis hati, namun untuk uji karsinogenesis paru belum banyak dilaporkan. Perkembangan dari stadia karsinogenesis tersebut dapat dipantau dengan menganalisis lesi preneoplastik yang timbul pada stadium inisiasi dan tumbuh lebih lanjut pada stadium promosi dan progresi. Sejumlah lesi preneoplastik akan berkembang secara bertahap menjadi noduli, adenoma dan karsinoma (Farber dan Sarma, 1987).

N-Nitrosodimetilamin (NDMA) adalah suatu substansi hasil pencemaran lingkungan yang bersifat karsinogenik dan mutagenik (Schmahl dan Habs, 1980; Guttenplan, 1989) pada

berbagai hewan percobaan. Substansi ini tersebar luas di lingkungan, terutama dalam bahan makanan dan minuman (Ikins *et al.*, 1989) ataupun lingkungan industri (Rounbehler *et al.*, 1980).

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh diet berkadar lemak tinggi dan sumber lemak dalam pakan terhadap efek toksik ataupun karsinogenik inisiator NDMA dan promotor EE pada paru tikus percobaan.

METODOLOGI

Bahan. Penelitian ini menggunakan tikus betina jenis Wistar yang baru disapih dengan berat badan sekitar 50-75 gram dan dibeli dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM, Yogyakarta. Tikus-tikus percobaan diberi makanan BR-I buatan P.T. Japfa Comfeed Indonesia yang dimodifikasi dengan ditambah lemak sapi sebagai sumber lemak hewani dan minyak kedele sebagai sumber lemak nabati. Lemak sapi yang digunakan pada penelitian ini berasal dari pasar swalayan di Yogyakarta. Minyak kedele yang digunakan diproduksi oleh P.T. Sarpindo Soyabean Industri. Jakarta dengan nama dagang *Happy salad oil*, yang mengandung 100% minyak kedele murni. Diet normal (kontrol) mengandung lemak sekitar 5% dan diet yang dimodifikasi mengandung total lemak sebesar 15% yang berasal dari tambahan 10% lemak hewani atau nabati. Semua hewan percobaan dipelihara secara terpisah dalam kandang yang terbuat dari plastik ukuran 30 x 40 x 20 cm dengan bagian atas yang tertutup kawat beranyam dan dilengkapi dengan tempat pakan dan minum.

Bahan uji yang digunakan adalah NDMA (*Isopac*, Sigma Chemical Company, USA) sebagai inisiator dan EE (Sigma Chemical Company, USA) sebagai promotor. Bahan-bahan untuk pewarnaan hematoksilin dan eosin (H & E), meliputi formalin, alkohol, silol, parafin, zat warna hematoksilin dan eosin.

Penelitian ini menggunakan alat-alat nekropsi: *automatic tissue processor* (American Optical, USA) untuk melakukan proses dehidrasi, klearing dan *embedding* pada tahap permulaan proses pewarnaan H & E; mikrotom untuk memotong jaringan dalam ukuran beberapa mikron; mikroskop sinar (American Optical, USA) dan kamera (Asahi Pentax, Japan) untuk membuat fotografi.

Penelitian ini menggunakan tikus percobaan sejumlah 72 ekor, yang dibagi secara acak kedalam 12 kelompok (1 sampai dengan 12), masing-masing terdiri dari 6 ekor. Kelompok 1 sampai dengan (s/d) 4 diberi diet normal (kadar lemak 5%), kemudian kelompok 1 tidak diberi bahan kimiawi tertentu (kontrol normal), kelompok 2 diberi inisiator NDMA, kelompok 3 diberi NDMA dan promotor EE, kelompok 4 diberi EE; kelompok 5 s/d 8 diberi diet 15% lemak (tambahan 10% lemak hewani). Kelompok 5 tidak diberi bahan kimiawi tertentu (kontrol), kelompok 6 diberi NDMA, kelompok 7 diberi NDMA dan EE, kelompok 8 diberi EE; kelompok 9 s/d 12 diberi diet 15% lemak (tambahan 10% lemak nabati). Kelompok 9 tidak diberi bahan kimiawi tertentu (kontrol). Kelompok 10 diberi NDMA, kelompok 11 diberi NDMA dan EE dan kelompok 12 diberi EE.

