

**STUDI *BENZO[a]PYRENE* - HEMOGLOBIN ADDUCT
PADA POLISI LALULINTAS DAN PASIEN KANKER PARU
YANG TERPAPAR POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON (PAH)**

DEWI MAIS

0303030177



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN KIMIA

DEPOK

2008

**STUDI *BENZO*[a]*PYRENE* - HEMOGLOBIN *ADDUCT*
PADA POLISI LALULINTAS DAN PASIEN KANKER PARU
YANG TERPAPAR POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON (PAH)**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains**

DEWI MAIS

0303030177



2008

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI : STUDI *BENZO[a]PYRENE - HEMOGLOBIN ADDUCT*
POLISI LALULINTAS DAN PASIEN KANKER PARU YANG
TERPAPAR POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON
(PAH)

NAMA : DEWI MAIS

NPM : 0303030177

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008

Dr. rer. nat. Budiawan
PEMBIMBING I

Prof. dr. Tjandra Yoga Aditama, Sp.P(K)
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana :

Penguji I :

Penguji II :

Penguji III :



Skripsi ini penulis persembahkan untuk
Ibunda tercinta Yenny Engelen & Ayahanda tersayang Ir. Denny Mais Arc.,
dan *My Dear Hubby* Yoga Hary Dewanto.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Pengasih atas segala berkah dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat selesai pada waktunya.

Penulis menghaturkan terima kasih kepada Bapak Dr. rer. nat. Budiawan selaku Pembimbing I dan Bapak Dr. Tjandra Yoga Aditama, Sp.P(K) selaku Pembimbing II, yang dengan sabar membimbing, memberi saran dan segala bantuan selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini. Penulis juga berterima kasih kepada Bapak Dr. M. Ridla Bakri selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI, dan Ibu Dra. Tresye Utari selaku Pembimbing Akademik serta Koordinator Penelitian, serta seluruh staf pengajar Departemen Kimia FMIPA UI yang selalu tulus dalam memberi bekal ilmu pada penulis.

Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada :

1. Bapak Drs. Djoko Susilo, S.H, MSi selaku Direktur Direktorat Lalu Lintas Polda Metro Jaya, Bapak Supriyanto sebagai KaBag. Ren. Min.Ditlantas, Bapak Purwanto sebagai KaBag. Min. Ops.Ditlantas, dan Bapak Sapoewanto selaku Ka.Staff Gatur Ditlantas Polres Jaksel, serta kepada seluruh polisi lalulintas yang terkait dan yang bersedia untuk membantu penulis dalam melaksanakan penelitian ini.
2. Ibu Dr. Lia Gardenia P., Sp.P(K) selaku Direktur Umum, SDM & Pendidikan RSUP Persahabatan dan kepada Ibu Dr. Priyanti Z., SpP(K)

selaku Ketua Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – RSUP Persahabatan.

3. Bapak DR. Dr Wiwien Heru Wiyono, SpP(K) selaku Ketua Program Studi Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FK-UI, Ibu Dr. Elisna Syahrudin, SpP(K) selaku Koordinator Penelitian Departemen Pulmonologi FK-UI, serta Dr. Rita dan Dr. Helario dari Divisi Diklit RSUP Persahabatan.
4. Dr. Ratna, Dr. Ratih, Dr.Haris, serta seluruh dokter, suster dan para staf di Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, Instalasi Rawat Inap, dan bagian Diklit RS Persahabatan yang telah membantu.
5. Bapak Hayun, MSi selaku Kepala Lab. Instrumen Farmasi UI dan seluruh staf Lab. Farmasi UI, serta rekan Farmasi seperti Tesha dan Vina atas bantuannya selama ini.
6. Kakakku Mbak Neera Khaerani yang tiada duanya dan selalu satu perjuangan, terimakasih atas bimbingan - bimbingan teknis dan non-teknis yang selalu dan akan selalu berguna.
7. Mbak Emma, Mbak Tri, Mba Ina, Mba Cucu, Pak Hedi, dan Babe (Pak Tris) serta Pak Amin atas bantuannya dalam mempersiapkan sarana dan prasarana penelitian.
8. Abang Hydramsah atas bantuannya selama sampling, selama di kos-an, dan atas semua semangat morilnya yang sangat mendukung.
9. Teman-teman yang selalu ada dan saling memberi semangat saat penulis berjuang di gedung jurusan Kimia: Novena, Dina Aulia, Riki, Farid, Hudan,

Santi, Ridwan, Ela, Andika, Krisnu, Ali, Redy, Andy. S, dan seluruh rekan Kimia 2003 dan 2004, serta lainnya yang tidak dapat disebut satu-satu namanya.

10. My only best friends Vera, Anggrit, Yusi, Arin, Tya, Andi(Adom) dan Bayu, serta Dr. Cicie dan Citra, S.T yang tidak pernah kurang dalam memberi dukungan serta persahabatan yang takkan pernah berakhir, amiin!
11. Papi dan Mami tercinta, Kak Delya dan Kak Dedi tersayang, Tante Ade dan Opa Husin, dan seluruh keluarga atas dukungan, sandaran dan kasih sayang yang diberikan selama ini. Serta kepada si Putih, si Hitam dan dua anaknya yang baru lahir, serta si Belang yang selalu menemani saat penulis kehabisan hiburan.
12. My beloved 'Dark Angel', My 'more than' handsome hubby, My 'super genius' rival, the one and only soulmate given by God for me (amiin), Yoga Hary Dewanto. For accepting all of my lovely slaps because of jealousies, hehehe.. And for his 'endless' motivation that make me finishing this step as one of the other step in our life.

Penulis menyadari skripsi ini masih banyak kekurangannya. Semoga dengan apa yang penulis sampaikan dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis sendiri di kemudian hari.

Penulis

2008



STUDI *BENZO[a]PYRENE* - HEMOGLOBIN ADDUCT PADA POLISI LALULINTAS DAN PASIEN KANKER PARU YANG TERPAPAR POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON (PAH)

ABSTRAK

Tingkat paparan *benzo[a]pyrene* (BaP) salah satu senyawa PAH pada polusi udara dapat dihitung dengan menggunakan metode Hemoglobin-*Adduct*. Responden terpilih ialah polantas (individu berisiko tinggi), polisi administrasi (individu berisiko rendah), dan pasien kanker (individu yang diduga telah mengalami paparan). Produk hidrolisis asam yang dilakukan pada globin (sampel darah) ialah hidrolisat BaP-*adduct* berupa senyawa *benzo[a]pyrene tetrahydrotetrol* (BaPT), dan dianalisis dengan HPLC-Fluoresensi fasa terbalik kolom RP-18, eluen metanol-air (55:45). Hasil uji validasi metode ialah batas deteksi (LOD) dalam penelitian ini mencapai 0,31 pg/mg globin dan batas kuantifikasi (LOQ) ialah 1,03 pg/mg globin.

Konsentrasi *adduct* BaPT pada polantas berkisar 1,36 – 7,38 pg/mg globin, pada polisi bagian administratif berkisar 0,01 – 1,85 pg /mg globin, sedang *adduct* pada pasien kanker paru berkisar 2,58 – 50,94 pg /mg globin.

Disimpulkan bahwa terdapat peranan paparan BaP dalam polusi udara terhadap tingginya tingkat konsentrasi B[a]P Hb-*Adduct* yang diperoleh.

Kata kunci: *Benzo[a]pyrene tetrahydrotetrol*, Hb- *Adduct*, polisi, pasien kanker
xi + 88 hlm; gbr; tab; Imp.

Bibliografi: 27 (1992-2007)

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	i
Abstrak	v
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Daftar Lampiran	xii
BAB I	
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	5
1.2.1 Tujuan Umum	5
1.2.2 Tujuan Khusus	6
1.3 Hipotesis	6
BAB II	
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Hemoglobin	7
2.1.1 Hemoglobin- <i>Adduct</i>	9
2.2 Pemantauan Biologis (Biomonitoring)	11
2.3 Biomarker	13
2.4 Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)	14
2.4.1 Sumber PAH dan produksi di lingkungan	15
2.4.2 Penggunaan PAH di lingkungan	16

2.4.3	Efek PAH terhadap kesehatan manusia	16
2.4.4	Efek PAH terhadap lingkungan	17
2.5	<i>Benzo[a]pyrene</i> (BaP)	18
2.5.1	Sifat fisik dan kimia <i>benzo[a]pyrene</i>	19
2.5.2	Sumber <i>benzo[a]pyrene</i>	20
2.5.3	Toksikokinetika <i>benzo[a]pyrene</i>	20
2.5.3.1	Absorpsi	20
2.5.3.2	Distribusi	21
2.5.3.3	Metabolisme	21
2.5.3.4	Ekskresi	23
2.5.4	Efek terhadap kesehatan	24
2.5.5	Efek terhadap lingkungan	24
2.6	Kanker	25
2.6.1	Kanker Paru-paru	26
BAB III	METODELOGI PENELITIAN	29
3.1	Peralatan	29
3.2	Bahan	29
3.3	Lokasi Sampling dan Penelitian	30
3.4	Cara Kerja	30
3.4.1	Pengambilan sampel	30
3.4.2	Survey individu	31
3.4.3	Verifikasi metode	31
3.4.3.1	Pembuatan larutan standar baku	32
3.4.3.2	Pencarian kondisi optimum HPLC-fd	32

3.4.3.3. Uji presisi	33
3.4.4 Pembuatan larutan NaCl 0,45 %	34
3.4.5 Pembuatan larutan 50 mM HCl dalam 2-propanol	34
3.4.6 Pembuatan larutan stok untuk hidrolisis asam	34
3.4.7 Pembuatan larutan NaOH 0,4 N	35
3.4.8 Tahapan Analisis	35
3.4.8.1 Isolasi globin dari darah	35
3.4.8.2 Analisa kemurnian protein globin	36
3.4.8.3 Hidrolisis asam globin	36
3.4.8.4 Analisis B(a)P-tetraol dengan HPLC-FD	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Pengumpulan Sampel Darah dan Analisis Responden	39
4.2 Analisis Globin dari Sampel Darah	43
4.3 Proses Pelepasan B(a)P-tetraol dari Globin	45
4.4 Verifikasi Metode Analisis B(a)P-tetraol Menggunakan HPLC Fluoresensi	46
4.5 Analisis B(a)P-tetraol dari <i>Hemoglobin Adduct</i>	48
4.6 Hasil Analisis <i>Benzo[a]pyrene</i> -tetraol dan Faktor Lain yang Mempengaruhi	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	63
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	65

DAFTAR GAMBAR

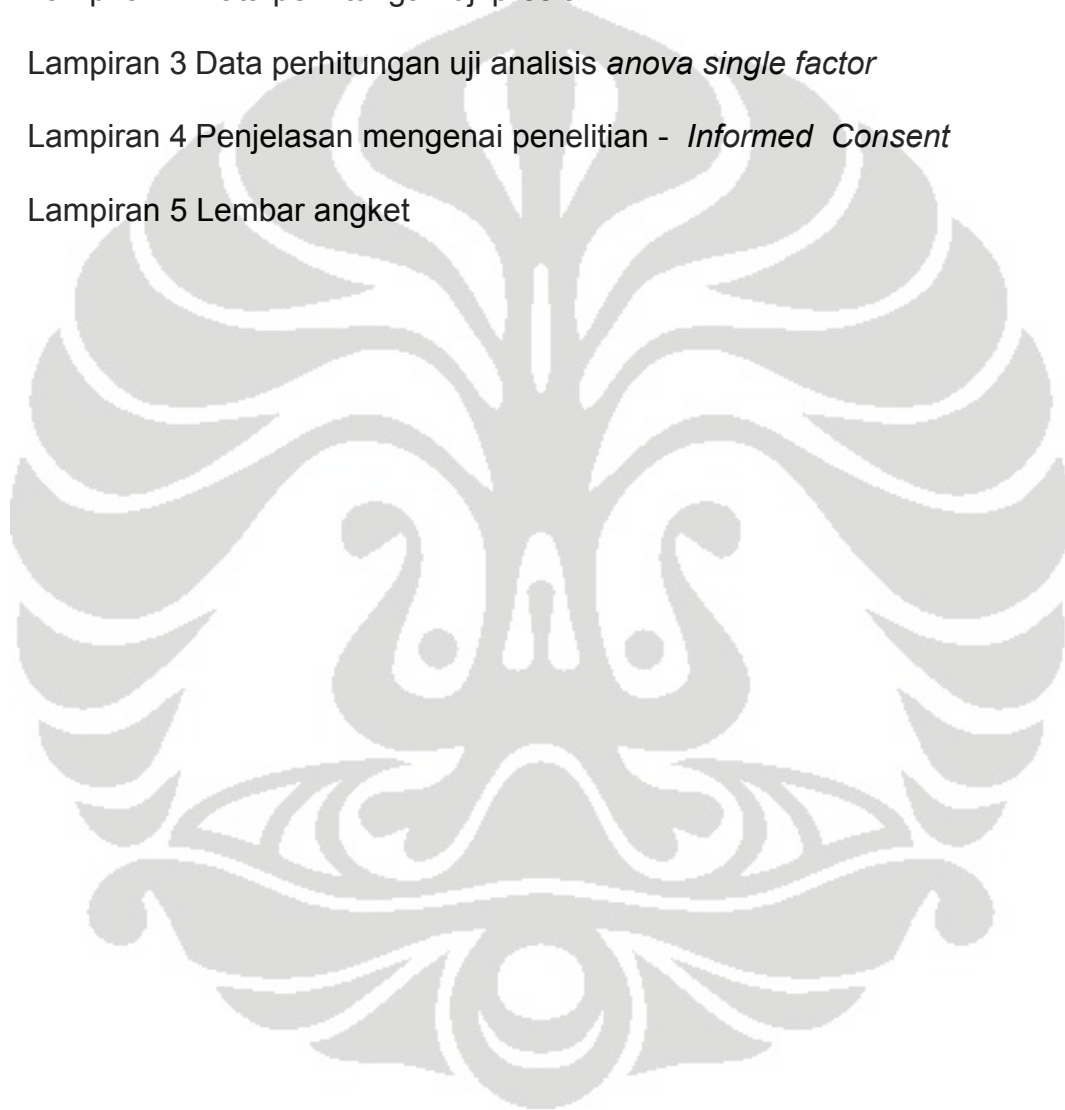
Gambar 1 Emisi buangan hidrokarbon dari kendaraan bermotor	2
Gambar 2 Struktur hemoglobin	7
Gambar 3 Struktur kuarterner dari hemoglobin	10
Gambar 4 Proses metabolisme B[a]P	22
Gambar 5 Transformasi B[a]P menjadi trans/anti B[a]P-tetraol	23
Gambar 6 Proses karsinogenesis	26
Gambar 7 Skema rancangan penelitian B[a]P Hb- <i>Adduct</i>	37
Gambar 8. Skema analisis BaPT dari sampel darah	38
Gambar 9 Spektrum UV globin hasil isolasi sampel	44
Gambar 10 Skema pelepasan BaPT Hb- <i>adduct</i> hasil hidrolisis asam pada globin	46
Gambar 11 Kromatogram Standar 100 ppb	47
Gambar 12 Kromatogram sampel	49
Gambar 13 Kromatogram eluen Metanol/H ₂ O (55:45)	49
Gambar 14 Konsentrasi BaPT Hb- <i>adduct</i> pada polantas	53
Gambar 15 Konsentrasi BaPT Hb- <i>adduct</i> pada polisi administrasi	55
Gambar 16 Konsentrasi BaPT Hb- <i>adduct</i> pada polisi	57
Gambar 17 Konsentrasi BaPT Hb- <i>adduct</i> pada pasien kanker paru	59
Gambar 18 Rangkuman data konsentrasi BaPT Hb- <i>adduct</i>	61

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Genotoksisitas dan Karsinogenisitas Beberapa PAH	20
Tabel 2 Kriteria responden yang dipilih	40
Tabel 3 Ringkasan Data responden yang diperoleh	42
Tabel 4 Sifat fisis dari <i>benzo[a]pyrene</i>	75
Tabel 5 Data seluruh responden dari kuosioner	76
Tabel 6 Data seluruh perolehan konsentrasi <i>adduct</i> BaPT	78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data perhitungan LOD dan LOQ	83
Lampiran 2 Data perhitungan uji presisi	84
Lampiran 3 Data perhitungan uji analisis <i>anova single factor</i>	85
Lampiran 4 Penjelasan mengenai penelitian - <i>Informed Consent</i>	86
Lampiran 5 Lembar angket	90



BAB I

PENDAHULUAN

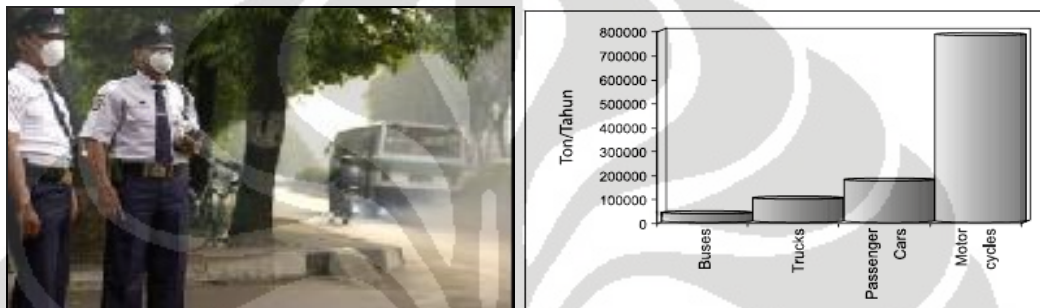
1.1. Latar Belakang

Aktivitas perkotaan yang semakin meningkat terutama pada negara-negara berkembang telah meningkatkan produk-produk pencemaran di lingkungan sekitarnya. Proses rumah tangga dan industri, serta pemilikan kendaraan bermotor yang semakin bertambah ialah sebagian dari faktor penyumbang antropogenik utama kepada polusi udara.

