

EFEK SEDUHAN TEH HIJAU (*CAMELLIA SINENSIS*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PAYUDARA MENCIT YANG DIINDUKSI BENZO(α)PYRENE

¹Kirsten D. Tabaga

²Meilany F. Durry

²Carla Kairupan

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi Manado

Email: kdtabaga@yahoo.co.id

Abstract: Breast cancer is the second most common cause of deaths due to cancer in women after cervical cancer. The etiology of breast cancer includes genetic, hormonal, and environmental factors. Benzo(α)pyrene (BaP) is one of the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) compounds that has been proven to induce tumor in animal models. Green tea (*Camellia sinensis*), a kind of popular beverage, contains polyphenols which have anticarcinogenic effect. This study aimed to determine the effect of green tea on microscopic features of mice's breasts induced with BaP. This was an experimental laboratory study. Samples were 15 mice divided into 3 groups: A, B, and C. Group A (negative control) mice received no treatment for 28 days. Group B (treatment 1), mice's breasts were induced with BaP 0.3 mg/head/day subcutaneously for 14 days. Group C (treatment 2), mice's breasts were induced with BaP 0,3 mg/head/day subcutaneously for 14 days then those mice were given green tea 0.24 ml/head/day for the next 14 days. All mice were terminated on day 29. The microscopic results were as follow: Group A had normal microscopic features of breast tissues; Group B showed PMN cells, thickening of cuboidal epithelial cell layers lining the lactiferous ducts (more than 4 layers) as well as cells with coarse chromatin. Group C had PMN cells, 2-3 layers of cuboidal epithelial cells lining the lactiferous ducts as well as cells with coarse chromatin. **Conclusion:** Mice induced with benzo(α)pyrene followed by administration of green tea showed fewer layers of cuboidal epithelial cells lining the lactiferous ducts than the others without administration of green tea.

Keywords: benzo(α)pyrene, green tea, hyperplasia, breast

Abstrak: Kanker payudara merupakan penyebab kematian kedua pada perempuan setelah kanker serviks. Penyebab kanker payudara meliputi faktor genetik, hormonal, dan lingkungan. *Benzo(α)pyrene* (BaP) ialah salah satu seyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yang telah terbukti dapat menyebabkan tumor pada hewan percobaan. Teh hijau (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu minuman yang mengandung polifenol dengan sifat antikarsinogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek seduhan teh hijau terhadap gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi BaP. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik. Sampel 15 ekor mencit yang dibagi dalam 3 kelompok: A. B. Dan C. Kelompok A (kontrol negatif), mencit tidak diberi perlakuan selama 28 hari. Kelompok B (perlakuan 1), payudara mencit diinduksi BaP 0,3 mg/ekor/hari secara subkutan selama 14 hari. Kelompok C (perlakuan 2), payudara mencit diinduksi BaP 0,3 mg/ekor/hari secara subkutan selama 14 hari kemudian mencit diberikan seduhan teh hijau 0,24 ml/ekor/hari selama 14 hari (hari ke-15 sampai 28). Semua mencit diterminasi pada hari ke-29. Hasil pemeriksaan mikroskopik ialah sebagai berikut: Pada kelompok A didapatkan gambaran mikroskopik jaringan payudara mencit yang normal; Pada kelompok B didapatkan adanya sel-sel PMN, penebalan lapisan sel epitel kuboid yang melapisi duktus laktiferi (>4 lapis), serta sel-sel dengan kromatin inti kasar. Pada kelompok C didapatkan adanya sel-sel PMN, 2-3 lapis sel epitel kuboid yang melapisi duktus laktiferi serta sel-sel dengan kromatin inti kasar. **Simpuln:** Mencit yang diinduksi dengan *benzo(α)pyrene* diikuti pemberian seduhan teh hijau memperlihatkan lapisan epitel kuboid dari duktus laktiferi yang lebih sedikit dibandingkan mencit tanpa pemberian teh hijau.