Inisiator NDMA diberikan secara suntikan per intra-peritoneal (ip) pada hari ke-0, 3 dan 10 dengan dosis masing-masing 30 mg/kg berat badan (BB), 10 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB. Promotor EE diberikan pada hari ke-15 sampai hari ke-150 setelah perlakuan dengan dosis 0.01 mg/tikus/hari. Pada akhir percobaan (hari ke-150) semua tikus percobaan dibunuh dengan ether, kemudian dinekropsi untuk pemeriksaan secara patologik.

Paru dari semua tikus percobaan dimasukkan kedalam larutan formalin 10% dan setelah 24-48 jam paru tersebut diperiksa terhadap kemungkinan adanya perkembangan tumor yang berbentuk noduli. Jumlah noduli dihitung pada setiap bagian paru (kiri dan kanan) dari masing-masing tikus percobaan pada semua kelompok.

Contoh jaringan dari masing-masing bagian/lobus paru (sebanyak 5 potongan) pada setiap tikus percobaan diambil untuk diproses lebih lanjut sesuai dengan metode pewarnaan hematoxilin dan eosin.

Data yang dikumpulkan meliputi jumlah noduli pada paru bagian kiri dan kanan (lobus kranialis, medialis, kaudalis dan asesoris) setiap tikus percobaan dari semua kelompok. Di samping itu diamati juga perubahan histopatologik setiap jaringan paru pada setiap tikus percobaan.

Jumlah noduli paru pada semua kelompok tikus percobaan dianalisis dengan metode ANOVA untuk *completely randomized design 3 x 4 factorial*, kemudian diuji untuk *multiple comparison* menggunakan *Tukey's test* (Steel dan Torrie, 1980). Data tentang perubahan histopatologik jaringan paru dianalisis secara kualitatif/deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan makroskopik pada paru tikus percobaan setelah promosi selama 135 hari (sekitar 19 minggu) menunjukkan adanya noduli pada kelompok tikus yang diberi inisiator NDMA, inisiator NDMA dan promotor EE ataupun kelompok yang hanya diberi promotor EE saja. Pemeriksaan makroskopik terhadap paru tikus kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya perkembangan noduli tertentu. Secara makroskopik noduli paru terlihat berwarna kelabu-kekuningan, menonjol dari permukaan pleura viseralis dan berbatas jelas dari jaringan sekitarnya (lihat Gambar 1). Noduli tersebar secara acak pada kedua belah paru, termasuk berbagai lobus bagian kanan serta mempunyai ukuran yang bervariasi.

Berdasarkan atas karakteristik morfologik noduli dan laporan peneliti sebelumnya (Bartels, 1983), maka pembentukan noduli pada paru tikus percobaan dalam penelitian ini dapat dihubungkan dengan proses karsinogenesis akibat pemberian NDMA dan / atau EE.

Pada pemeriksaan mikroskopik, noduli terlihat sebagai kumpulan sel-sel yang berbentuk kuboid sampai bulat ataupun poligonal, yang mempunyai sitoplasma eosinofilik dan mengandung mikrovakuoli yang halus. Inti biasanya besar, bulat, oval ataupun ireguler, bersifat hiperkromatik, tunggal dan terletak dibagian sentral sel. Sejumlah mitosis juga ditemukan pada noduli paru, walaupun sel-sel penyusun noduli masih berdiferensiasi secara normal (lihat Gambar 2).