Di Indonesia, jumlah kendaraan bermotor telah meningkat dari \pm 12 juta pada tahun 1995 menjadi lebih dari 19 juta pada tahun 2000. Emisi senyawaan hidrokarbon dari kendaraan bermotor diketahui meningkat sebanyak 80.000 ton antara tahun 1998 dan 2000¹, dan merupakan pemasok 79% polusi udara di terutama wilayah D.K.I Jakarta sebagai ibukota. Data Badan Pengelolaan Lingkungan Hidup Daerah (BPLHD) DKI Jakarta menunjukkan jumlah hari dengan kualitas udara berkategorisasi tidak sehat, yaitu 5 hari di tahun 2004, menjadi 18 hari pada tahun 2005, dan kembali melonjak jadi 50 hari pada tahun 2006².

Inisiatif untuk melakukan studi dan tinjauan mengenai senyawaan kimia hidrokarbon yang telah diketahui secara pasti beracun, volatil serta diketahui karsinogenik pada manusia, masih dinilai kurang. Telah banyak

sebenarnya pemantauan kualitas udara di Indonesia terhadap konsentrasi beberapa parameter seperti timbal (Pb), karbon monoksida (CO), dan lainnya. Namun konsentrasi dari pencemar spesifik yang diketahui pasti karsinogenik pada manusia, seperti PAH (Polisiklik Aromatis Hidrokarbon) belum dimonitor juga di Indonesia¹.



Gambar 1. Emisi buangan hidrokarbon kendaraan bermotor (sumber: kompas.com)

Jika tidak disertai pengelolaan lalu lintas yang baik, tingkat penggunaan kendaraan bermotor yang semakin meningkat juga dapat berkontribusi terhadap tingginya tingkat pencemar pada lokasi yang tinggi tingkat kemacetannya. Jasa para pekerja sosial seperti polisi lalu lintas yang sangat dibutuhkan untuk mengatasi masalah kemacetan tersebut, ternyata tanpa disadari malah memberikan efek yang buruk pada kesehatan para pekerja tersebut. Para pekerja seperti polisi ini kemungkinan besar tidak mengetahui adanya paparan senyawa berbahaya seperti PAH melalui jalur inhalasi pada tubuhnya, sehingga kasus-kasus seperti penyakit sistim pernafasan ringan hingga penyakit kronik seperti kanker paru-paru yang diduga akibat paparan udara polusi semakin meningkat. Pada tahun 2005

menuju ke 2006, telah terjadi kenaikan sebesar 54,9 % penderita pasien kanker paru-paru yang dirawat di Instalasi Rawat Inap RSUP Persahabatan Rawa Mangun, Jakarta Timur³. *Adenocarcinoma* merupakan jenis penyakit kanker paru paling umum, yaitu sebanyak 32 % kasus di dunia. Kebanyakan jenis ini dihubungkan dengan pengaruh merokok sebagai penyebab utamanya, namun beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan terdapat faktor selain rokok yang dapat meningkatkan risiko penyakit kanker⁴.

Polisiklik Aromatis Hidrokarbon (PAH) merupakan kelompok senyawaan hidrokarbon yang umumnya teradsorpsi pada partikulat kecil padat seperti debu dan asap kendaraan terkait sifat fisiknya yang cukup volatil berupa gas dibawah 40°C. Senyawa yang paling umum dipelajari dan paling pertama diketahui bersifat karsinogenik sejak tahun 1930 oleh beberapa organisasi perlindungan lingkungan dan kesehatan sedunia, seperti *Environmental Protection Agency (EPA)*, *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)*, dan *IARC (International Agency for Research on Cancer)*, ialah *benzo[a]pyrene* atau disingkat B[a]P⁵. *Benzo[a]pyrene* ialah senyawa yang memiliki kemungkinan karsinogenik pada manusia (*probably carcinogenic to human*), sehingga termasuk kedalam Grup 2A sesuai klasifikasi oleh badan IARC⁶.

B[a]P dapat masuk melalui jalur inhalasi dan langsung terabsorpsi dan terdistribusi dalam jaringan yang kemudian mengalami metabolisme menjadi senyawa yang aktif. B[a]P terdistribusi dalam paru-paru, kulit, dan hati mengikuti periode sampai 48 jam, lalu berikatan dengan DNA, RNA, dan

protein pada jaringan berlangsung selama 6 – 48 jam setelah proses paparan. Metabolit reaktif dari B[a]P yaitu senyawa *diolepoxides* (DE), memiliki sifat elektrofil yang dapat menyerang atom nukleofilik dengan pasangan elektron bebas dan kemudian membentuk ikatan ester yang stabil pada DNA dan protein manusia. Metabolit B[a]P terbanyak yang telah ditemukan dalam tubuh manusia dan mamalia adalah senyawa BPDE atau *+(anti)r-7,t-8-dihydroxy-t-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrene*⁷.

Proses monitoring atas adanya senyawaan berbahaya didalam tubuh, terutama pada individu-individu yang berisiko tinggi terpapar sangat penting dilakukan. Teknik deteksi dini yang telah dikembangkan sejak dua dekade sebelumnya ialah penggunaan biomarker pada tubuh manusia. Biomarker atas adanya paparan senyawaan karsinogen dapat memberi estimasi adanya efek kronis (jangka panjang) seperti kanker. Karena sifat analisis yang sensitivitasnya tinggi, pembentukan makromolekuler *adduct* (*addition product*) pada populasi manusia merupakan indikator yang valid atas dosimetri molekuler⁸.

Teknik DNA *adduct* dan protein *adduct* merupakan metode terkini yang memberikan pendekatan terbaik untuk deteksi awal risiko kanker⁹. Dibanding DNA *adduct*, protein *adduct* memiliki kelebihan tersendiri. Hemoglobin dan albumin dapat menjadi indikator *adduct* yang berpotensi besar. Hemoglobin *adduct* (Hb-*Adduct*) pertama kali diusulkan oleh Ehrenberg (1974) sebagai indikator kuantitatif dari DNA atau *surrogate DNA* sebagai target *adduct*¹⁰. Hemoglobin yang berada pada sel darah merah memiliki waktu biologis yang

cukup lama dan kurang memiliki regulasi enzimatik merupakan salah satu keuntungan dalam penggunaannya sebagai biomarker *adduct*.

Pada beberapa penelitian sebelumnya, penggunaan instrumen HPLC-*Fluorescence* pada analisis Hb-*Adduct* telah memberikan hasil identifikasi dan kuantifikasi adanya paparan B[a]P yang cukup berarti dalam perkembangannya¹¹. Sumber PAH yang cukup bervariasi, adanya perbedaan metabolisme tiap tubuh manusia dan perbedaan kadar hemoglobin tiap individu ialah beberapa faktor yang dapat mengurangi potensi Hb-*Adduct* sebagai metode deteksi dini risiko kanker. Dengan modifikasi dan peningkatan efektifitas dari suatu metode pemantauan awal dan kajian risiko kesehatan terhadap suatu bahan kimia karsinogenik, diharapkan kasus risiko penyakit ringan dan kronik seperti pada sistem pernafasan pada paru-paru dapat diminimalisasi jumlahnya terutama di ibukota DKI Jakarta, Indonesia.

1.2. Tujuan Penelitian

1.2.1. Tujuan Umum

Mengkaji tingkat paparan pada masyarakat yang berisiko tinggi terpapar senyawa *Benzo[a]pyrene* dari golongan senyawa Polisiklik Aromatis Hidrokarbon (PAH), sebagai salah satu senyawa di dalam polusi udara pada daerah dengan tingkat kemacetan tinggi di daerah D.K.I Jakarta.

1.2.2. Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi adanya *Benzo[a]pyrene* atau B[a]P Hemoglobin-*Adduct* yang terdeteksi sebagai senyawa B[a]P-*tetrol* pada polisi lalu lintas, pada polisi bagian administratif, dan pada pasien kanker paru.
2. Membandingkan tingkat paparan senyawa B[a]P dan konsentrasi senyawa B[a]P-*tetrol* pada polisi lalu lintas dan polisi bagian administratif.
3. Mengidentifikasi senyawa *Benzo[a]pyrene* dari lingkungan hasil paparan polusi udara yang dapat membentuk *adduct* antara lain hemoglobin-*Adduct* yang terdeteksi sebagai B[a]P-*tetrol*

1.3. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah adanya paparan senyawa *Benzo[a]pyrene* yang terus-menerus dari polusi udara pada lingkungan akan membentuk *adduct* antara lain hemoglobin-*Adduct* yang terdeteksi sebagai B[a]P-*tetrol*.

BAB II

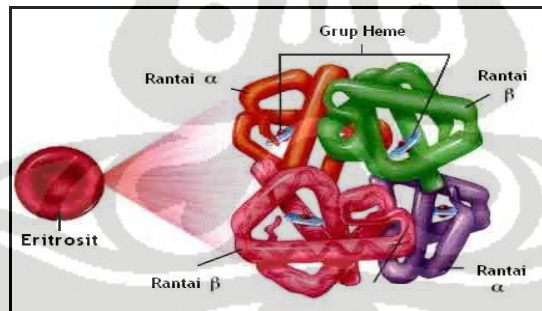
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 HEMOGLOBIN

Hemoglobin atau *Haemoglobin* (Hb atau HgB) adalah metaloprotein pengangkut oksigen yang mengandung atom besi dalam sel darah merah atau eritrosit. Molekul hemoglobin terdiri dari:

- subunit globin, suatu protein globular terdiri dari 4 rantai polipeptida.
- gugus nitrogenosa non-protein, suatu molekul cincin heterosiklik yang disebut *porfirin* dan masing-masing terikat pada satu rantai polipeptida.

Porfirin mengandung satu atom besi (Fe^{2+}) yang disebut *heme*.



Gambar 2. Struktur Hemoglobin [Sumber: <http://cancer.gov>, 2007]

Hemoglobin pada manusia dewasa tipe A dengan total berat ± 68000 dalton merupakan molekul hemoglobin yang paling umum digunakan dalam penelitian. Metaloprotein ini mengandung 4 subunit protein (tetramer) yang terdiri dari 2 subunit α dan 2 subunit β dengan 141 dan 146 residu asam

amino berturut-turut. Masing-masing subunit berikatan secara non-kovalen dan secara struktur mirip dan memiliki ukuran yang sama (± 17000 dalton).

Hemoglobin terdapat sebanyak $\pm 97\%$ dari total jumlah protein dalam satu sel eritrosit. Kandungan hemoglobin dalam manusia bergantung pada usia, jenis kelamin, dan faktor lain seperti ketinggian tempat tinggal manusia tersebut. Eritrosit merupakan salah satu komponen sel darah dengan jumlah terbanyak ($\pm 99\%$), sedangkan komponen lainnya ialah cairan plasma, trombosit dan leukosit. Eritrosit diproduksi dalam sumsum tulang dan didegradasi dalam organ hati setelah 100-120 hari. Bentuk eritrosit yang bikonkaf tipis dan datar menyebabkan molekul hemoglobin dekat dengan membrannya sehingga dapat menambah efisiensi dari pengangkutan O_2 . Eritrosit tidak memiliki nukleus dan organel-organel sel, dimana substansi tersebut dikeluarkan saat masa perkembangan. Akibatnya, dalam eritrosit yang telah matang hanya terdapat sedikit enzim yang tidak dapat diperbaharui, yaitu enzim karbonat anhidrase dan glikolitik. Enzim karbonat anhidrase penting untuk pengangkutan CO_2 . Enzim glikolitik penting untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan dalam menjalankan mekanisme transportasi aktif yang terlibat pada pemeliharaan konsentrasi ion-ion sel.

Hemoglobin memiliki fungsi utama dalam proses transportasi oksigen (O_2) dan karbon dioksida (CO_2), serta berperan menyangga asam agar kesetimbangan pH dalam darah terjaga dengan mengikat bagian ion hidrogen asam (H^+) dari asam karbonat yang terionisasi yang terbentuk dari CO_2 pada tingkat jaringan. Gugus heme (Fe^{2+}) berperan dalam mengikat O_2

secara reversibel, sehingga satu molekul hemoglobin dapat mengangkut 4 molekul O₂. Hemoglobin dapat berwarna merah seperti pada pembuluh arteri manusia akibat ikatannya dengan O₂, dan dapat berwarna kebiruan seperti pada pembuluh vena apabila mengalami deoksigenasi.

2.1.1. Hemoglobin-*Adduct*

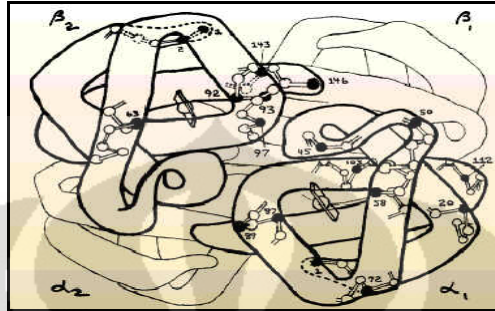
Hemoglobin-*Adduct* ialah suatu protein *adduct* yang terbentuk dari suatu proses penambahan atau adisi suatu senyawa kimia dengan hemoglobin. *Adduct* merupakan singkatan dari kata *addition product* yang berarti produk yang terbentuk akibat terjadinya adisi. Pengikatan ini menghasilkan suatu produk molekul baru yang tentunya memiliki perbedaan sifat kimia dengan hemoglobin normal.

Hemoglobin *adduct* (Hb-*Adduct*) merupakan produk adisi protein dan dapat dijadikan suatu parameter (biomarker) untuk menganalisa adanya paparan senyawa kimia dalam darah. Keuntungan penggunaan Hb-*Adduct* sebagai indikator yang berlimpah dalam pemantauan dosis internal untuk paparan dilingkungan kerja, pertama kali dicetuskan pada tahun 1976 oleh Ehrenberg dan rekan kerjanya¹¹.

Umumnya senyawaan kimia penyebab kanker (karsinogenik) bersifat elektrofilik atau cenderung menyerang atom-atom yang memiliki elektron bebas (nukleofilik), seperti pada makromolekular DNA atau protein.

Hemoglobin dapat menjebak senyawa elektrofil tersebut serta metabolit-

metabolit tubuh yang reaktif dengan cara berikatan kovalen pada gugus nukleofilik dari asam amino hemoglobin.



Gambar 3. Struktur kuartener dari hemoglobin. Protein *Adduct* akibat paparan xenobiotik umumnya terjadi pada posisi yang ditunjukkan oleh lingkaran warna hitam, antara lain atom-atom yang disebutkan di atas. [Sumber: www.epa.gov, 2007]

Adduct pada asam amino pada hemoglobin yang dapat berikatan kovalen dengan senyawa karsinogenik antara lain:

- atom oksigen dari gugus karboksil pada aspartat¹²
- atom sulfur dari sistein (pada rantai polipeptida β, posisi 93)
- atom nitrogen dari valin (khususnya pada N-terminal valin pada rantai polipeptida α dan β posisi 1)
- atom sulfur dari metionin
- gugus hidroksil dari tirosin dan serin

Adapun kelebihan-kelebihan dari penggunaan Hb-*adduct* sebagai biomarker risiko awal terjadinya kanker ialah:

- Waktu hidup eritrosit yang relatif lama (100-120 hari) yang memungkinkan akumulasi *adduct* (sesuai untuk tinjauan efek kronis)¹³

- b. Kemudahan mendapatkan hemoglobin dalam jumlah besar
- c. Kestabilan *adduct* yang tinggi dikarenakan tidak adanya mekanisme perbaikan enzimatik dari eritrosit¹³
- d. Cocok dipakai untuk analisis dosimetri (kuantitatif) dari suatu paparan senyawa kimia dalam tubuh¹⁴.
- e. Proses Hb-*Adduct* yang lebih mudah terjadi karena dekatnya jarak Hb dengan membran eritrosit akibat struktur bikonkaf pada eritrosit.
- f. Kemampuan deteksi awal (*surrogate monitor*) dari risiko mutagenitas DNA-*adduct*¹⁵ dengan efek lebih lanjut menuju karsinogenesis.

Kestabilan *adduct* yang tinggi pada Hb-*adduct* disebabkan oleh eritrosit tidak memiliki enzim-enzim yang berfungsi untuk memperbaiki asam amino yang berubah oleh proses *adduct* seperti halnya pada enzim - enzim yang bertugas memperbaiki asam nukleat yang berubah pada DNA *Adduct*¹⁶.