Kata kunci: *Benzo(α)pyrene*, teh hijau, payudara, hiperplasia

Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering pada perempuan di negara maju maupun negara berkembang. Satu dari sepuluh kasus kanker baru yang didiagnosa di seluruh dunia adalah kanker payudara perempuan. Kanker payudara juga merupakan penyebab kematian ke-2 pada perempuan setelah kanker leher rahim dan kanker yang kedua paling sering terjadi pada laki-laki dan perempuan setelah kanker paru. Berdasarkan data dari American Cancer Society, diperkirakan 1,3 juta wanita di dunia terdiagnosis menderita kanker payudara dan kurang lebih 435.000 wanita meninggal karena penyakit ini setiap tahunnya. Berdasarkan data dari Global burden of cancer (Globocan), di Indonesia kanker payudara merupakan kanker terbanyak pada perempuan dengan angka kejadian 26 per 100.000 perempuan diikuti kanker serviks dengan angka kejadian 16 per 100.000 perempuan.¹⁻³

Penyebab kanker payudara adalah multifaktorial yang meliputi faktor reproduksi dan ketidakseimbangan hormon, genetik, nutrisi, konsumsi alkohol, merokok dan paparan kumulatif dalam jangka waktu lama terhadap kontaminan seperti heterosiklik amina maupun pestisida. *Benzo(a)pyrene* telah diidentifikasi sebagai golongan senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yang memiliki sifat karsinogenik tinggi. Secara *in vivo*, *benzo(a)pyrene* yang diberikan lewat makanan, pernapasan, maupun kontak pada permukaan kulit telah terbukti dapat menyebabkan tumor pada setiap hewan model percobaan.⁴

Teh hijau merupakan salah satu minuman yang populer di dunia. Beberapa tahun terakhir teh hijau mendapat banyak perhatian berkaitan dengan sifat potensialnya sebagai antikanker. Teh hijau diyakini dapat mencegah dan menurunkan resiko terjadinya kanker. Populasi yang mengonsumsi teh hijau secara teratur seperti di Shizuoka Jepang (tempat teh hijau diproduksi dan dikonsumsi) memiliki tingkat mortalitas yang lebih rendah akibat kanker usus, paru, dan hepar. Pengaruh teh

hijau terhadap kanker ini diketahui terutama karena disebabkan oleh adanya kandungan polifenol teh.⁵

Adanya fakta mengenai khasiat teh sebagai antikanker mendorong peneliti untuk mengetahui gambaran histopatologi payudara mencit yang dipapar dengan *benzo(a)pyrene* dan diberikan seduhan teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam kurun waktu dan dosis tertentu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Februari 2015 di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. Subjek penelitian yang digunakan adalah 15 ekor mencit betina berusia sekitar tiga bulan dengan berat 20-25 gr.

Dalam satu hari orang dewasa rata-rata mengonsumsi tiga cangkir atau 480 ml seduhan teh hijau (mengandung 6 gr teh hijau kering). Berat rata-rata mencit ialah 25 gr. Berat rata-rata orang dewasa ialah 50 kg (50.000 gr). Satu kantong teh hijau celup berisi 2 gr bubuk teh hijau. Jadi, seduhan teh hijau yang diberikan pada mencit ialah 0,24 ml/hari. Seduhan teh hijau dibuat dengan cara menyeduh satu kantong teh hijau dengan 160 ml air 70°C selama 5 menit.

Hewan uji terdiri dari 15 ekor mencit yang dibagi dalam 3 kelompok. Semua mencit diberi makan pelet standar setiap hari selama pegujian. Ketiga kelompok tersebut ialah:

1. Kelompok A, sebagai kelompok kontrol negatif, terdiri dari 5 ekor mencit yang tidak diberi perlakuan.
2. Kelompok B, sebagai kelompok perlakuan 1, terdiri dari 5 ekor mencit yang diberikan larutan *benzo(a)pyrene* dengan dosis tunggal 0,3 mg/25 grBB/hari secara subkutan di daerah payudara mencit selama 14 hari (hari ke-1 sampai 14).
3. Kelompok C, sebagai kelompok perlakuan 2, terdiri dari 5 ekor mencit