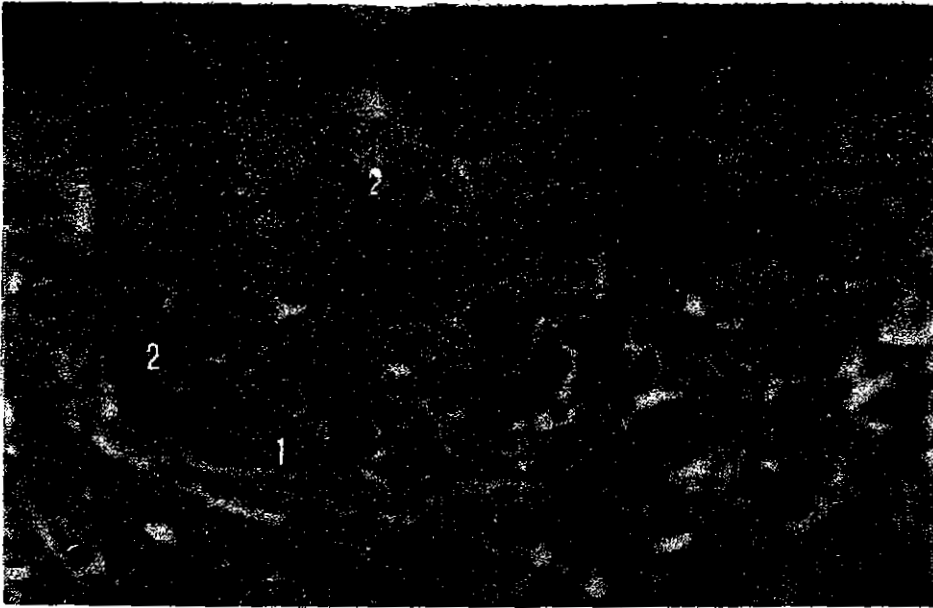
Secara mikroskopik, noduli paru bervariasi dalam ukurannya dan beberapa noduli dapat bersatu membentuk noduli yang lebih besar (lihat Gambar 3). Noduli hampir selalu tumbuh didaerah jaringan interstitial paru diantara *bronchioli* dan pembuluh darah dan diperkirakan berasal dari sel-sel epitel alveoli. Noduli ukuran kecil akan tumbuh cepat menjadi noduli ukuran besar, yang ditandai oleh adanya sejumlah mitosis pada sel-sel penyusun noduli. Noduli ukuran besar atau kecil dibatasi oleh sekumpulan sel yang mempunyai inti yang hiperkromatik dan hampir memenuhi seluruh sitoplasma. Sel-sel penyusun noduli dan sel-sel disekitarnya cenderung membelah dan menginfiltrasi jaringan sekitarnya, misalnya *bronchioli* dan pembuluh darah. Sifat infiltratif ini diperkirakan sebagai salah satu kecenderungan dari noduli untuk berkembang kearah tumor ganas, walaupun karakteristik lain dari golongan

tumor ganas belum terpenuhi. Noduli biasanya tidak menyebabkan kompresi pada jaringan/alveoli disekitarnya.

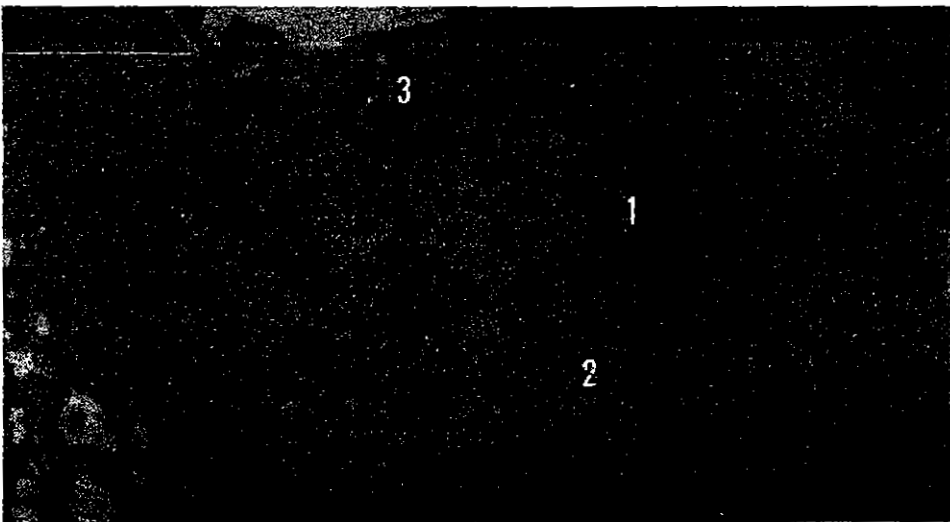
Berdasarkan atas gambaran makroskopik dan mikroskopik yang dikemukakan oleh para peneliti sebelumnya (Mac Kenzie dan Garner, 1973; Cotran *et al.*, 1989), maka noduli pada paru ini dapat digolongkan sebagai adenoma (tumor tenang) yang diperkirakan berasal dari sel-sel epitel alveoli. Adenoma pada paru tersebut memiliki karakteristik tumor tenang (Cotran *et al.*, 1989), yang meliputi pola pertumbuhan yang berbatas jelas; diferensiasi sel yang teratur; nuklei hiperkromatik dengan sejumlah mitosis; ukuran sel hampir sama; sitoplasma eosinofilik dan bervakuolik; tidak mengadakan metastatis.