Metode analisis protein *adduct* dapat dilakukan dengan menggunakan HPLC detektor fluoresensi, GC dan GCMS yang cocok setelah proses derivatisasi, serta teknik degradasi Edman (valin yang teralkilasi pembentuk *adduct* dibebaskan dari protein penyusun Hb dengan suatu reagen yang selanjutnya dideteksi dengan GCMS).

2.2 PEMANTAUAN BIOLOGIS (BIOMONITORING)

Biomonitoring ialah suatu teknik ilmiah untuk mengukur risiko paparan lain dari suatu bahan kimia pada manusia atau makhluk hidup berdasarkan

pada sampling dari jaringan atau cairan tubuh individu tersebut¹⁷. Definisi lainnya ialah suatu pengukuran senyawa kimia spesifik pada jaringan manusia, yang menggambarkan jumlah senyawa tersebut yang terserap dan tertahan dalam tubuh¹⁸. Tujuan biomonitoring adalah untuk mencari tahu adanya suatu paparan, jumlah, dan batasan jumlah bahan kimia yang sudah masuk ke dalam tubuh hingga dapat menyebabkan efek yang merugikan di dalam tubuh.

Biomonitoring hanya dapat mengukur paparan senyawa kimia dan tidak dapat memberikan informasi mengenai toksisitas atau risikonya, namun merupakan pengukuran paparan yang paling tepat pada tiap individu maupun suatu populasi. Secara keseluruhan metode yang digunakan dan sumber-sumber informasi toksisitas atau resiko yang apabila digabungkan, dapat berintegrasi menjadi suatu kesatuan untuk merefleksikan paparan total yang terjadi dalam tubuh yang ingin dimonitor.

Menurut Kamrin (2004), proses biomonitoring meliputi tiga tahap, yaitu:

- a. Pemilihan siapa, kapan dan dimana monitoring akan dilakukan
- b. Pengumpulan sampel yang berupa jaringan atau cairan tubuh
- c. Penentuan bahan kimia yang hendak dipelajari atau dianalisis dari sampel

Proses biomonitoring cukup kompleks dan mahal karena menghitung kadar suatu senyawa kimia pada beberapa variabel parameter seperti umur, jenis kelamin, keadaan kesehatan tiap individu, genetis keturunan, keadaan

pencemaran lingkungan, lokasi geografik, etnis, serta faktor lainnya yang berpengaruh. Namun keuntungan dari proses biomonitoring ialah dapat memberikan gambaran berpotensi tinggi mengenai paparan individu yang telah terjadi, menilai efektifitas dari kebijakan untuk mengurangi atau mengeliminasi suatu kandungan senyawa berbahaya pada lingkungan, mengidentifikasi adanya perubahan jangka panjang pada suatu populasi, serta banyak keuntungan lainnya yang bermanfaat¹⁸.

2.3 BIOMARKER

Biologic Marker (biomarker) atau *Biological Exposure Indices* (BEI; indeks paparan biologis) ialah indikator atau parameter dari proses masuknya suatu senyawa kimia (berbahaya) yang menunjukkan adanya paparan dalam tubuh manusia atau makhluk hidup.

Biomarker terbagi atas marker dosis internal dan dosis efek biologis (BED). Marker dosis internal mengindikasikan xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh melalui paparan individu baik sebagai senyawaan kimia exogenous maupun sebagai metabolit pada sampel darah, urin, dan protein *adduct* (*hemoglobin* dan albumin). Marker BED mengindikasikan jumlah xenobiotik yang berinteraksi dengan konstituen subseluler yang diukur pada sistem biologis jaringan target yang telah mengalami perubahan (alterasi) fisiologis, biokimiawi, atau proses alterasi lainnya contohnya DNA *Adduct*¹⁸.

Dalam studi biomonitoring, penggunaan biomarker telah ditinjau secara luas baik dari sudut pandang pemantauan di lingkungan kerja (*occupational monitoring*) maupun dari sudut epidemiologi. Biomarker pada epidemiologi penyakit-penyakit kronis ternyata dapat membantu investigasi efek yang terjadi pada kesehatan manusia setelah adanya paparan, yaitu dengan menilai adanya paparan, pengetahuan mengenai mekanisme yang terjadi misalnya dengan mengukur biomarker intermediet, dan dengan menerima hasil investigasi kepekaan tiap individu (*biomarker of susceptibility*) misalnya metabolisme, *adduct* yang terjadi, dan respon patologikal tiap individu⁸. Adapun biomarker umum yang dapat dianalisis antara lain sampel darah atau serum, urin, ASI, saliva atau dahak (*sputum*), semen (mani), kuku, jaringan adiposa (lemak), epitel *cervix* (rahim), dan jaringan tubuh lainnya.

Kegunaan biomarker ialah sebagai bukti adanya paparan yang telah terjadi dan sebagai prediksi kejadian di masa yang akan datang. Biomarker yang dipilih bergantung pada beberapa faktor, antara lain sumber paparan, jalur paparan, jangka waktu efek atau penyakit, metabolit toksik, mekanisme toksisitas, metabolisme per individu, dan banyaknya waktu, biaya, serta teknik biomonitoring yang tersedia.

2.4 POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON (PAH)

PAH, dikenal sebagai polisiklik aromatis hidrokarbon, ialah kelompok dari senyawaan berukuran besar dengan dua atau lebih cincin aromatik yang

umumnya terbuat dari atom karbon dan hidrogen. Ada 17 jenis senyawa PAH yang diumumkan oleh Badan Perlindungan Lingkungan di Amerika Serikat (U.S. *Environmental Protection Agency*, EPA) sebagai pencemar prioritas berdasarkan keberadaannya di atmosfer dan karsinogenitasnya. Beberapa contohnya ialah *pyren*, *benzo[a]pyrene*, *fenantrene*, *anthracene*, *naphtalene*, *chrysene*, *acenaphthylene fluorene*, *fluoranthene*, *benzo[b]fluoranthene*, dan *indeno[1,2,3-c,d]pyrene*. Senyawa PAH yang pertama ditemukan bersifat karsinogen dan kemudian paling umum digunakan dalam penelitian dan dipelajari secara mendalam ialah *benzo[a]pyrene*¹⁹.

PAH terbagi menjadi dua bentuk fase, yaitu fase padat atau partikulat (bila tekanan atmosferik lebih dari 1×10^{-5} Kpa) dan fase gas (bila tekanan atmosfer di bawah 1×10^{-9} Kpa). Proses deposisi dan volatilisasi ulang dapat mendistribusikan senyawaan ini dalam udara, tanah dan aliran air. Sifat fisika-kimia dari senyawaan PAH yang paling umum ialah semi-volatil, sehingga menyebabkan senyawaan ini dapat termobilisasi dan menyebabkan problem antar-lingkungan karena proses transport jarak jauh secara atmosferik.

2.4.1 Sumber dan Produksi PAH di Lingkungan

PAH yang ditemukan di lingkungan bersumber dari berbagai aktivitas alam maupun manusia. Sumber-sumber utama PAH dalam lingkungan¹⁹ antara lain industrial seperti proyek penyulingan minyak mentah dan gas alam, agrikultural seperti proses pembakaran gabah atau jerami setelah

musim panen, alamiah contohnya kebakaran hutan, aktifitas vulkanisme, dan lainnya, serta aktifitas sehari-hari manusia, seperti asap rokok, asap pembakaran sampah, emisi kendaraan bermotor, dan lainnya.

2.4.2 Penggunaan PAH di Lingkungan

Ada beberapa senyawa yang sering digunakan secara sengaja di lingkungan, seperti misalnya untuk industri pelarut organik. Senyawaan tersebut antara lain:

- a. *Pyrene*, dalam produksi pencelup (pigmen perinon)
- b. *Fenantrene*, dalam produksi *fenantrenquinon* (intermediet untuk pestisida) dan dalam pembuatan asam difenik (intermediet untuk resin)
- c. *Antracene*, dalam produksi antrakuinon (intermediet untuk pencelup)
- d. *Naftalene*, dalam produksi pencelup azo, surfaktan dan cairan penyamak, karbaril (insektisida), produksi anhidrida ftalat (intermediet untuk pembuatan PVC), pelarut alkil naftalen (untuk kertas fotokopi bebas karbon).

2.4.3 Efek PAH terhadap kesehatan manusia

Senyawaan PAH yang volatil dan berada pada fasa partikulat atau gas menyebabkan suatu efek yang buruk pada tubuh manusia melalui jalur

paparan melalui inhalasi atau respirasi, dimana target utama PAH ialah paru-paru. Efek yang sering terjadi ialah gangguan sistem respirasi, batuk, iritasi, dan sakit pada paru-paru diikuti sesak. Penelitian telah membuktikan bahwa PAH baik dalam bentuk campurannya maupun masing-masing ialah berupa senyawa karsinogenik. Kanker yang paling umum terbentuk ialah kanker paru-paru dan kanker kulit pada manusia.

Senyawa PAH pertama kali ditemukan oleh Potts (1775) memiliki efek penyebab kanker skrotum²⁰. Beberapa data lain menunjukkan bahwa senyawa *benzo[a]pyrene* dan *benz[a]anthracene* telah diketahui bersifat karsinogen genotoksik yang menyebabkan efek mutasi kromosomal pada manusia yang terpapar. PAH dengan dosis yang tinggi juga dipercaya dapat menurunkan sistem fungsi imun tubuh dengan mengurangi kadar serum immunoglobulin.

2.4.4 Efek PAH terhadap lingkungan

Pada makhluk hidup di lingkungan, belum banyak data yang menunjukkan efek dari senyawaan PAH. Senyawa *benzo[a]pyrene* dan *benz[a]anthracene* diketahui bersifat mutagenik dan genotoksik pada hewan percobaan. Senyawa PAH pernah diteliti oleh Van Schooten (1995) dengan hasil kontaminasi mayoritas pada tanah ialah dari senyawaan PAH dengan 4 cincin aromatik, dan pada jaringan tubuh cacing ialah dari senyawaan PAH dengan 4 dan 5 cincin aromatik. Namun secara keseluruhan, senyawa PAH

hanya dapat ditemukan sebagai DNA *Adduct* pada invertebrata yang hidup didarat apabila kontaminasi senyawa PAH dalam tanah sudah melebihi ambang batasnya atau terkontaminasi cukup tinggi.

Untuk organisme air, PAH dapat menyebabkan efek neoplastik. Tumor hati terjadi pada ikan yang hidup dekat dengan sedimen yang mengandung PAH dengan konsentrasi 250 mg/kg. Toksisitas PAH pada organisme air dipengaruhi oleh metabolisme dan fotooksidasi dan akan lebih toksik bila terdapat sinar UV.

2.5 BENZO[A]PYRENE

Benzo[a]pyrene atau disingkat B[a]P ialah marker yang cukup baik sebagai wakil dari senyawa PAH dalam fasa partikulat. Dengan ciri-ciri sifat fisik tersebut, B[a]P lebih banyak bersumber dari asap hasil pembakaran tidak sempurna suatu senyawaan organik baik yang alamiah maupun yang sintetis. Senyawa ini juga didapati berupa kristalin kuning yang padat.

Tabel 1. Genotoksisitas dan Karsinogenisitas Beberapa PAH

Nama Umum	Genotoksisitas	Klasifikasi IARC
Benzo(a)piren	Positif	2A
Khrisen	Positif	3
Indeno(1,2,2-cd)piren	Positif	2B
Fenantren	Masih dipertanyakan	3

Klasifikasi IARC:

- Grup 1 : Karsinogenik terhadap manusia.
- Grup 2A : Hampir dipastikan menyebabkan kanker pada manusia.
- Grup 2B : Kemungkinan menyebabkan kanker pada manusia.
- Grup 3 : Tidak masuk dalam klasifikasi karsinogenisitas pada manusia.

B[a]P dengan lima cincin aromatisnya termasuk kedalam kelompok senyawaan PAH yang mutagenik dan karsinogenik, yaitu Grup 2A oleh IARC (2002). B[a]P merupakan salah satu senyawa PAH yang paling umum dan sering dipakai dalam suatu penelitian mengenai senyawaan PAH. Senyawa yang merupakan kontaminan lingkungan yang berada dimana-mana ini pertama kali diisolasi dari *ter* batubara.

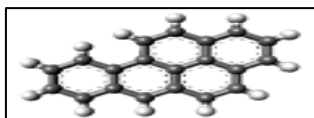
B[a]P merupakan salah satu senyawa PAH yang memiliki kerapatan elektron yang terdistribusi seimbang dalam senyawanya. Sehingga bila teraktivasi oleh metabolisme menjadi senyawa *diolepoxides yang sangat reaktif*, diperkirakan dapat menjadi penyebab karsinogenesis pada makromolekular manusia dengan berikatan kovalen dan dapat membentuk adduct yang stabil dalam tubuh manusia tersebut. Ikatan kovalen ester yang terbentuk berasal dari ikatan atom yang elektrofil dari senyawa *diolepoxides* B[a]P dengan atom yang nukleofil pada makromolekular DNA dan protein.

2.5.1 Sifat Fisik dan Kimia Benzo[a]pyrene

Berikut identitas kimiawi dan fisik dari senyawa *Benzo[a]pyrene* yang telah diketahui (sebagian di rangkum dalam tabel 3):

- Nama senyawa : *Benzo[a]pyrene*

- Struktur senyawa



:

- Nama sinonim : *Benzo[a]pyrene; B(a)P; 1,2-Benzopyrene; 3,4-Benzopyrene; Benz(a)pyrene 6,7-Benzopyrene; BP; 3,4-Benzopyrene; 3,4-Benz(a)pyrene;*
- Formula Kimia : $C_{20}H_{12}$
- Keadaan Fisik : Padat, kristal jarum atau plat, warna kuning pucat, berfluoresens kuning-hijau di sinar UV
- Massa molekul : 252,31 g/mol

2.5.2 Sumber Benzo[a]pyrene

Secara umum, B[a]P juga memiliki sumber yang sama dengan sumber senyawaan PAH. Senyawa BaP dari alam bersumber dari kebakaran hutan, letusan gunung berapi, dan terbakarnya minyak mentah. Sedangkan untuk sumber antropogeniknya berasal dari pembakaran tidak sempurna bahan bakar fosil, emisi dari pembakaran batu bara dan industri konversi, serta asap kendaraan bermotor dan rokok.

2.5.3 Toksikokinetika Benzo[a]pyrene

2.5.3.1 Absorpsi

Studi telah membuktikan bahwa PAH hasil inhalasi pasti terabsorpsi oleh manusia. Senyawa B[a]P yang melalui jalur ingesti atau saluran pencernaan kurang terabsorpsi dengan baik dibandingkan yang melalui jalur

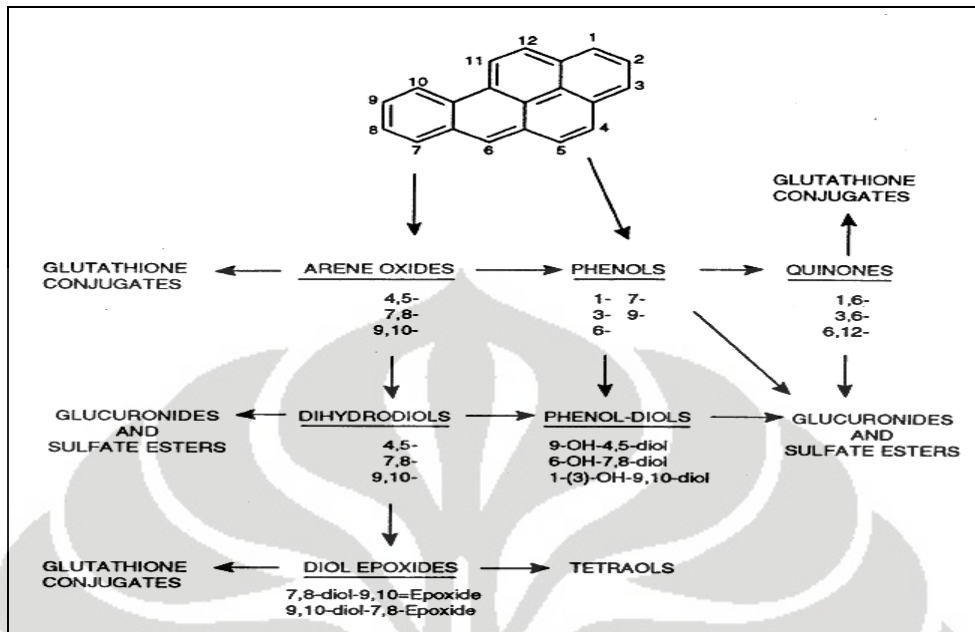
inhalasi dan dermal. Absorpsi inhalasi dari B[a]P dapat dipengaruhi oleh ukuran partikulat dimana B[a]P teradsorpsi. Seluruh proses absorpsi yang melalui jalur inhalasi, oral, maupun dermal dapat dipengaruhi oleh pengaturan *carrier* atau transporter dari B[a]P.

2.5.3.2 Distribusi

Belum banyak informasi yang tersedia mengenai proses distribusi B[a]P pada manusia. Senyawa B[a]P diketahui memiliki kecenderungan untuk tersimpan dalam jaringan lemak, ginjal, dan hati. Bentuk senyawa diol epoxide (DE) hasil metabolisme B[a]P dapat didistribusikan dalam tubuh dengan cara pembentukan adduct kovalen terlebih dahulu pada makromolekular sel, contohnya seperti DNA atau protein dalam darah.