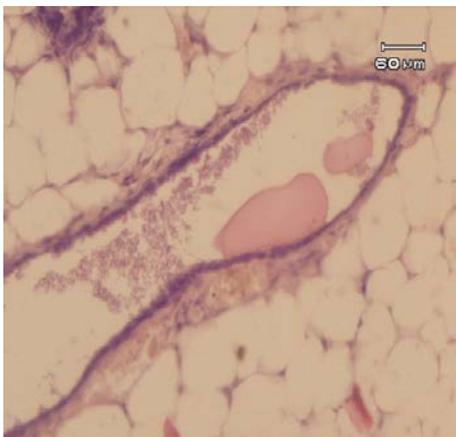
yang diberikan larutan *benzo(a)pyrene* dengan dosis tunggal 0,3 mg/25 grBB/hari secara subkutan di daerah payudara mencit, kemudian diberikan seduhan teh hijau dengan dosis tunggal 0,24 ml/25 grBB/hari selama 14 hari (hari ke-15 sampai 28).

Pada hari ke-29 mencit kelompok A, B, dan C diterminasi dan dibedah untuk diambil jaringan payudaranya untuk pemeriksaan histopatologik.

HASIL PENELITIAN

Kelompok A

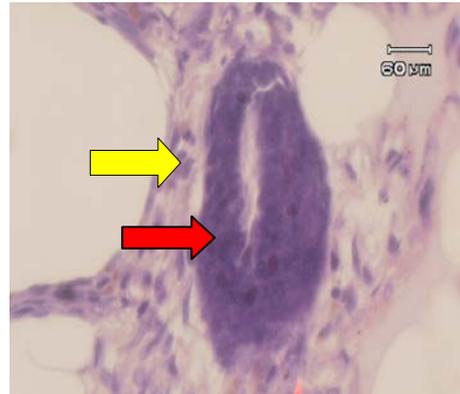
Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok A sesuai dengan gambaran histologik normal payudara mencit normal, berupa duktus laktiferi yang dilapisi 1-2 lapis epitel kuboid atau epitel kolumar rendah, jaringan ikat longgar dan jaringan adiposa yang normal (Gambar 1).



Gambar 1. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok A. Tampak duktus laktiferi yang dilapisi selapis epitel kuboid jaringan ikat longgar, dan jaringan adipose (pembesaran 100 x).

Kelompok B

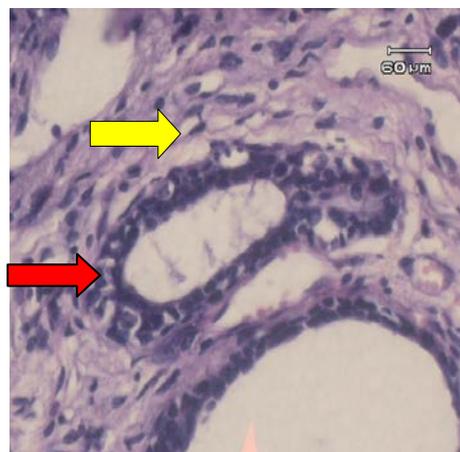
Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok B menunjukkan adanya hiperplasia sel epitel kuboid pada duktus laktiferi (>4 lapis sel). Sel-sel epitel kuboid memiliki kromatin inti kasar. Tampak pula dan sel-sel radang PMN pada jaringan ikat longgar (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok B. Tampak sel-sel radang PMN pada jaringan ikat (panah kuning), kromatin inti kasar, dan hiperplasia sel epitel kuboid (>4 lapis) yang mengelilingi duktus laktiferi (panah merah) (pembesaran 400 x).

Kelompok C

Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok C menunjukkan adanya sel-sel radang PMN pada jaringan ikat longgar dan hiperplasia sel epitel kuboid dengan kromatin inti kasar. Jika dibandingkan dengan gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok B, maka dapat dilihat bahwa hiperplasia epitel kuboid pada kelompok C ini lebih sedikit (2-3 lapis sel) dari yang terlihat pada kelompok B (>4 lapis sel) (Gambar 3).