Gambar 1. Fotomakroskopik paru seekor tikus yang diberi NDMA dan EE dan mendapat diet yang mengandung tambahan 10% lemak hewani, setelah 135 hari promosi. Lihat adanya tiga noduli yang tersebar pada lobus kaudalis paru bagian kanan (1).



Gambar 2. Fotomikroskopik paru seekor tikus yang diberi NDMA dan EE dan mendapat diet yang mengandung tambahan 10% lemak nabati, setelah 135 hari promosi. Lihat adanya nodulus ukuran kecil dengan sel-sel yang mempunyai inti hiperkhromatik (1) dan sejumlah mitosis (2). (H & E, 400 X).



Gambar 3. Fotomikroskopik paru seekor tikus yang diberi NDMA dan EE dan mendapat diet yang mengandung tambahan 10% lemak hewani, setelah 135 hari promosi. Lihat adanya beberapa noduli ukuran kecil (1) dan nodulus ukuran besar (2); sel-sel disekeliling noduli mulai menginfiltirasi dinding bronchiolus (3). (H & E, 100 X).

Tabel I. Jumlah noduli pada paru (X + S.E.) tikus percobaan setelah 135 hari promosi

Perlakuan	N	Kadar lemak dalam diet		
		5% (normal)	15% (LH)	15% (LN)
Kontrol	4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
NDMA	4	1,0 ± 1,1 ^a	3,5 ± 4,1 ^b	2,2 ± 2,6 ^b
NDMA + EE	4	3,5 ± 2,3 ^c	10,7 ± 2,1 ^d	6,5 ± 3,1 ^d
EE	4	1,0 ± 2,0 ^a	2,0 ± 2,8 ^b	1,5 ± 1,9

Superskrip huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0.05$). Jumlah noduli kelompok yang diberi NDMA dan EE dengan diet 15% (LN) juga berbeda secara bermakna ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok yang diberi EE dan diet 15% (LN).

NDMA: N-Nitrosodimetilamin.

EE : Etilin estradiol.

15% (LH): diet yang mengandung tambahan 10% lemak hewani.

15% (LN): diet yang mengandung tambahan 10% lemak nabati.

Walaupun pada karsinogenesis paru, noduli dapat digolongkan sebagai tumor tenang, ahli-ahli lain (Farber dan Sarma, 1987) berpendapat bahwa dalam suatu proses karsinogenesis buatan, khususnya pada hati, noduli masih merupakan suatu bentuk peralihan lesi preneoplastik dan adenoma, yang belum memiliki sifat-sifat sebagai tumor.

Jumlah noduli paru pada masing-masing kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel I. Analisis dengan metode ANOVA menunjukkan adanya efek perlakuan terhadap jumlah noduli paru pada tikus percobaan ($P < 0.01$). Analisis dengan uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($P < 0.05$) dalam jumlah noduli antara kelompok tikus yang diberi NDMA dan promotor EE dibandingkan dengan kelompok yang diberi NDMA atau EE saja.

Kelompok tikus yang tidak diberi inisiator (kontrol normal) tidak menunjukkan adanya perkembangan noduli pada paru.

Hasil penelitian ini memberi petunjuk bahwa inisiator NDMA mutlak dibutuhkan agar terjadi inisiasi dan selanjutnya pembentukan noduli pada paru. Pemberian promotor EE ternyata mempunyai efek untuk meningkatkan jumlah noduli paru yang telah terbentuk akibat inisiasi dengan NDMA. Di samping itu pada Tabel I dapat dibaca bahwa promotor EE juga mempunyai pengaruh untuk menimbulkan noduli (tumor) pada paru walaupun tidak didahului oleh pemberian inisiator. Meskipun demikian, sehubungan dengan dosis EE yang diberikan pada tikus percobaan adalah dosis yang terus menerus selama 19 minggu, maka pengaruh EE sebagai inisiator sulit untuk ditetapkan mengingat bahwa pada karsinogenesis buatan, dosis yang dibutuhkan oleh inisiator adalah dosis tunggal ataupun terbatas selama beberapa kali pemberian. Sebaliknya promotor membutuhkan dosis yang terus menerus agar timbul efek promosi pada jaringan tertentu (Farber dan Sarma, 1987). Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan tersebut, maka efek EE pada penelitian ini adalah sebagai promotor.