2.5.3.3 Metabolisme

Metabolisme B[a]P terjadi diseluruh jaringan yang mengabsorpsinya. B[a]P pertama kali dimetabolisme oleh sistem mikrosomal *cytochrome* (*cyt*) P-450 menjadi beberapa *arene oxides*. Secara keseluruhan ada tiga step aktivasi B[a]P (Gambar 4). Enzim *cyt* P-450 seperti CYP1A1 dan CYP1A2 dapat membentuk senyawaan fenol dari B[a]P dengan insersi langsung oksigen, sedangkan *arene oxides* secara spontan berubah menjadi senyawaan fenol.

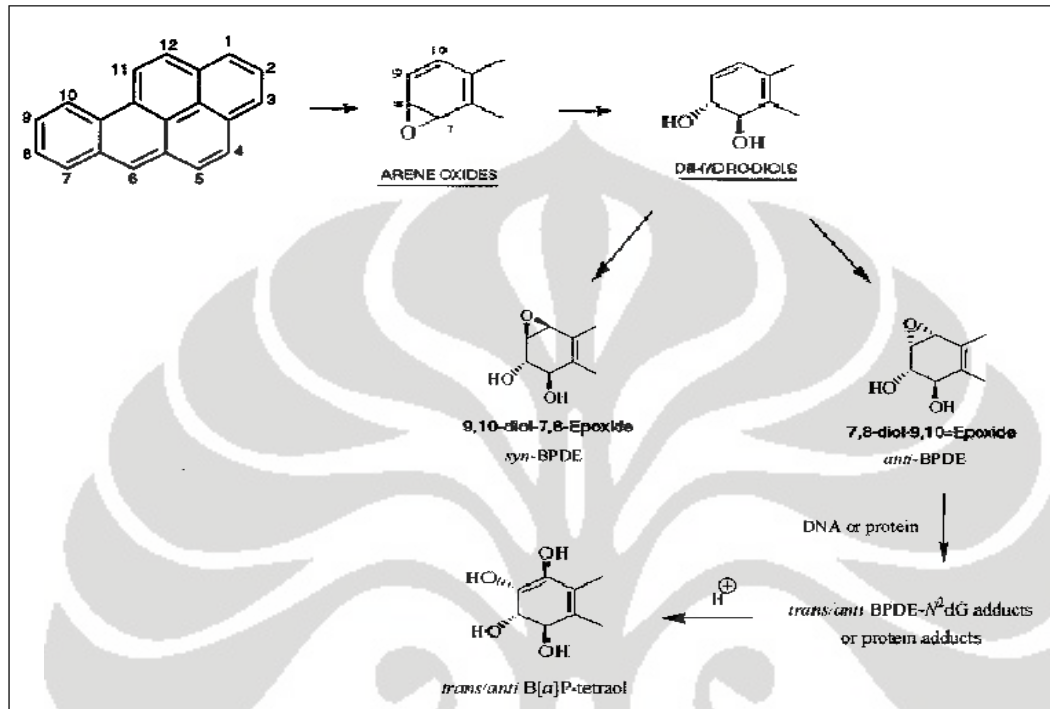


Gambar 4. Proses metabolisme B[a]P secara detoksifikasi dan bioaktifasi.

- Dapat berkonjugasi dengan sulfat -ester
- Dapat berkonjugasi dengan glutathione
- Dapat berkonjugasi dengan asam glukoronat
- Dapat berkontribusi pada reaksi kovalen dari hidrokarbon diol-epoksida dengan asam nukleat pada sel atau jaringan [Sumber: Kim²¹]

Setelah proses hidrasi menjadi bentuk diol oleh katalisis mirosomal *epoxide hydrolase*, metabolit B[a]P dapat bereaksi kovalen atau secara spontan dengan *glutathione* maupun dengan katalisis *glutathione-S-transferases*. Selain metabolit ini terkonjugasi, *cyt P-450* masih dapat mengoksidasi lanjut dari bentuk diol menjadi (7*R*,8*S*)-*dihydroxy*-(9*S*,10*R*)-*epoxy*-7,8,9,10-*tetrahydrobenzo*[a]*pyrene* atau BPDE yang memiliki empat isomer. BPDE merupakan metabolit terbanyak yang ada dalam sistem tubuh

mamalia dan memiliki aktifitas *tumoregenic* (pembentukan tumor) yang tinggi²¹.



Gambar 5. Transformasi B[a]P menjadi *trans/anti* B[a]P-tetraol

2.5.3.4 Ekskresi

Senyawa B[a]P bebas dan produk metabolisemenya (intermediet *epoxide*, dihidrodiol, fenol, *quinone*, dan konjugat-konjugat) dapat diekskresikan. Jalur utama ekskresi B[a]P ialah dalam feses, hanya sebagian yang melalui urin.

2.5.4 Efek terhadap kesehatan

Senyawa B[a]P yang berada dalam tubuh memiliki efek pada kesehatan, seperti:

- Efek genetik, dengan terbentuknya DNA *adduct* atau Hb-*adduct* yang dapat meningkatkan proses mutasi pada limfosit periferal.
- Efek kronis, berupa efek *immunosuppressive*, dapat merusak pertumbuhan janin, mempengaruhi sistem reproduksi, dan dapat berpindah ke bayi dari ibu yang terpapar B[a]P melalui air susu (ASI). Efek yang cukup berbahaya ialah munculnya kanker pada paru-paru, kulit, kandung kemih, dan telah terbukti pada *scrotum*.
- Efek akut, berupa iritasi pada kulit dengan sensasi terbakar yang diperburuk oleh adanya sinar matahari.

2.5.5 Efek terhadap lingkungan

Dampak dari senyawa B[a]P terhadap lingkungan diantaranya adalah penyakit tumor pada ikan di perairan yang mengandung senyawa kimia tersebut.

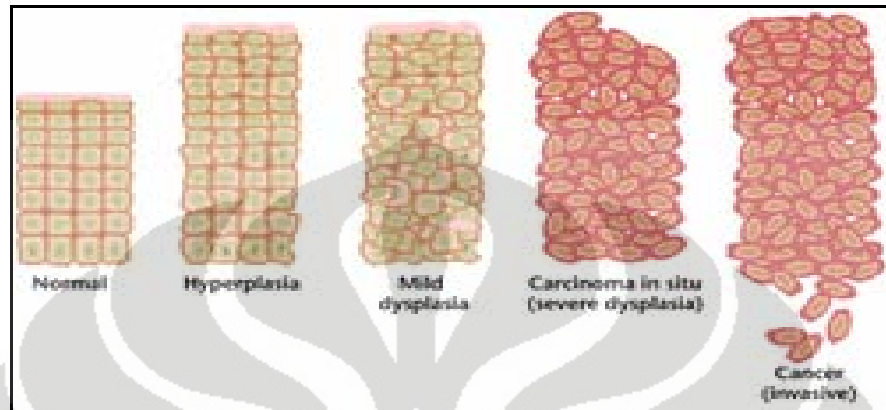
2.6 KANKER

Pertumbuhan sel-sel dalam tubuh yang menggandakan diri secara berlebihan, tidak dapat dibatasi dan dikontrol oleh sistem regulasi tubuh, serta tidak ada manfaatnya bagi tubuh atau bahkan merugikan bagi tubuh yang menderita, ialah definisi umum dari penyakit kanker. Karsinogenik ialah senyawa kimia yang memiliki kemampuan menyebabkan terjadinya pembentukan sel-sel kanker dalam tubuh, sedangkan semua substansi yang mampu menyebabkan kanker disebut karsinogen²³.

Kanker atau dikenal juga sebagai tumor malignant merupakan suatu hasil dari proses dimana sel mengalami perubahan yang membuatnya menjadi abnormal, seperti perubahan fenotip atau perubahan pada ekspresi kode gen, dan memasuki tahap tidak terkontrol pada pertumbuhannya serta mampu menyebar ke jaringan lain yang biasa dan menyebabkan sel-sel disekitarnya kekurangan zat-zat untuk pertumbuhan. Dengan demikian, kanker dapat terjadi di setiap bagian tubuh.

Dalam beberapa dekade, penyakit mematikan kedua setelah penyakit jantung yaitu kanker terjadi dalam multistap pembentukan. Segala macam faktor seperti karsinogen dari bahan-bahan senyawaan kimia, genetik biologis, maupun fisik seperti radiasi dapat memiliki keterlibatan dalam tahapan karsinogenesis. Karsinogenesis ialah proses dimana sel menjalani beberapa tahap yang menyebabkannya menjadi abnormal, membentuk

pembengkakan di bawah kulit maupun dalam jaringan, dan memulai fase pertumbuhan menjadi tidak terkontrol dan mampu menyebar ke jaringan lain.



Gambar 6. Proses karsinogenesis [Sumber: www.peacehealth.org/nci]

2.6.1 Kanker Paru-paru

Kanker paru-paru terbagi atas dua klasifikasi yang didasarkan atas ukuran dan bentuk dari sel *malignant*-nya, yaitu *non-small cell* dan *small cell*. Terdapat \pm 80% kasus penyakit kanker *non-small cell* yang terdapat didunia, dimana kelas ini terbagi atas 3 jenis kanker menurut ukuran dan letak antara lain *adenocarcinoma*, *squamous cell carcinoma*, *large cell carcinoma*²³.

Adenocarcinoma merupakan jenis penyakit kanker paru yang paling umum, yaitu sebanyak 32 % kasus di dunia. Kebanyakan jenis ini dihubungkan dengan pengaruh merokok sebagai penyebab utamanya, namun beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan jumlah yang tidak sedikit para wanita perokok pasif juga dapat terkena penyakit ini²³. Berdasarkan data

IARC 2002, kasus kanker paru – paru merupakan penyebab kematian terbesar di dunia dan di Asia Tenggara bahkan di Indonesia sendiri.

Terdapat beberapa stadium untuk kasus penyakit kanker paru, antara lain:

1. Stadium 0

Pada stadium 0 atau *carcinoma in situ*, sel abnormal ditemukan pada selaput terdalam paru-paru. Sel ini dapat berubah menjadi sel kanker yang malignant (ganas) dan dapat menyebar ke jaringan normal didekatnya.

2. Stadium I

Stadium IA dan IB menunjukkan koloni sel ini telah tumbuh menjadi \pm 3 cm pada bronkus utama, dimana stadium IB menunjukkan penyebaran pada saluran bronkus utama pada paru-paru.

3. Stadium II

Pada stadium IIA dan IIB telah terjadi penyebaran sel ke bronkus utama, bronkiolus, dan membran dalam pembungkus paru-paru (*mediastinum*).

4. Stadium III

Pada stadium IIIA dan IIIB, penyebaran sel dengan ukuran yang besar sel *malignant* telah mencapai diafragma, hati, trakea, esofagus, berada lebih dari satu tempat pada paru-paru, dan pembuluh darah utama yang menuju dan keluar dari organ hati.

5. Stadium IV

Pada stadium IV, sel kanker telah semakin menyebar seluruh paru-paru, terbawa dalam pembuluh darah, bahkan hingga ke organ otak, dan jaringan tubuh lainnya²³.

Adapun *treatment* yang umum dilakukan untuk pengurangan dan penyembuhan penyakit kanker ini antara lain dengan operasi, terapi radiasi eksternal, terapi laser, *Photodynamic therapy* (PDT), percobaan klinis atas treatment gabungan biologis atau cara baru terapi radiasi, dan kemoterapi dengan penggunaan obat-obatan kimia atau sitostatika, serta terapi dengan kombinasi pengobatan tersebut diatas²³.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 PERALATAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini ialah *sputt* TERUMO; Vial *vacutainer vacuum* berisi EDTA ukuran 7 mL; *disposable gloves*; tabung sentrifuge (15 mL); tabung *eppendorf*; Vial *vacuum* untuk hidrolisis ukuran 8 mL; pH-*indicator universal*; instrumen sentrifugasi Fischer Scientific; *ice box*; instrumen *vortex*; lemari pendingin; peralatan kimia *pyrex*; filter eluen Nylon membrane filters 0,45 µm Whatman; neraca digital; dan kolom HPLC LiChroCART 250-4 diameter dalam 5µm RP-18 Merck, serta instrumen HPLC Shimadzu LC-6A dengan detektor fluoresensi Shimadzu RF-535.

3.2 BAHAN

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini ialah larutan standar *benzo[a]pyrene-tetrahydrotetrol* (BaPT) yang berasal dari padatan BaPT yang telah dilarutkan dalam DMSO (pemberian dari Prof. Shantu G. Amin, American Health Institute, Valhalla, New York), larutan NaCl 0,9%; HCl 50mM dalam isopropanol; HCl 0,4N; NaOH 0,4N; *Dimethyl sulfoxide* (DMSO); Etil asetat; n-heksana; asetonitril; MeOH/H₂O (55%; 60%; 70%); dan

Aquabides (H₂O). Semua bahan kimia yang digunakan berkualitas pro analitis.

3.3 LOKASI SAMPLING DAN PENELITIAN

Pengambilan sampel dilakukan di Kantor Kepolisian Direktorat Lalulintas Wilayah Jakarta Selatan – Pancoran, dan di R.S.U.P Persahabatan, Rawamangun – Jakarta Timur. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Biokimia Departemen Kimia dan Laboratorium Analisis Instrumen Departemen Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Indonesia – Depok

3.4 CARA KERJA

3.4.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel darah dilakukan dari masing-masing 25 sampel darah polisi lalulintas dan 8 sampel darah polisi dari bagian administratif yang bertugas di kantor Kepolisian Ditlantas Pancoran Jak-Sel, serta 13 sampel darah pasien kanker paru-paru dari RSUP Persahabatan. Proses pengambilan darah dilakukan oleh mahasiswa S1-Ekstensi Fakultas Ilmu Keperawatan Universitas Indonesia dan para suster yang bertugas di RSUP Persahabatan Jak-Tim.

Darah diambil dengan menggunakan jarum suntik (*sputt*) steril ukuran 10 mL dan dimasukkan kedalam Vial *vacutainer vacuum* ukuran 7 mL berisi antikoagulan (EDTA), kemudian vial digoyang perlahan untuk meratakan pencampuran darah dengan EDTA. Sampel darah diangkut menuju laboratorium menggunakan wadah pendingin (*cool-box*) berisi es, selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu penyimpanan pada -20°C .

3.4.2 Survey Individu

Sebelum dilakukan pengambilan sampel, individu yang akan dijadikan subjek diberi *informed consent* terlebih dahulu untuk meminta persetujuannya ikut serta dalam penelitian ini. Untuk mengetahui latar belakang serta faktor – faktor yang terkait pada individu, maka dilakukan survei terhadap relawan yang dikumpulkan melalui pemberian kuesioner yang berisi beberapa pertanyaan penting, antara lain data pribadi, status kesehatan, kebiasaan hidup sehari-hari, status pekerjaan, dan status penyakit untuk pasien kanker.

3.4.3 Verifikasi Metode

Verifikasi metode dalam penelitian ini antara lain pencarian kondisi optimum instrumen *High Performance Liquid Chromatographic Fluorescence Detector* (HPLC-FD), uji verifikasi metode dengan beberapa parameter

validasi yakni batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi instrumen (LOQ), koefisien variasi (KV), serta uji linieritas²⁴.

3.4.3.1 Pembuatan Larutan Standar Baku

Standar baku *benzo[a]pyrene tetrahydrotetrol* (BPT) yang dimiliki berupa larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm yang berasal dari pelarutan padatan serbuk BPT seberat ± 1 mg dengan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Dari larutan stok diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,1 mL lalu ditambahkan DMSO hingga tepat tanda batas labu 10 mL. Larutan standar baku dibuat dalam variasi konsentrasi 100 ppb, 80 ppb, 60 ppb, 40 ppb, 20 ppb, 10 ppb, 9 ppb, 7 ppb, 5 ppb, 3 ppb, dan 1 ppb dengan cara memipet larutan 1 ppm sebanyak: 1 mL, 0,8 mL, 0,6 mL, 0,4 mL, 0,2 mL, 0,1 mL, 0,09 mL, 0,07 mL, 0,05 mL, 0,03 mL, dan 0,01 mL secara berurutan pada labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan dengan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) hingga tanda batas.

3.4.3.2 Pencarian kondisi optimum HPLC-FD

Fase gerak metanol-air dibuat dengan tiga variasi komposisi (55:45), (60:30), (70:30), yakni dengan cara menyaring 2 kali larutan metanol dan aquabidest dengan filter membran eluen, dimasukkan dalam botol ukuran

1000 mL sesuai komposisi volumenya, dikocok hingga homogen dan di *degassing* untuk menghilangkan gelembung udara.

Analisa dilakukan menggunakan HPLC-FD menggunakan kolom fasa terbalik C18 dengan $\lambda_{\text{eksitasi}}$ 344nm dan λ_{emisi} 398nm serta *flow rate* eluen 1 mL/menit. Sebelum digunakan dalam analisis, kolom HPLC-FD dicuci terlebih dahulu dengan eluen asetonitril menggunakan *flow rate* 0,5 mL/menit hingga kromatogram tidak terlihat adanya puncak kromatogram dari pengotor selama ± 30 menit.