Gambar 3. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok C. Tampak sel radang PMN (panah kuning) dan hiperplasia epitel kuboid

dengan kromatin inti kasar (panah merah) (pembesaran 400 x).

BAHASAN

Teh hijau merupakan minuman yang populer di dunia. Salah satu manfaat teh hijau untuk kesehatan adalah dengan mencegah kanker. Peranan teh hijau sebagai kemopreventif kanker ialah dengan mencegah reaksi reduksi-oksidasi (redoks), memicu apoptosis, mencegah hiperproliferasi, detoksifikasi karsinogen, dan mencegah signaling untuk hiperproliferasi sel.¹⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan khasiat teh hijau sebagai antikanker payudara pada mencit yang diinduksi dengan *benzo(α)pyrene*.

Pada penelitian yang dilakukan ini ditemukan bahwa secara mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(α)pyrene* (kelompok B dan C) menunjukkan hiperplasia sel epitel kuboid duktus laktiferi. Secara normal duktus laktiferi dilapisi satu sampai dua lapis sel epitel kuboid, namun pada mencit-mencit kelompok ini ketebalan dinding duktus bertambah hingga lebih dari empat lapis sel epitel kuboid. Kemungkinan besar disebabkan oleh molekul Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yaitu *benzo(α)pyrene* yang dapat dengan mudah menyisip pada untaian DNA dan mengakibatkan kerusakan dan gangguan fungsi DNA. Apabila kerusakan ini tidak dapat diperbaiki dalam sel, maka jaringan setempat pada tingkat gen akan kehilangan kendali normal atas pertumbuhannya. Pada gambaran mikroskopik juga tampak sel-sel radang yang dapat terjadi sebagai respon tubuh terhadap iritasi yang disebabkan oleh *benzo(α)pyrene* yang disuntikan subkutan di daerah payudara mencit.⁸

Pemberian seduhan teh hijau 0,24 ml/ekor/hari pada mencit-mencit yang juga diinduksi *benzo(α)pyrene* 0,3 mg/25 grBB/hari secara subkutan di daerah payudara selama 14 hari (kelompok C) dapat mengurangi hiperplasia sel epitel kuboid duktus laktiferi. Pada gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok C

ini, tampak lapisan dinding duktus lebih tipis (2-3 lapis sel epitel kuboid) dibandingkan dengan kelompok B. Hal ini diduga karena peran teh hijau yang mengandung polifenol katekin. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) merupakan jenis katekin yang paling banyak ditemukan dalam teh hijau. EGCG dapat menyebabkan apoptosis dan menghentikan siklus sel pada sel yang telah mengalami kerusakan DNA seperti sel kanker serta mencegah *cell signaling* untuk hiperproliferasi sel.⁹⁻¹¹

Peran EGCG dalam menyebabkan apoptosis antara lain melalui tahap kondensasi kromatin nukleus, aktivasi enzim caspase-3 yang merupakan suatu protease yang dapat memecah protein hingga menyebabkan fragmentasi DNA, dan depolarisasi membran mitokondria sehingga dapat melepaskan sitokrom C ke sitosol. Sitokrom C ini akan membentuk ikatan dengan protein sitosol yang dapat mengaktifasi caspase yang menyebabkan apoptosis. EGCG juga dapat mencegah *cell signaling* untuk hiperproliferasi sel yang mengalami kerusakan DNA dengan cara mencegah aktivasi *NF-κB* pada sel kanker, mencegah aktivasi protein-1 yang berlebihan, serta mencegah ekspresi *epidermal growth factor receptor* (EGFR) berlebihan yang dapat menghasilkan fenotip neoplastik pada sel tumor. EGCG juga dapat mencegah jalur transduksi *insulin-like growth factor* yang berperan dalam aktivasi sintesis DNA dan pembelahan sel sehingga pembelahan sel berhenti.⁹⁻¹¹