Pembentukan noduli paru setelah inisiasi dengan NDMA dan peningkatan jumlah noduli paru setelah promosi dengan EE merupakan suatu petunjuk adanya aktivitas

karsinogenesis oleh NDMA dan aktivitas promosi oleh EE. Walaupun EE telah dilaporkan mempunyai efek sebagai promotor tumor hati (Goldsworthy *et al.*, 1986; Rangga-Tabbu, 1995), efeknya sebagai promotor tumor paru belum dilaporkan secara pasti. Jika proses karsinogenesis paru mengikuti pola yang sama dengan karsinogenesis hati, maka lesi preneoplastik akan berkembang secara runtut menjadi noduli, adenoma dan karsinoma (Sato, 1988). Pada penelitian ini proses karsinogenesis telah berkembang sampai tahap pembentukan adenoma dan mungkin saja dapat berkembang lebih lanjut menjadi adenokarsinoma.

Analisis dengan metode ANOVA menunjukkan adanya efek kadar lemak terhadap jumlah noduli paru ($P < 0.01$). Pada Tabel I dapat dibaca bahwa jumlah noduli paru pada kelompok yang diberi 15% lemak berbeda secara bermakna ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok yang diberi diet normal. Tikus-tikus pada kelompok yang tidak diberi bahan kimia tertentu (kontrol normal) tidak menunjukkan adanya perkembangan noduli, walaupun diberi diet dengan kandungan 15% lemak. Hal ini memberi petunjuk tentang adanya efek kandungan lemak yang tinggi dalam diet terhadap perkembangan tumor paru. Walaupun pengaruh yang sama telah dilaporkan pada hati oleh peneliti sebelumnya (Rangga-Tabbu, dkk., 1993; Rangga-Tabbu, 1995), pengaruh lemak terhadap perkembangan tumor paru belum diketahui secara pasti.

Jumlah noduli paru pada kelompok yang diberi tambahan 10% lemak hewani tidak berbeda secara bermakna ($P > 0.05$) dibandingkan dengan kelompok yang diberi tambahan 10% lemak nabati, walaupun jumlah noduli pada kedua kelompok tersebut berbeda secara numerik (lihat Tabel I). Kedua sumber lemak tersebut seharusnya mempunyai efek yang berbeda terhadap perkembangan tumor paru sehubungan dengan adanya perbedaan dalam susunan asam lemak jenuh dan tidak jenuh rantai panjang pada lemak sapi dan minyak kedele (Tillman, dkk., 1991). Pada penelitian ini ternyata bahwa efek lemak hewani terhadap perkembangan tumor paru sedikit berbeda dengan efeknya terhadap perkembangan tumor hati yang dilaporkan peneliti sebelumnya (Rangga-Tabbu, 1995). Penyebab perbedaan respon tersebut tidak diketahui secara pasti.

Analisis dengan metode ANOVA menunjukkan adanya efek kombinasi kadar lemak dan perlakuan terhadap jumlah noduli paru ($P < 0.01$). Pada penelitian ini, tidak terdapat interaksi antara kadar lemak dan perlakuan terhadap jumlah noduli paru ($P > 0.01$). Pada Tabel I dapat dibaca bahwa kelompok tikus yang diberi NDMA dan EE dan mendapat diet 15% lemak mempunyai jumlah noduli yang lebih tinggi secara bermakna ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok yang sama tetapi mendapat diet normal ataupun kelompok yang diberi NDMA atau EE tetapi mendapat diet 15% lemak. Hasil penelitian ini memberi petunjuk bahwa kombinasi kadar lemak yang tinggi dalam diet dan pemberian promotor akan mempunyai efek yang lebih besar dibandingkan dengan efek masing-masing dari kadar lemak ataupun promotor.

Hasil studi epidemiologik pada kelompok masyarakat tertentu menunjukkan adanya hubungan antara konsumsi lemak hewani yang tinggi dan kejadian tumor pada organ tertentu, terutama kelenjar *mammae* dan kolon (Anon., 1982). Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya efek diet yang diberi tambahan 10% lemak hewani ataupun nabati terhadap proses karsinogenesis paru.