Larutan standar dengan rentang 1 - 100 ppb masing-masing disuntikkan sebanyak 20 μL ke dalam kolom pada kondisi terpilih untuk memperoleh kurva kalibrasi dan koefisien linearitas sesuai luas area puncak yang didapat.

3.4.3.3 Uji presisi

Uji presisi dilakukan dengan menggunakan dengan tiga variasi konsentrasi standar BaPT (60; 80; 100 ppb) yang diukur presisinya sebanyak 6 kali penginjekan pada instrumen HPLC-FD. Hasil yang didapat berupa perhitungan nilai standar deviasi (SD) dan persentase koefisien variasi (% KV).

3.4.4 Pembuatan larutan NaCl 0,45 %

Larutan NaCl 0,9 % diambil sebanyak 50 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 100mL, kemudian dilarutkan dengan akuabides hingga tanda batas labu ukur untuk mendapatkan larutan NaCl 0,45 %.

3.4.5 Pembuatan larutan 50 mM HCl dalam 2-propanol

Larutan HCl 12,06 M diambil sebanyak 2,07 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 100mL, lalu dilarutkan dengan 2-propanol hingga tanda batas labu ukur untuk mendapatkan larutan HCl 50 mM dalam 2-propanol.

3.4.6 Pembuatan larutan stok untuk hidrolisis asam

Larutan HCl 12,06 M diambil sebanyak 12,58 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan akuabidest hingga tanda batas labu ukur untuk mendapatkan larutan stok HCl 4 N. Larutan ini kemudian diekstrak dengan etil asetat sebanyak 3 kali (1:1 mL) untuk menghilangkan pengotor yang dapat mempengaruhi proses hidrolisis globin.

Dari larutan stok HCl 4 N diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur, kemudian dilarutkan dalam akuabidest hingga tanda batas labu ukur untuk membuat larutan stok HCl 0,4 N yang digunakan dalam proses hidrolisis globin.

3.4.7 Pembuatan Larutan NaOH 0,4 N

Larutan NaOH 0,4 N dibuat dengan cara sebanyak 0,8 gram padatan NaOH dilarutkan dalam akuabidest hingga tepat 50 ml dalam labu ukur.

3.4.8 Tahapan analisis

3.4.8.1 Isolasi Globin dari Darah

Sel darah merah atau eritrosit diendapkan dari sampel darah dengan sentrifugasi kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dicuci 3 kali dengan larutan NaCl 0,9% 1:1 mL. Setelah itu, hemolisis dilakukan dengan menambahkan larutan hipotonik NaCl 0,45% pada supernatan dilanjutkan sentrifugasi selama 90 menit pada 3500 rpm. Filtrat yang diperoleh dipisahkan kedalam tabung sentrifuge baru dan ditambahkan 6 kali volum HCl 50 mM dalam 2-propanol kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 3500 rpm. Supernatan yang diperoleh ditambahkan 8 ml etil asetat secara perlahan lalu disimpan pada suhu 4 °C selama 2 jam. Setelah sentrifugasi selama 10 menit pada 3000rpm, endapan yang telah dipisahkan dari filtratnya dicuci 2 kali 5 ml etil asetat dan 1 kali 5 ml n-heksana. Endapan yang merupakan protein globin ini kemudian dikeringkan dalam desikator vakum (24 jam) lalu disimpan pada suhu -20°C hingga analisis selanjutnya.

3.4.8.2 Analisa Kemurnian Protein Globin

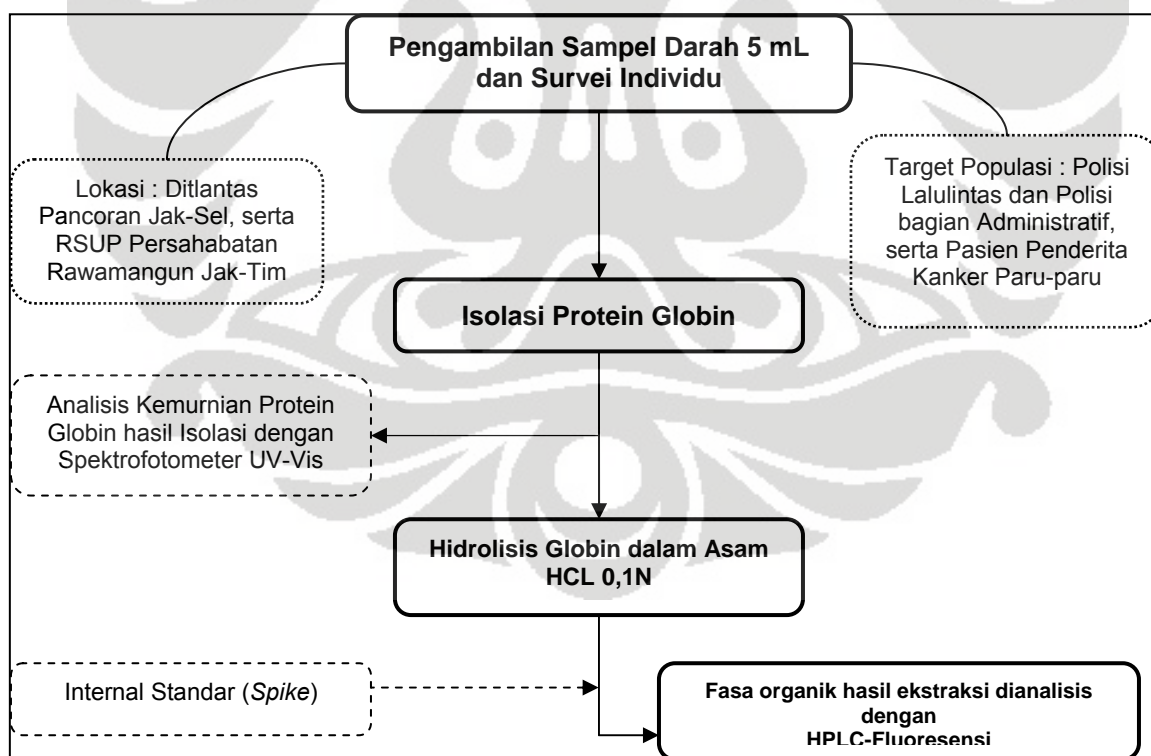
Sebanyak 0,006 mg globin-globin hasil isolasi dilarutkan kedalam 5 mL akuabidest diuji kemurniannya dengan melihat puncak *peak* pada panjang gelombang protein globin standar (280 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Blanko yang digunakan ialah pelarutnya (akuabides).

3.4.8.3 Hidrolisis Asam Globin

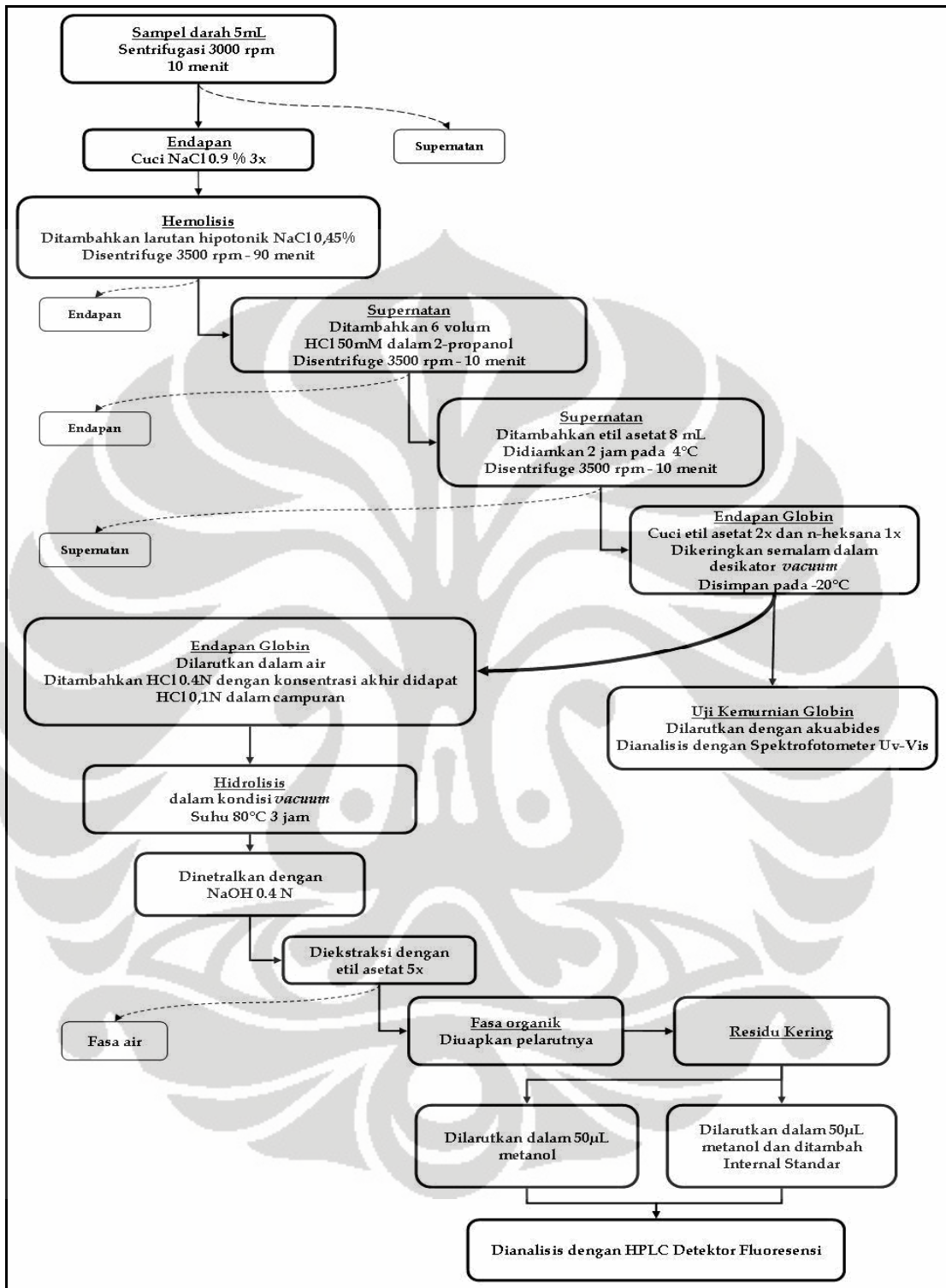
Sebanyak 50 mg globin dilarutkan dalam 2,25 mL akuabides dan dimasukkan ke dalam vial *vacuum* hidrolisis ukuran 7 ml. Proses hidrolisis globin dilakukan pada kondisi asam dengan menambahkan asam 0,4 N HCl sebanyak 0,75 mL kedalam vial yang sama, dengan maksud mendapatkan konsentrasi HCl akhir sebesar 0,1 N. Kemudian vial diinkubasi selama 3 jam pada suhu 80°C. Setelah hidrolisis, larutan globin dinetralkan dengan NaOH 0,4 N. Hidrolisat yang di dapat diekstraksi 5 kali dengan 1 volume etil asetat. Kemudian larutan jernih fasa organik yang telah dipisahkan dikeringkan dengan penguapan pada desikator vakum. Selanjutnya residu berupa globin kering tersebut disimpan dalam desikator vakum selama 24 jam dilanjutkan penyimpanan pada suhu -20°C hingga analisis selanjutnya.

3.4.8.4 Analisis B(a)P-tetraol dengan HPLC-FD

Globin kering hasil hidrolisis dilarutkan dalam 50 μ L metanol 100%, kemudian diinjek kedalam HPLC-Flourescence Detector dengan menggunakan kolom fasa terbalik C18. Pengoperasian HPLC-FD menggunakan kondisi isokratik terpilih dengan eluen metanol/air (55:45) selama 10 menit dengan *flow-rate* 1mL/min. Panjang gelombang eksitasi dan emisi diatur pada 344 nm dan 398 nm. Penentuan waktu retensi standar untuk uji validasi dilakukan menggunakan metode penambahan baku (*standard addition method*) standar B(a)P-tetraol sebagai internal standar (*spike*) analisis.



Gambar 7. Skema rancangan penelitian B[a]P Hb-Adduct



Gambar 8. Skema analisis BaPT dari sampel darah

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 PENGUMPULAN SAMPEL DARAH DAN ANALISIS RESPONDEN

Penelitian ini diawali dengan proses pemilihan responden yang akan dikumpulkan darahnya sebagai sampel untuk melihat adanya hemoglobin-*Adduct* yang diduga akibat paparan udara senyawaan PAH. Ruas-ruas jalan terutama ruas jalan utama dengan lalu lintas yang cukup padat dan memiliki tingkat kemacetan yang cukup tinggi merupakan salah satu penyumbang tingginya pencemaran udara hasil pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor. Hal ini menyebabkan risiko terjadinya paparan udara PAH yang terkandung dalam emisi kendaraan bermotor sangat tinggi terhadap individu yang kesehariannya beraktivitas di lokasi dalam jangka waktu yang lama.

Untuk mengidentifikasi adanya paparan senyawa *benzo[a]pyren* atau B[a]P sebagai salah satu senyawaan PAH dari polusi udara, maka responden yang dinilai cukup berisiko tinggi terpapar ialah polisi lalu lintas yang bekerja pada lokasi yang telah disebutkan diatas. Polisi lalu lintas atau polantas merupakan individu yang terus-menerus mengatur dan mengurangi kemacetan yang selalu terjadi pada ruas-ruas jalan tertentu, bahkan harus tetap berada di lokasi tempat bekerja untuk mengawasi jalannya lalu lintas di daerah mereka bertugas.

Berdasarkan hasil wawancara, diketahui dari para polantas bahwa kendala utama dari pencegahan terjadinya paparan senyawa B[a]P ialah sulitnya memakai alat pelindung atau masker selama bekerja, dikarenakan keharusan memakai peluit sebagai alat pengatur lalulintas. Kondisi alat atau masker yang memiliki kapabilitas rendah (hanya mampu memfilter partikulat berukuran besar seperti debu) juga mempengaruhi jumlah paparan B[a]P kedalam tubuh polantas. Dengan demikian, polantas dinilai sebagai individu dengan tingkat risiko tinggi terpapar B[a]P dalam jumlah besar dan secara berkelanjutan.

Tabel 2. Kriteria responden yang dipilih

Polisi Lalu Lintas	Polisi Bagian Administratif	Pasien Kanker Paru
1. Laki-laki	1. Laki-laki	1. Laki-laki
2. Bekerja 6 hari seminggu dengan waktu kerja \geq 8 jam per hari	2. Bekerja 6 hari seminggu dengan waktu kerja \geq 8 jam per hari	2. Baru didiagnosis mengidap penyakit kanker
3. Telah bekerja dan berprofesi lebih dari 5 tahun	3. Telah bekerja dan berprofesi dari 5 tahun	3. Memiliki stadium penyakit kanker yang masih rendah
4. Tidak memiliki penyakit pernapasan yang serius	4. Tidak memiliki penyakit pernapasan yang serius	4. Belum kemoterapi
	5. Tidak bertugas di lapangan atau hanya bekerja di dalam ruangan kantor	

Sebagai pembanding sampel dengan risiko terpapar senyawa B[a]P rendah dipilih responden dari polisi yang bekerja pada bagian administrasi. Kriteria yang diterapkan saat memilih responden ialah memilih polisi yang

tidak bekerja di lapangan atau di ruas-ruas jalan kendaraan bermotor sama sekali. Pasien kanker paru dipilih sebagai responden ketiga dalam penelitian ini. Hal ini dikarenakan pasien kanker diduga telah mengalami paparan B[a]P yang merupakan salah satu faktor penyebab karsinogenesis. Adapun kriteria responden pasien yang dipilih salah satunya ialah pasien yang belum sama sekali di kemoterapi agar belum ada pengaruh dari senyawaan obat-obatan untuk kemoterapi yang efek sampingnya dapat mengurangi kadar eritrosit dalam darah pasien. Seluruh pasien kanker paru merupakan pasien yang berada dan dirawat di Instalasi Rawat Inap RSUP Persahabatan Rawamangun Jak-Tim setelah terlebih dahulu meminta izin dan mematuhi peraturan kode etik yang berlaku. Dengan pemilihan kondisi tersebut, diharapkan Hb-Adduct yang diperoleh dapat terdeteksi dengan baik dan faktor-faktor eksternal yang dapat mempengaruhi analisis identifikasinya dapat diminimalisasi.

Sebelum proses pengambilan sampel darah dilakukan, seluruh responden diberikan *informed consent* sebagai bukti persetujuan individu tersebut untuk turut serta dalam penelitian ini tanpa adanya paksaan. Dalam *informed consent* dijelaskan mengenai latar belakang dan tujuan diadakannya penelitian ini serta alasan dipilihnya mereka sebagai responden, sehingga responden mengetahui dan memahami secara garis besar mengenai penelitian ini. Seluruh responden diambil sampel darahnya sebanyak 5 mL setelah masing-masing responden diberikan angket sebagai data tambahan dalam analisis *adduct*, yaitu data pribadi responden yang

mencakup pekerjaan, status kesehatan, serta aktifitas atau kebiasaan sehari-hari seperti merokok. Khusus untuk pasien, ditambahkan pula isian data berupa jenis penyakit dan keterangan mengenai kemoterapi (jumlah kemoterapi yang dilakukan). Bentuk kuesioner dan *informed consent* dapat dilihat pada Lampiran 4, 5 dan 6. Sedangkan kuesioner yang diperoleh dari responden terangkum dalam Tabel 4. Karakteristik dari studi responden secara keseluruhan ada pada Tabel 2.