EGCG dalam teh hijau dapat mencegah hiperproliferasi sel dengan menghentikan proses pembelahan sel melalui penghambatan sintesis *enzyme cyclin-dependent kinase* sehingga proses G1 sel akan terganggu. Selain itu, EGCG juga akan mengaktifkan p21 dan p27 dan mengurangi sintesis cyclin D. Protein21 akan membentuk ikatan dengan cdk2 sehingga cdk2 tidak dapat berikatan dengan cyclin E pada phase G1. Hal ini akan menyebabkan sel gagal memasuki fase S

dan otomatis gagal mencapai fase mitosis atau pembelahan.⁹⁻¹¹

Berdasarkan penelitian yang dilakukan ini, jika dilihat dari gambaran mikroskopik, hiperplasia sel epitel kuboid tubulus laktiferi payudara mencit pada kelompok C lebih sedikit dari kelompok B. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian seduhan teh hijau dapat mengurangi hiperplasia dari sel epitel tubulus laktiferi payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene*.

SIMPULAN

Gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* bersamaan dengan pemberian seduhan teh hijau menunjukkan lapisan sel epitel kuboid yang memiliki kromatin inti kasar pada dinding duktus laktiferi menjadi lebih tipis dibandingkan mencit yang tidak diberikan seduhan teh hijau.

SARAN

Pada penelitian lanjut perlu ditambahkan waktu perlakuan untuk mendapatkan gambaran mikroskopik kanker payudara dan perlu ditambahkan kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat untuk mendapatkan dosis terbaik seduhan teh hijau.

DAFTAR PUSTAKA

1. Li IC, editors. Breast cancer epidemiology. New York: Springer; 2009.
2. Ambarwati T. Hubungan pengetahuan sadari dengan minat deteksi kanker payudara pada remaja putri kelas XI di SMAN I Karangdowo Klaten. *J Ind Midwif Stud*. 2014;2(2);16-21.
3. Oktavianisya N. Pengaruh penggunaan alat kontrasepsi hormonal terhadap kejadian kanker payudara di RSD dr. Soebandi Jember [Skripsi]. Jember: Universitas Jember, 2013.
4. Sherly, Liang S, Nafie NL. Studi analisis kandungan *benzo(a)pyrene* dalam daging olahan dengan metode kromatografi gas [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanudin, 2014.
5. Pramushinta AA. Pengaruh pemberian teh hijau terhadap kadar enzim alkali phosphate serum tikus wistar yang diberi kloramfenikol [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro, 2008.
6. Parwata OA, Sukardiman, Widhiartini A. Isolasi dan aktivitas antikanker pinostrobin dari temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) terhadap fibrosarkoma mencit hasil induksi *benzo(a)pyrene* [Skripsi]. Bali: Universitas Udayana, 2014.
7. Desvina ML. Perbandingan kadar polifenol seduhan teh hijau pada berbagai merek teh hijau [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro, 2008.
8. Mais D. Studi *benzo(a)pyrene* - hemoglobin adduct pada polisi lalu lintas dan pasien kanker paru yang terpapar Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia, 2008.
9. Nagma K, Afaq F, Saleem M, Ahmad N, Muchtar H. Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate. *American Association for cancer research*. 2006;66(5):2500-5.
10. Devi CI, Wahyuniar IA. Peranan teh hijau sebagai pencegah kanker. *J Med Udayana* [online]. 2013. [cited 2014 Nov 10]. Available from: unud.ac.id.
11. Nagma K, Afaq F, Mukhtar H. Apoptosis by Dietary Factors: the suicide solution for delaying cancer growth. *American Association for Cancer Research*. 2007;28(2):233-9.
12. Eroschenko VP. Atlas Histologi di Fiore (11th ed.). Jakarta: ECG, 2011; p. 483-500.
13. Price AS, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses Penyakit (6th ed.). Jakarta: ECG, 2012; p.1303-4.
14. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins Basic Pathology (9th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. Hal. 709-13.