Mekanisme yang menyebabkan adanya pengaruh lemak berkadar tinggi dalam diet terhadap proses karsinogenesis tidak diketahui dengan pasti. Makanan yang mengandung kadar lemak tinggi diduga mempunyai efek terhadap promosi tumor, walaupun terdapat pula kemungkinan adanya efek terhadap inisiasi (Anon., 1982). Pada penelitian ini ternyata bahwa

tambahan 10% lemak dalam diet dapat meningkatkan jumlah noduli pada kelompok yang diberi inisiator dan promotor atau inisiator saja. Hal ini menunjukkan bahwa makanan dengan kadar lemak tinggi mungkin mempunyai pengaruh pada stadium inisiasi ataupun promosi dari karsinogenesis paru. Flodstrom *et al.* (1991) melaporkan bahwa diet yang bahan utamanya terdiri dari biji-bijian diduga mengandung bahan yang tidak diketahui yang mempunyai efek promosi pada tumor ataupun efek karsinogenik, yang selanjutnya dapat meningkatkan pembentukan lesi preneoplastik. Pada percobaan ini, makanan hewan uji menggunakan bahan dasar utama jagung, bungkil kedelai dan tepung ikan tanpa melalui suatu proses pemurnian terlebih dahulu. Pakan jenis ini mungkin sekali mengandung bahan-bahan karsinogenik tertentu yang dapat meningkatkan jumlah noduli paru setelah pemberian NDMA dengan/tanpa promotor. Meskipun demikian, potensi NDMA sebagai karsinogen lengkap (Berger *et al.*, 1987) dan EE sebagai promotor (Cameron *et al.*, 1982) perlu mendapat pertimbangan sehingga pembentukan noduli pada penelitian ini terutama merupakan efek kedua substansi tersebut.

Efek EE sebagai promotor tumor paru akan terlihat jika sejumlah sel dalam organ tersebut telah mengalami inisiasi akibat kontak dengan bahan-bahan tertentu, misalnya NDMA. Pengaruh yang sama juga akan dijumpai pada makanan dengan kadar lemak yang tinggi. Di samping dosis (kadar), maka lama pemberian EE ataupun jenis makanan berkadar lemak tinggi akan besar pengaruhnya terhadap perkembangan tumor paru.

Sehubungan dengan pembentukan tumor yang bersifat multifaktorial, maka aspek diet, kebiasaan individu, gaya hidup dan lingkungan dapat mendukung ataupun mengurangi resiko pembentukan tumor paru. Walaupun noduli ini mempunyai peluang yang besar untuk berkembang menjadi tumor ganas, pembuktian lebih lanjut untuk melihat nasib dari lesi tersebut perlu dilakukan dengan memperpanjang waktu observasi pada hewan percobaan, yaitu sekitar 1-2 tahun.

KESIMPULAN

Beberapa kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pemberian diet yang mengandung tambahan 10% lemak hewani atau nabati selama 150 hari lebih efektif dalam meningkatkan perkembangan noduli pada paru dibandingkan dengan diet normal (5% lemak).

Sumber lemak (hewani atau nabati) dalam diet tidak menimbulkan efek yang berbeda terhadap perkembangan noduli (tumor) paru.

Model karsinogenesis paru dua tahap menggunakan tikus percobaan yang diberi inisiator NDMA dan promotor EE dapat menghasilkan noduli (tumor) paru dalam waktu yang relatif singkat (setelah promosi selama 19 minggu).

Saran

Penelitian tentang pengaruh diet yang mengandung kadar lemak tinggi hendaklah meliputi juga pengaruh jenis asam lemak, faktor lipotropik, kandungan protein dan jumlah kalori terhadap perkembangan noduli pada paru.

Waktu promosi dengan EE dan pemberian diet berkadar lemak tinggi perlu diperpanjang untuk mengetahui perkembangan lebih lanjut dari noduli paru.