Tabel 3. Ringkasan Data responden yang diperoleh

<u>Polisi lalulintas</u>	
• Perokok Aktif	12 orang
• Non Perokok	13 orang
Umur 26 — 47 tahun	
<u>Polisi Bagian Administratif</u>	
• Perokok Aktif	4 orang
• Non Perokok	4 orang
Umur 26 — 47 tahun	
<u>Pasien Kanker Paru</u>	
• Perokok Aktif	13 orang
Umur 20 — 51 tahun	

Responden polantas yang diperoleh sebanyak 25 orang dinilai dapat mewakili total para polisi lalulintas di kota DKI Jakarta yang jumlahnya lebih dari 50 orang, sesuai dengan perhitungan statistika yang diatur oleh NIOSH²⁵. Sedangkan responden polisi administrasi yang diperoleh sebanyak 8 orang, dimana sampel yang diperoleh ini tidak dapat dianggap mewakili seluruh polisi administrasi di kota DKI Jakarta dikarenakan merupakan

responden yang tersedia di kantor Kepolisian Dirlantas Pancoran Jak-Sel dan bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini. Hal ini diperkuat dengan aturan NIOSH atas perhitungan statistika yang menyatakan bahwa dibutuhkan minimal 22 sampel untuk dapat mewakili responden yang jumlah populasinya diatas 50²⁵.

Begitu pula dengan responden pasien kanker paru yang hanya sebanyak 13 orang. Hal ini disebabkan oleh terbatasnya jumlah pasien yang mengidap penyakit tersebut dan sedang dirawat inap, serta membutuhkan waktu yang cukup lama untuk menunggu adanya pasien baru di RSUP Persahabatan. Sehingga penelitian ini bukan merupakan studi epidemiologik yang dapat mewakili seluruh pasien kanker paru di Indonesia, melainkan hanya penelitian *in situ* terhadap responden pasien yang diperoleh di tempat.

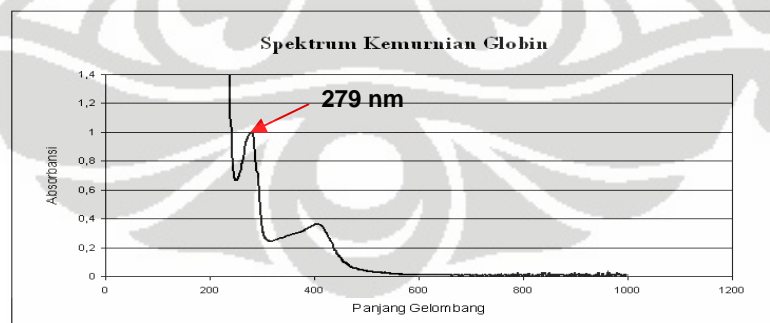
4.2 ANALISIS GLOBIN DARI SAMPEL DARAH

Proses isolasi globin dilakukan menurut metode isolasi dari Boogard (2002) yang telah dimodifikasi sesuai dengan peralatan kimia yang tersedia dan metode tersebut telah di validasi pada tahun 2007 oleh Yoga²⁶. Prosedur awal ialah pemisahan eritrosit (sel darah merah) dari komponen darah lainnya pada sampel darah. Kemudian eritrosit tersebut di lisis dengan larutan hipotonik untuk melepaskan hemoglobin. Dengan proses rusaknya struktur hemoglobin, maka monomer protein globin dapat diisolasi dari

sampel darah. Globin yang telah dikeringkan disimpan dalam suhu -20°C hingga -80°C atau pada *freezer*.

Globin yang diperoleh pada percobaan ini berupa padatan serbuk putih keruh. Berat globin kering yang didapat 24 – 247 mg pada sampel polantas, pada sampel polisi bagian administratif berkisar dari 40,1 – 195,1 mg, sedangkan peroleh dari sampel pasien kanker paru berkisar dari 13 – 256,5 mg.

Adanya variasi berat globin yang didapat tiap mL darahnya disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain usia, jenis kelamin, asupan gizi, tekanan atmosferik disekitar individu, asupan obat yang dapat berpengaruh pada proses pembentukan sel darah merah, kondisi fisik kesehatan tiap individu, keadaan interindividual tiap individu seperti proses metabolisme yang berbeda, dan lain sebagainya. Kesalahan mekanisme dan kesalahan teknis pada percobaan juga merupakan salah satu faktor bervariasinya berat globin.

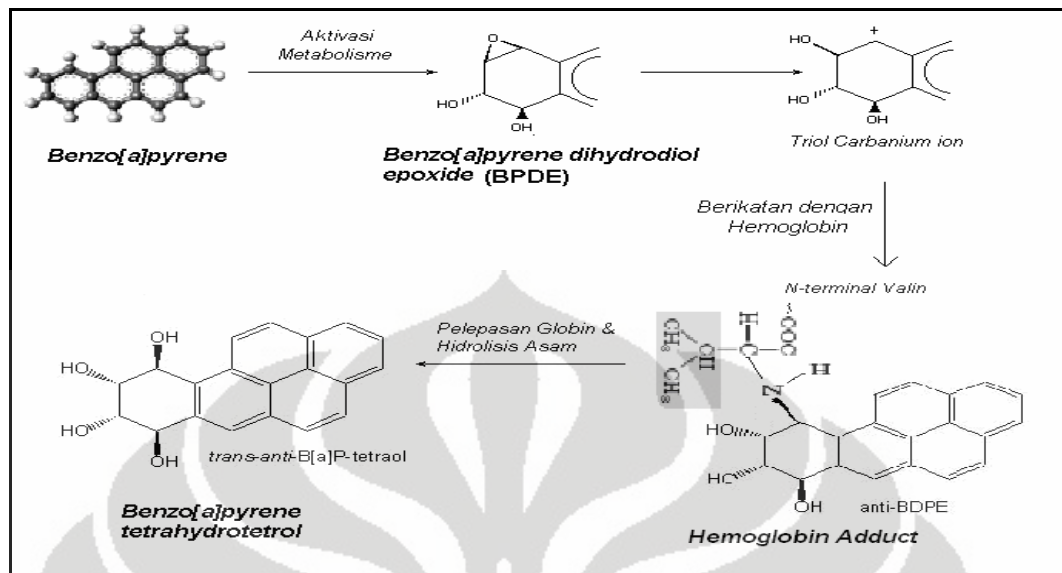


Gambar 9. Spektrum UV globin hasil isolasi sampel

Protein globin yang diperoleh memiliki tingkat kemurnian yang cukup tinggi setelah dilihat dari uji kemurnian globin hasil isolasi menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Protein murni yang mengabsorpsi panjang gelombang sinar UV-Visible akan menunjukkan absorpsi optimum pada panjang gelombang 280 nm. Adanya serapan sinar UV pada panjang gelombang 279 nm (Gambar 9), menunjukkan terjadinya pergeseran puncak spektrogram yang diperkirakan akibat pengotor dari darah yang belum sempurna dibersihkan.

4.3 PROSES PELEPASAN B[A]P-TETROL DARI GLOBIN

Adduct dari senyawa metabolit B[a]P yang terbioaktivasi dalam tubuh yaitu (7*R*,8*S*)-*dihydroxy*-(9*S*,10*R*)-*epoxy*-7,8,9,10-*tetrahydrobenzo*[a]*pyrene* atau BPDE yang berikatan dengan makromolekular protein hemoglobin (disebut juga *Hb-Adduct*) dapat dipisahkan dan di analisis dengan cara melakukan proses hidrolisis asam pada globin. Globin dengan satu atau lebih gugus elektrofilik dapat membentuk ikatan kovalen yang kuat dengan nukleofil BPDE (Gambar 10). Asam yang digunakan dalam proses hidrolisis dapat memecah struktur tersier protein dan juga ikatan kovalen BPDE-globin sehingga hidrolisat *benzo*[a]*pyrene-tetrol* atau BaPT dapat diperoleh. Kemudian BaPT ini dapat dideteksi keberadaannya dengan menggunakan HPLC kolom C18 fasa terbalik dengan detektor Fluoresensi²⁷.



Gambar 10. Skema proses BaPT Hb-Adduct hasil hidrolisis asam globin

4.4 VERIFIKASI METODE ANALISIS B[A]P-TETROL MENGGUNAKAN HPLC-FLUORESENSI

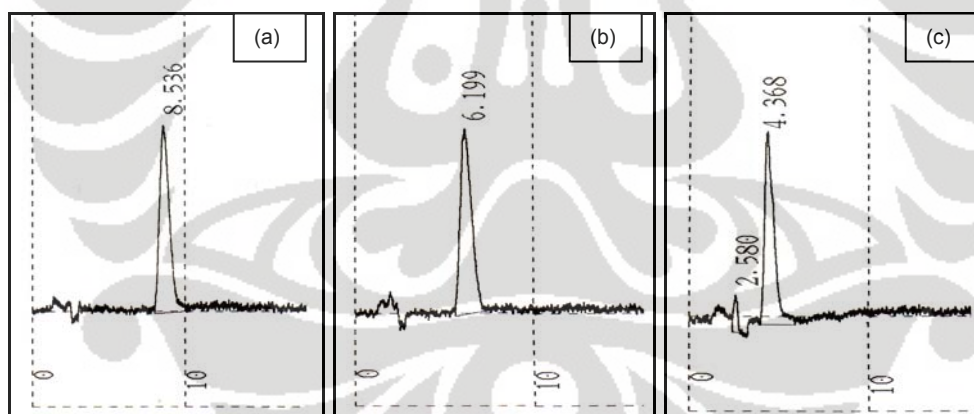
Pada pendeteksian standar *benzo[a]pyrene-tetrol* (BaPT), digunakan HPLC detektor fluoresensi dengan $\lambda_{\text{eksitasi}}$ 344 nm dan λ_{emisi} 398 nm, kolom fasa terbalik C18, dan *flow rate* 1mL/menit. Penggunaan instrumen HPLC-fluoresensi dimulai dengan melakukan pencarian kondisi optimum, uji verifikasi metode dengan beberapa parameter yakni batas deteksi dan batas kuantitasi instrumen, koefisien variasi dari fungsi persamaan serta uji linieritas.

Standar BaPT dianalisis pertama kali diinjek ke dalam 4 variasi eluen atau fasa gerak HPLC untuk memperoleh kondisi pemisahan yang optimum. Dari kromatogram yang didapat diketahui waktu retensi pada perbandingan

eluen metanol-air 55:45, 60:40, dan 70:30 berturut-turut ialah 8,5; 6,1; dan 4,3 menit.

Dari hasil yang didapat selanjutnya digunakan perbandingan fase gerak optimum yakni metanol-air (55:45) dengan waktu retensi (t_r) yang optimum karena sifat metanol yang lebih tidak polar daripada air menyebabkan BaPT yang bersifat nonpolar lebih mudah terbawa dalam fase gerak dengan jumlah metanol lebih banyak, serta luas area peak yang dihasilkan cukup besar sehingga menghasilkan pemisahan BaPT yang lebih baik. Selain efisiensi jumlah eluen juga diperoleh dengan penggunaan komposisi eluen tersebut.

Contoh kromatogram standar BaPT 100 ppb pada berbagai variasi komposisi eluen metanol-air dan waktu retensi (t_r), yaitu sebagai berikut :



Gambar 11. Kromatogram Standar 100 ppb pada komposisi eluen metanol (a) 55%, (b) 60%, dan (c) 70%

Validasi dimulai dengan pembuatan kurva kalibrasi standar BaPT yang terdiri dari 6 macam variasi konsentrasi dengan rentang 100 – 10 $\mu\text{g/mL}$ yang

menghasilkan nilai linieritas (r^2) yang baik yaitu 0,9996, dengan persamaan kurva kalibrasi $y = 107,42x - 1,476$. Selanjutnya uji presisi dilakukan sebanyak 6 kali dengan tiga variasi konsentrasi (60; 80; dan 100 ppb) diukur keterulangannya. Hasilnya ialah nilai koefisien variasi (% KV) dibawah 2,0% yang cukup untuk uji presisi, dimana hasil ini menunjukkan adanya presisi yang cukup baik²⁴ (data perhitungan tercantum pada lampiran 1 dan 2).

Langkah selanjutnya ialah uji batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ). Hasil perhitungan data menunjukkan bahwa batas deteksi instrumen HPLC-Fluoresensi yang digunakan dapat mendeteksi senyawa BaPT dari sampel dengan baik hingga konsentrasi terendah ialah sebesar nilai LOD (*Limit of Detection*) yang didapat yaitu 0,31 pg/mg globin. Instrumen ini dapat menghitung senyawa BaPT secara kuantitatif sebesar nilai LOQ (*Limit of Quantification*), yaitu 1,03 pg/mg globin. Nilai LOD yang lebih tinggi dari nilai LOD masih dapat ditolerir dalam menunjukkan batas kuantifikasi yang layak diperhitungkan dalam analisis statistik, namun hasilnya akan kurang sempurna dalam perhitungan kuantifikasi konsentrasi BaPT²⁴.

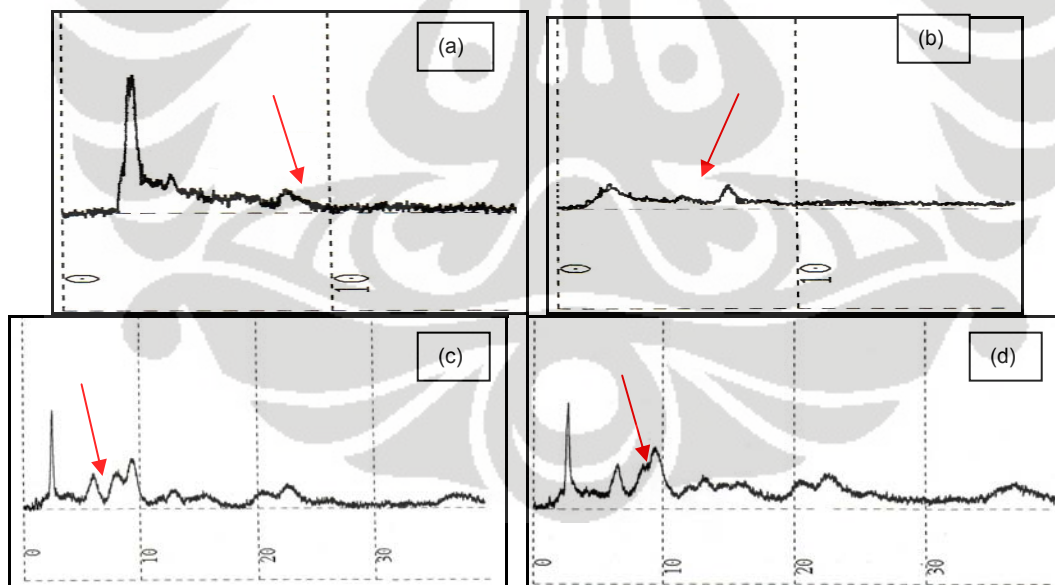
4.5 ANALISIS B[A]P-TETROL DARI HEMOGLOBIN-ADDUCT

Dari hasil kromatogram yang didapat, sampel dari pasien kanker paru menunjukkan adanya Hb-*Adduct* BaPT yang terlihat dari profil yang sama dengan kromatogram standar. Sedangkan dari kromatogram sampel polantas kurang membuktikan adanya *adduct* BaPT kecuali bila analisis dilakukan

lebih lanjut pada luas area puncak peak yang ada sesuai dengan waktu retensi standar.

Hasil kromatogram sampel polantas dan pasien kanker yang berupa luas area peak dibandingkan dengan luas area peak standar. Luas area yang didapat kemudian dikonversikan kedalam persamaan kalibrasi standar dan dihitung sebagai pg BaPT per mg globin untuk mengindikasikan banyaknya konsentrasi BaPT Hb-Adduct yang didapat dari tiap sampel.

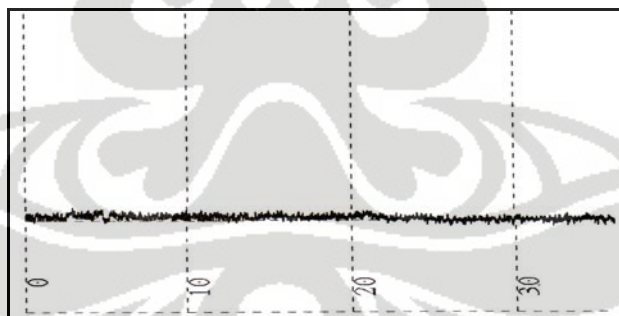
Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh konsentrasi BaPT Hb-Adduct tiap sampel dari tiap kelompok responden yang ditunjukkan pada tabel 5. Salah satu contoh kromatogram dari sampel polantas, polisi administrasi, pasien kanker, dan sampel pasien kanker paru yang sama namun diberi telah internal standar ditunjukkan pada gambar dibawah ini:



Gambar 12. Kromatogram (a) sampel polantas; (b) Sampel Polisi administrasi; (c) Sampel Pasien kanker paru; dan (d) Sampel pasien kanker paru (c) yang diberi internal standar

Pada penambahan internal standar (gambar 12 - d) terlihat kromatogram yang identik dengan kromatogram sampel yang sama, meskipun terjadi pergeseran waktu retensi namun tetap merupakan *peak* yang sama dan telah muncul di kromatogram sebelumnya. Dari data yang didapat, terlihat adanya penambahan luas area pada sampel yang diberi internal standar. Hal ini membuktikan bahwa senyawa yang terdeteksi pada waktu retensi 8,5 menit merupakan senyawa BaPT yang sama dengan standar BaPT yang digunakan.

Tidak terdeteksinya puncak pada kromatogram eluen (Gambar 13) serta hanya terdeteksinya satu puncak kromatogram standar BaPT (Gambar 9) membuktikan bahwa puncak-puncak kromatogram lain yang terdeteksi pada sampel (Gambar 11) merupakan senyawaan *adduct* lain yang terdapat pada sampel globin setelah di hidrolisis.



Gambar 13. Kromatogram eluen Metanol/H₂O (55:45)

Banyaknya puncak-puncak lain yang terdeteksi pada selain pada waktu retensi standar juga telah diperkirakan merupakan peak dari adduct senyawa golongan PAH maupun berasal dari 4 isomer BaPT dengan waktu

retensi berbeda pada panjang gelombang yang sama²⁷. Dikarenakan tidak tersedianya standar yang memenuhi, sehingga sehingga belum bisa dipastikan jenis dari senyawaan hidrolisat dari *adduct* lain yang terdeteksi tersebut.

Telah diketahui bahwa senyawa metabolit B[a]P terbanyak dalam tubuh manusia dan mamalia ialah *+(anti)r-7,t-8-dihydroxy-t-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrene* atau BPDE²⁷. Bila terhidrolisis dari bentuk epoksida, senyawa BPDE akan membentuk 4 buah isomer BaPT yaitu BaPT I-1, BaPT I-2, BaPT II-1, dan BaPT II-2. Isomer BaPT I-1, BaPT I-2 yang paling banyak ditemukan dalam literatur. Dalam penelitian ini, standar yang dipakai dapat diperkirakan merupakan standar BaPT I-1 yang sesuai dengan waktu retensi yang diperoleh dalam jurnal terdahulu²⁷ yaitu $t_r = 8,5$ menit.

4.6 HASIL ANALISIS *BENZO[A]PYRENE TETRAHYDROTETROL* DAN FAKTOR LAIN YANG MEMPENGARUHI

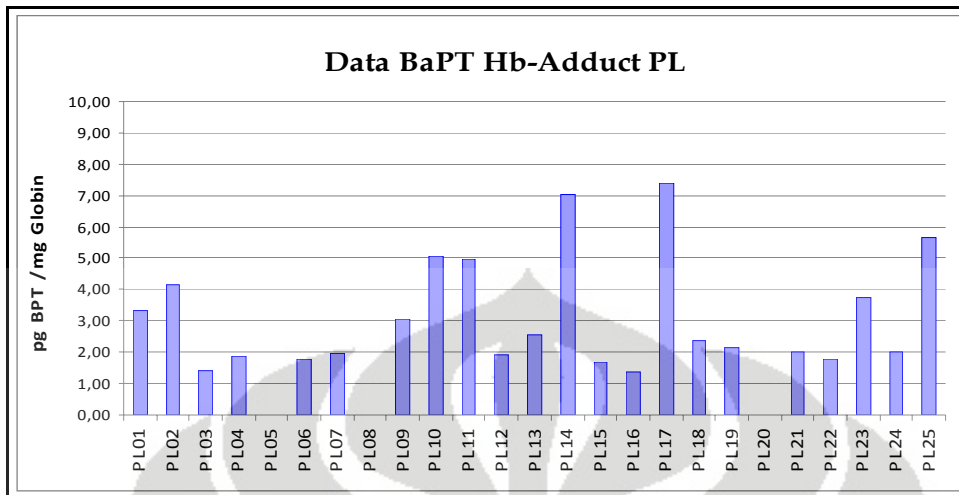
Berdasarkan hasil analisis sampel darah dari seluruh responden, diperoleh konsentrasi hemoglobin *adduct* yang terdeteksi sebagai BaPT atau *benzo[a]pyrene tetrahydrotetrol* sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 13.

Sampel dengan kode PL05, PL08, dan PL 20, tidak dimasukkan dalam data untuk analisis Hb-*Adduct* kali ini. Hal ini dikarenakan kesalahan mekanis pada sampel PL05 dan data dari PL08 dan PL20 yang dapat menjadi galat atau *error* akibat terlalu tingginya konsentrasi yang didapat dibanding dari

rata-rata konsentrasi BaPT pada sampel polantas. Dengan demikian, terdapat 22 sampel yang seterusnya dipergunakan dalam analisis selanjutnya. Perhitungan analisis statistik penarikan sampel dari populasi lebih dari 50 orang polantas, masih mengikuti aturan NIOSH yang hanya meminimalisasi jumlah sampel sebanyak 22 sampel.

Sampel dengan penomoran PL01, PL02, PL06, PL08, PL13, PL14, PL17, PL19, PL21, PL23, PL24, dan PL25 merupakan sampel yang diperoleh dari polisi lalu lintas yang merupakan perokok aktif berdasarkan data kuesioner. Sedangkan sisanya merupakan sampel dari polisi lalu lintas yang non-perokok.

Pada sampel darah polantas yang perokok, yaitu sebanyak 11 sampel (50%), konsentrasi BaPT Hb-*Adduct* pada polantas yang didapat berkisar dari 1,78 – 7,38 pg per mg globin dengan rata-rata konsentrasi BaPT ialah sebesar 3,80 pg/mg globin. Untuk sampel darah polantas dengan kategori non-perokok dengan jumlah 11 sampel (50%), rata-rata konsentrasi BaPT-*adduct* yang didapat ialah sebesar 2,51 pg/mg globin dengan rentang dari 1,36 – 5,06 pg/mg globin. Dengan total keseluruhan konsentrasi *adduct* yang diperoleh dari polantas memiliki rata-rata sebesar 3,15 pg/mg globin dengan rentang 1,36 – 7,38 pg BaPT per mg globin (Gambar 14).



Gambar 14. Konsentrasi BaPT Hb-*adduct* pada polantas

Data konsentrasi yang diperoleh menunjukkan nilai yang cukup variatif. Hal ini diakibatkan kondisi keseharian dan tingkat paparan yang berbeda pada setiap responden yang diketahui lebih jauh dari data kuesioner yang diperoleh saat melakukan pengambilan sampel. Dari data-data kuesioner, dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti misalnya frekuensi pemakaian masker, waktu kerja, jenis kendaraan yang digunakan, usia, dan lain sebagainya.

Pada sampel polantas yang merokok, konsentrasi BaPT tertinggi diperoleh pada sampel PL17 (7,98 pg/mg globin). Setelah ditelusuri dari data hasil kuesioner, responden ini telah berkerja menjadi polisi lalulintas selama 16 tahun, tidak pernah memakai masker selama bekerja, dengan kondisi kesehatan yang kadang mengalami gangguan pernafasan seperti batuk, dan kendaraan yang digunakan ke tempat kerja maupun di tempat kerja ialah sepeda motor.

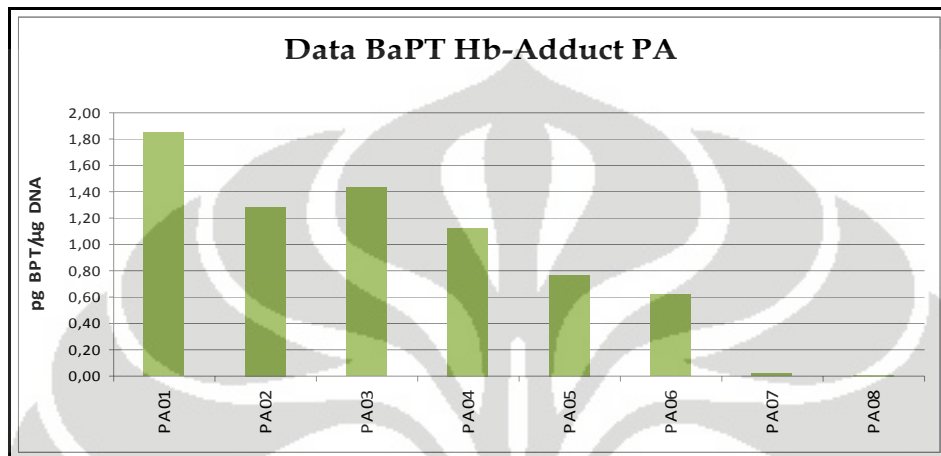
Sampel PL06, PL13, PL19, PL21, dan PL24, memiliki konsentrasi adduct yang lebih kecil dari rata-rata sampel perokok lainnya. Dengan menelaah pada informasi riwayat hidup responden yang terdata pada angket, diketahui bahwa responden PL06, PL13, PL24 telah berhenti merokok sebelum penelitian ini dilakukan. Sedangkan responden PL19 hanya kadang-kadang merokok dengan alasan keinginan, walaupun dalam kuesioner tertera responden ini telah merokok selama 5 – 10 tahun.

Konsentrasi BaPT terendah yang diperoleh dari sampel polantas yang perokok ialah 1,78 pg/mg globin pada sampel darah PL06. Hal tersebut dikarenakan responden ini baru berkerja selama 6 tahun dengan usia 26 tahun, tidak pernah mengalami gangguan pernafasan walaupun menggunakan motor sebagai kendaraannya. Metabolisme yang masih baik terutama detoksifikasi pada usia yang muda dapat mempengaruhi kecilnya konsentrasi yang didapat.

Sedangkan pada sampel polantas non-perokok, konsentrasi tertinggi (5,06 pg BaPT/mg globin) terdapat pada sampel PL10. Polantas dengan penomoran sampel darah PL10 ini telah bekerja selama 12 tahun, tidak pernah mengalami gangguan respirasi, tidak pernah mengenakan masker, dan menggunakan motor di keseharian aktivitasnya. Sehingga terdapat faktor lain yang berpengaruh terhadap besarnya konsentrasi yang diperoleh.

Dari sampel polantas kategori non-perokok, diketahui bahwa konsentrasi terendahnya ada pada sampel PL16 (1,36 pg/mg globin). Rendahnya konsentrasi adduct yang diperoleh diperkuat dengan data

kuesioner yang menunjukkan bahwa responden memiliki usia 27 tahun, tidak pernah mengalami gangguan pernafasan, dan sering menggunakan masker saat bekerja.



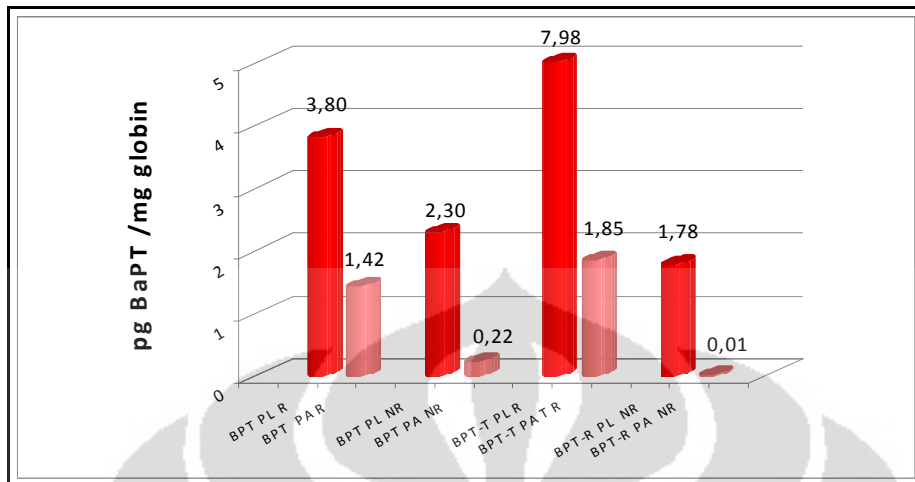
Gambar 15. Konsentrasi BaPT Hb-*adduct* pada polisi administratif

Pada analisis data polisi bagian administratif (Gambar 15), rata-rata konsentrasi BaPT yang diperoleh ialah 0,89 pg/mg globin dengan rentang konsentrasi 0,01 – 1,85 pg/mg globin. Rata-rata dari perokok dan dari non-perokok sebesar 1,42 dan 0,36 pg BaPT/mg globin berturut-turut. Responden dengan sampel darahnya dikode dengan nomor PA01-PA04 merupakan responden yang memiliki faktor eksternal yang dapat mempengaruhi tingginya konsentrasi yang didapat. Keempat responden ini merupakan perokok aktif dimana 2 diantaranya memiliki 3 – 4 orang perokok aktif di tempat tinggalnya, sedangkan 2 sisanya baru merokok \pm 2 jam sebelum sampling darahnya dilakukan. Sampel PA05-PA08 merupakan sampel darah dari polisi bagian administratif yang tidak merokok, sehingga memiliki konsentrasi BaPT yang lebih rendah dari lainnya.

Sampel PL01 dengan konsentrasi tertinggi sebesar 1,85 pg BaPT per mg globin. Selain adanya perokok aktif lain pada tempat tinggal yang sama, responden ini hanya kadang-kadang menggunakan masker saat berkerja. Sedangkan pada sampel PA08, konsentrasi terendah (0,01 pg BaPT/mg globin) yang dimiliki dipengaruhi oleh jenis kendaraan yang dipakai ialah mobil dan frekuensi pemakaian masker yang sering saat berkerja.

Dapat terlihat bahwa nilai konsentrasi BaPT dari sampel PA05 – PA08 berada dibawah nilai LOD instrumen yang didapatkan. Namun data ini masih digunakan dalam analisis dikarenakan masih dapat terdeteksinya peak terendah yang dideteksi oleh alat. Hal ini sesuai dengan metode analisis menggunakan *Signal to Noise Ratio* (SNR) yang menyatakan bahwa peak sampel dapat diukur secara relatif terhadap tinggi peak noise yang diperoleh dari blanko dan rasionya harus diukur terhadap kedua peak tersebut²⁸. Dalam penelitian ini digunakan SNR sebesar 2:1 dengan tinggi peak tertinggi blanko ialah $\pm 40 \mu\text{V}$ sedangkan peak terendah sampel adalah $\pm 100 \mu\text{V}$.

Sesuai gambar 16, terlihat bahwa terdapat perbedaan yang cukup signifikan dari perbandingan rata-rata konsentrasi BaPT antara polantas dan polisi administratif baik pada kategori perokok maupun non-perokok. Terhitung bahwa selisih antara konsentrasi rerata BaPT dari polantas dan polisi administratif pada kategori perokok ialah sebesar 2,38 pg dan 2,08 pg pada kategori non-perokok. Selisih konsentrasi tertinggi polantas dan polisi administratif ialah sebesar 6,04 pg dan selisih konsentrasi BaPT terendah ialah sebesar 1,77 pg.



Gambar 16. Konsentrasi BaPT pada responden polisi

Keterangan: Sesuai urutan kiri ke kanan, diagram menunjukkan konsentrasi BaPT pada: polantas perokok; poladm perokok; polantas non-perokok; poladm non-perokok; konsentrasi tertinggi polantas perokok; konsentrasi tertinggi poladm perokok; konsentrasi terendah polantas non-perokok; konsentrasi terendah poladm non-perokok.

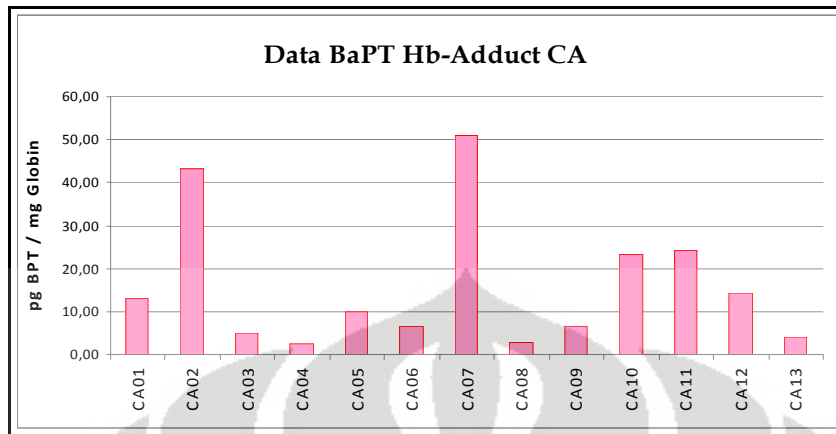
Analisis ini diperkuat dengan hasil uji analisis statistik *Anova single-factor* $t_{independen}$ (confidence interval = 95 %; *P-value* = 0,001) yang membuktikan bahwa nilai F lebih besar daripada nilai $F_{critical}$ (data tercantum pada Lampiran 3). Hasil ini menunjukkan bahwa responden polisi lalulintas memiliki konsentrasi senyawa BaPT hemoglobin-*Adduct* dan tingkat paparan yang lebih tinggi daripada konsentrasi senyawa BaPT hemoglobin *adduct* di polisi bagian administrasi.