Ucapan terima kasih

Peneliti dengan ini mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Penelitian UGM atas pembiayaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada staf Laboratorium Patologi UGM atas fasilitas dan bantuan yang diberikan selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim.. (1982). *Diet, Nutrition, and Cancer*, pp. (5) 1-33. National Academy Press. Washington, D.C.. USA.
- Armstrong, B., and Doll, R., (1975). Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries with special reference to dietary practices. *Int. J. Cancer* 16: 617-630.
- Bartels, H., (1983). The human lungs. In: *Comparative Respiratory Tract Carcinogenesis, Vol. 1: Spontaneous Respiratory Tract Carcinogenesis*, ed. H.M. Reznik-Schuller, CRC Press. Inc., Boca Raton, USA., pp.19-54.
- Berger, M.R., Schmahl, D., and Zerban, H., (1987). Combination experiments with very low doses of three genotoxic N-nitrosamines with similar organotropic carcinogenicity in rats. *Carcinogenesis* 8:1635-1643.
- Cameron, R.G., Imaida, K., Tsuda, H., and Ito, N., (1982). Promotive effects of steroids and bile acids on hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine. *Cancer Res.* 42:2426-2457.
- Cotran, R.S., Kumar, V., and Robbins, S.L., (1989). *Robbins Pathologic Basis of Disease*, 4th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Montreal, Sydney, Tokyo, pp. 958-962.
- Farber, E., and Sarma, D.S.R., (1987). Hepatocarcinogenesis: A dynamic cellular perspective. *Lab. Invest.* 56:4-22.
- Flodstrom, S., Busk, L., Kronevi, T., and Ahlborg, U.G., (1991). Modulation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and phenobarbital-induced promotion of hepatocarcinogenesis in rats by the type of diet and vitamin A deficiency. *Fund. Appl. Toxicol.* 16:375-391.
- Goldsworthy, T.L., Hanigan, M.H., and Pitot, H.C., (1986). Models of hepatocarcinogenesis in the rat - contrasts and comparisons. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 17:61-89.
- Guttenplan, J.B., (1989). An important role for cytosol in the microsomal metabolism of N-nitrosodimethylamine to a mutagen : Evidence for two different mutagenic metabolites. *Cancer Lett.* 47:63-67.
- Ikins, W.G., Gray, J.L., Mandagere, A.K., Booren, A.M., Pearson, A.M., and Stachiw, M.A., (1986). N-Nitrosamine formation in fried bacon processed with liquid smoke preparations. *J. Agric. Food Chem.* 34:980-985.

- McCay, P.P., King, M., Rikans, L.E., and Pitha, J.V., (1980). Interactions between dietary fats and antioxidants on DMBA-induced mammary carcinomas and on AAF-induced hyperplastic nodules and hepatomas. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 3:451-465.
- Mc Kenzie, W.F., and Garner, F.M., (1973). Comparison of neoplasms in six sources of rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 50:1243-1257.
- Rangga-Tabbu, C., Nitisuwirjo, S., and Tato, S., (1993). Pengaruh kadar lemak dalam makanan terhadap perkembangan tumor hati pada tikus yang diberi inisiator *N*-nitrosodimethylamine dan promotor estrogen sintetik. Laporan Penelitian DPPM Ditjen Dikti Depdikbud. Hal.1-36.
- Rangga-Tabbu, C., (1995). Pengaruh sumber lemak dalam diet berkadar lemak tinggi terhadap perkembangan lesi preneoplastik pada model karsinogenesis hati dua tahap. Laporan Penelitian DPP UGM. Hal. 1-35.
- Rounbehler, D.P., Reisch, J., and Fine, D.H., (1980). Nitrosamines in new motorcars. *Food Cosmet. Toxicol.* 18:147-151.
- Sato, K., (1988). Glutathione S-transferases and hepatocarcinogenesis. *Japan. J. Cancer Res. (Gann)*, 79:556-572.
- Scherer, E., (1984). Neoplastic progression in experimental hepatocarcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 738:219-236.
- Schmahl, D., and Habs, M., (1980). Carcinogenicity of N- nitroso compounds. Species and route differences in regard to organotropism. *Oncology*, 37:237-242.
- Steel, R.G.D., and Torrie, J.H., (1980). *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd ed., McGraw-Hill, New York, pp. 137-194.
- Tillman, A.D., Hartadi, H., Reksohadiprodjo, S., Prawirokusumo, S., dan Lebdoesoekojo, S., (1991). *Ilmu Makanan Ternak Dasar*, edisi ke-5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hal. 146-160.
- Yager, J.D., Campbell, H.A., Longnecker, D.S., Roebuck, B.D., and Benoit, M.C., (1984). Enhancement of hepatocarcinogenesis in female rats by ethynyl estradiol and menstranol. *Cancer Res.* 44:3682-3691.