Konsentrasi BaPT pada sampel polantas baik kategori perokok maupun non perokok dibandingkan dengan BaPT polisi administratif kategori yang sama ditunjukkan oleh luas puncak kromatogram yang didapat,

menunjukkan bahwa selisih perbedaan konsentrasi BaPT tersebut merupakan konsentrasi BaPT yang salah satu sumbernya berasal dari polusi udara hasil pembakaran bahan bakar bermotor. Dari kondisi tersebut terlihat indikasi bahwa paparan udara yang mengandung PAH tinggi lebih dominan memberikan efek terbentuknya *adduct* senyawa BaPT dalam individu yang terpapar.

Seperti diketahui, proses pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor melepaskan beberapa senyawa ke udara termasuk kedalamnya senyawaan hidrokarbon, dimana termasuk kedalamnya senyawaan PAH. Telah tercatat bahwa senyawaan hidrokarbon yang terlepas ke udara di kota Jakarta ialah sebanyak 30.163 ton per tahunnya².

Dengan demikian, responden polisi lalu lintas merupakan salah satu individu pekerja yang memiliki risiko cukup tinggi atas terpaparnya senyawaan PAH khususnya *benzo[a]pyrene* yang berasal dari hasil pembakaran kendaraan bermotor di ruas-ruas jalan dengan kemacetan tinggi. Namun hasil yang diperoleh belum cukup untuk menilai tingkat paparan lebih jauh dari polusi atau udara pencemar di daerah padat lalu lintas, dikarenakan masih besarnya pengaruh rokok dalam kontribusinya untuk mengakibatkan tingginya konsentrasi *adduct* yang diperoleh. Sehingga hubungan ini masih dapat diperkuat dengan analisis tingkat paparan senyawa B[a]P dalam rokok serta dari beberapa sumber yang dapat berkontribusi atas adanya paparan senyawa ini.



Gambar 17. Konsentrasi BaPT Hb-*adduct* pada pasien kanker paru

Pada analisis identifikasi ada tidaknya senyawa BaPT yang membuktikan terjadinya hemoglobin *adduct* pada pasien kanker yang diduga telah terpapar senyawa B[a]P, terlihat bahwa dari seluruh responden pasien yang diambil sampel darahnya terdapat sebanyak 100 % sampel yang terdeteksi adanya senyawa BaPT hasil hidrolisis asam ada globin dalam darahnya (Gambar 17).

Seluruh pasien merupakan perokok aktif yang rata-rata baru berhenti sekitar 1 minggu hingga 9 bulan sebelum didiagnosis menderita penyakit kanker paru. Sebanyak 60% pasien menderita adenokarsinoma, sisanya didagnosis menderita tumor paru, dan *non-small cell cancer*. Pada pasien kanker dengan jenis adenokarsinoma, sebanyak 1 responden berada pada stadium II, 2 responden stadium IV dan 7 responden (60%) berada pada stadium III.

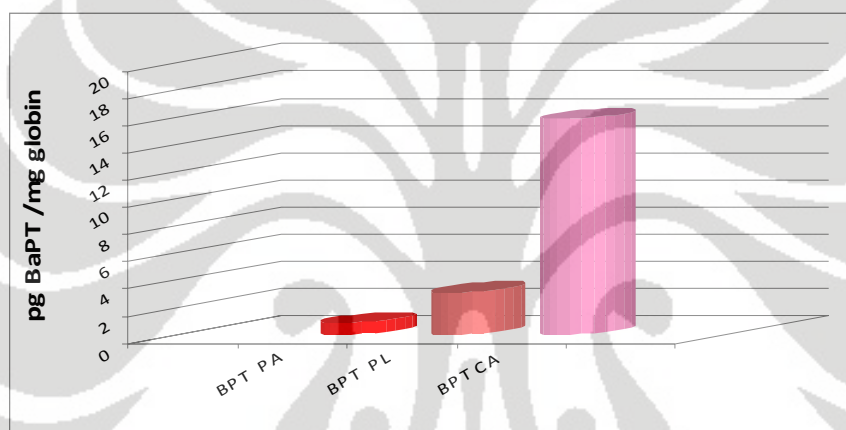
Besar konsentrasi BaPT Hb-*Adduct* yang diperoleh pada sampel darah pasien kanker paru bervariasi dengan rentang 2,58 – 50,94 pg/mg

globin, dan memiliki rata-rata konsentrasi BaPT sebesar 15,89 pg/mg globin. Konsentrasi tertinggi terdapat pada sampel CA07 (50,94 pg BaPT), dimana dari kuesioner diketahui berusia 45 tahun dengan jenis penyakit *non-small cell cancer* stadium III, baru berhenti merokok sekitar 2 bulan sebelum didiagnosis mengidap penyakit kanker dan dirawat di RSUP Persahabatan Jaktim. Sedangkan konsentrasi terendah ada pada sampel CA04 (2,58 pg BaPT), dimana setelah ditelusuri lebih lanjut pada data kuesionernya diketahui bahwa responden mengidap penyakit kanker jenis *adenocarcinoma* stadium IV dengan usia 62 tahun, baru berhenti setelah didiagnosis oleh dokter yang bersangkutan.

Dengan jenis pekerjaan yang bervariasi dan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang besar bagi kesehatannya, responden pasien kanker menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi BaPT Hb-Adduct yang dimiliki disumbang sebagian besar oleh senyawa B[a]P yang berada dalam rokok, dimana dalam setiap batang rokok filter telah ditemukan ada sebanyak 0.004 – 0.108 µg B[a]P yang terkandung didalamnya²⁰. Selain daripada itu, karakteristik interindividual seperti perbedaan usia, kecepatan dan kemampuan mekanisme metabolisme masing-masing tubuh individu, kondisi kesehatan yang berpengaruh terhadap kondisi sel darah merah, aktifitas dan kebiasaan sehari-hari, asupan makanan dan lain sebagainya juga ikut mempengaruhi besarnya konsentrasi BaPT Hb-Adduct dalam tubuh tiap responden. Adanya kontribusi paparan polusi udara yang mengandung PAH

tinggi juga merupakan salah satu faktor terbentuknya *adduct* dalam individu yang terpapar.

Data ini belum dapat mengestimasi adanya pengaruh-pengaruh misalnya dari jenis penyakit, stadium, usia, dan lain sebagainya. Hal-hal tersebut masih memerlukan analisis lebih lanjut, dikarenakan penelitian ini hanya bertujuan untuk mengidentifikasi adanya senyawa BaPT pada pasien penderita kanker paru.



Gambar 16. Rangkuman data konsentrasi BaPT Hb-Adduct

Keterangan: Data menunjukkan konsentrasi rata-rata BaPT dari responden polisi bagian administratif (PA), polantas (PL), pasien kanker paru (CA)

Dengan demikian, terlihat bahwa ketiga responden dapat diidentifikasi terpapar senyawa B[a]P pada tubuhnya sesuai dengan diagram konsentrasi rata-rata BaPT Hb-Adduct yang terlihat pada gambar 16. Dari hasil keseluruhan yang diperoleh, pasien kanker paru terbukti memiliki senyawaan *adduct benzo[a]pyrene* yang terdeteksi sebagai *benzo[a]pyrene-tetrahydro*

tetrol (BaPT) dalam konsentrasi yang cukup tinggi bahkan lebih tinggi dari polisi lalu lintas dan dari polisi administrasi. Proses karsinogenesis yang disebabkan oleh salah satu faktor penyebab adanya paparan bahan karsinogenik pada tubuh manusia ternyata terbukti dapat dianalisis dengan menggunakan metode makromolekular seperti hemoglobin-*Adduct* ini.

Dengan memperbanyak dan memperkuat analisis mengenai karsinogenesis dan kanker, maka hasil yang didapat diharapkan bisa memberikan kontribusi terkini bagi dunia dan bidang medikal khususnya, terutama di Indonesia. Yaitu dengan mengembangkan berbagai metode deteksi dini risiko kanker seperti salah satunya ialah metode Hemoglobin-*Adduct* yang digunakan dalam penelitian ini dimulai dari sekarang.

BAB V

KESIMPULAN

5.1. KESIMPULAN

1. Senyawa *benzo[a]pyrene-tetrol* (BaPT) yang merupakan senyawa produk hidrolisat hasil metabolit senyawa B[a]P *hemoglobin adduct*, terdeteksi didalam darah polisi lalulintas, polisi bagian administratif dan pasien kanker paru-paru.
2. Ada perbedaan konsentrasi BaPT yang cukup signifikan pada polantas dan polisi administrasi, dimana responden polisi lalulintas memiliki konsentrasi senyawa BaPT Hemoglobin-*adduct* dan tingkat paparan yang lebih tinggi daripada konsentrasi senyawa BaPT Hemoglobin *adduct* di polisi bagian administrasi.
3. Paparan senyawa B[a]P yang terus-menerus dari polusi udara pada lingkungan dapat secara signifikan membentuk *hemoglobin-Adduct* yang terdeteksi sebagai B[a]P-*tetrol*.

5.2. SARAN

1. Konsentrasi analit yang amat kecil (ppb; pikogram; dll) pada penelitian dengan metode Hemoglobin-*adduct* membutuhkan

ketelitian, kecermatan, dan khususnya instrumen yang memadai terutama di Departemen Kimia UI.

2. Biomonitoring terhadap konsentrasi senyawa PAH sebagai salah satu pencemar udara perlu dilakukan secara kontinyu di kota Jakarta sebagai kota dengan tingginya tingkat polusi dengan tingkat kemacetan tertinggi di Indonesia
3. Metode deteksi *Adduct* disarankan untuk dikembangkan lebih jauh dan digunakan dalam upaya mendeteksi dini risiko kanker akibat paparan dari senyawa kimia karsinogenik yang mampu membentuk *adduct* baik pada DNA maupun protein dalam tubuh yang dapat mengakibatkan terjadinya proses karsinogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Monitor Environment Indonesia. 2003. *Pemantauan Lingkungan Indonesia*. Tim Bank Dunia. Jakarta. 51
2. BPLHD DKI Jakarta. Udara Jakarta Semakin Tidak Sehat. www.kompas-cetak.com. 27 Februari 2008 - 13:30 WIB.
3. Data Poliklinik Onkologi Departemen Pulmonologi FKUI-RSUP Persahabatan, Rawa Mangun, Jakarta Timur. 2004-2006
4. Subramanian, J. & Govindan, R. 2007. Lung cancer in never smokers: a review. *Journal of Clinical Oncology*. **25** (5): 561-570
5. Castaño G., D'Errico A., N. Malats & M. Kogevinas. 2004. Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental air pollution. *Occup. Environ. Med.* 2004;61;12-doi
6. IARC. 2002. Cancer Incidence, Mortality and Prevalence. Crude and Age-Standardised (World) rates, per 100,000 GLOBOCAN. *International Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs* . Vol. 32, Suppl. 7;.
7. Sagredo C., Olsen R., Greibrokk T., Molander P. & Ovrebo S. 2005. Epimerization and Stability of Two New cis-B[a]P by the use of liquid Chromatography-flourescence and Mass Spectrometry. *Chem.Res. Toxicol.* 19, 392-398

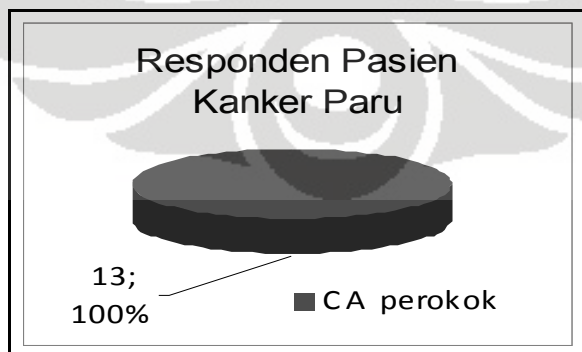
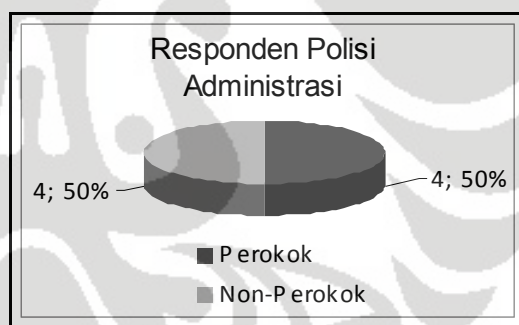
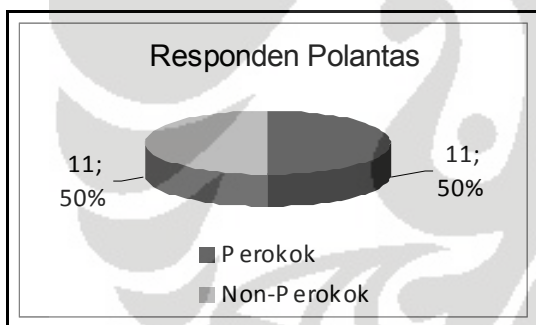
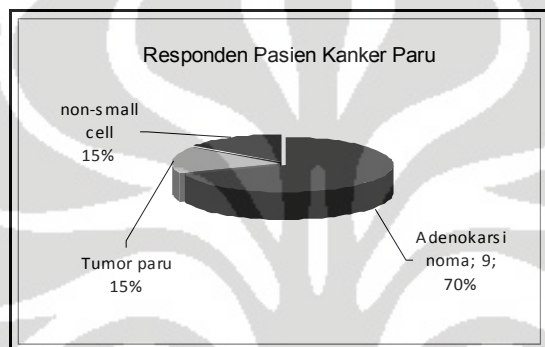
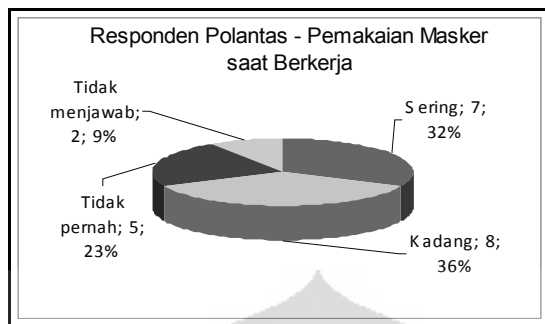
8. Miriam C.P., Regina M.S. & Weston A. 2000. Carcinogen Macromolecular adducts & their measurement. *Carcinogenesis*. Vol.21 no.3 pp.353-359.
9. Vineis, P., Husgafvel-Pursianen & Kirsti. 2005. Air Pollution and Cancer: biomarker in human populations. *Carcinogenesis*. Vol. 26. no.11. pp. 1846 – 1855.
10. Boogaard, Peter J. 2002. Use of haemoglobin adducts in exposure monitoring and risk assessment. *Journal of Chromatography*. B, 778 309–322
11. Bundesgesundheitsblatt. 2003. Use of Hemoglobin Adducts as Biomarkers to Monitor Exposure to Genotoxic Substances. *Gesundheitsschutz*. 46
12. Carmella, S.G. 2002. Ethylation and methylation of hemoglobin in smokers and non-smokers. *Carcinogenesis*. Vol.23 no.11 pp.1903-1910
13. Jansstraat, Z. 2003. 2003. Monitoring Human Occupational and Environmental Exposures to Polycyclic Aromatic Compounds. *Ann.Occup.Hyg*. Vol. 47, No. 5, pp. 349–378, 2003
14. Hurst, Harrel & Myers S. 2000. Biomarkers for Air Pollutants: Development of Hemoglobin Adduct Methodology for Exposure Assessment. Dept. Pharmacology & Toxicology, University of Louisville School of Medicine.

15. Li, H., Wang, H., Sun, H., Liu, Y. & Liu, K. 2002. Binding of nitrobenzene to hepatic DNA and hemoglobin at low doses in mice. *Toxicology Letters*. 139 (2003) 25/32 2002
16. Kamrin, M.A. 2004. *Biomonitoring Basics*. Michigan State University
17. Galbraith, D.A. 2005. Human biomonitoring, An Overview. ISRTP Workshop: Chemrisk
18. Helleberg H. & Tornqvist M. 2000. A new approach for measuring protein adducts from benzo[a]pyrene dilepoxide by high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14, 1644–1653 (2000)
19. California Environmental Protection Agency. 1997. Public Health Goal for Benzo[a]pyrene in Drinking Water. Pesticide and Environmental Health Hazard assessment. CEPA
20. Eisenbrand, G. & Hecht. 2002. Establishment and Application of Methods for the Detection of DNA and Protein Adducts from Tobacco-Specific Nitrosamines and Benzo[a]pyrene. Minneapolis Minnesota, USA
21. Kim, James, H., Stansbury & Kevin, H. 1998. Metabolism of Benzo[a]pyrene and Benzo[a]pyrene-7,8-diols by Human Cytochrome P450 1B1. *Carcinogenesis*. Vol. 19 no. 10 pp. 1847-1853, 1998
22. Dorland, N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland edisi 29*. EGC. Jakarta.

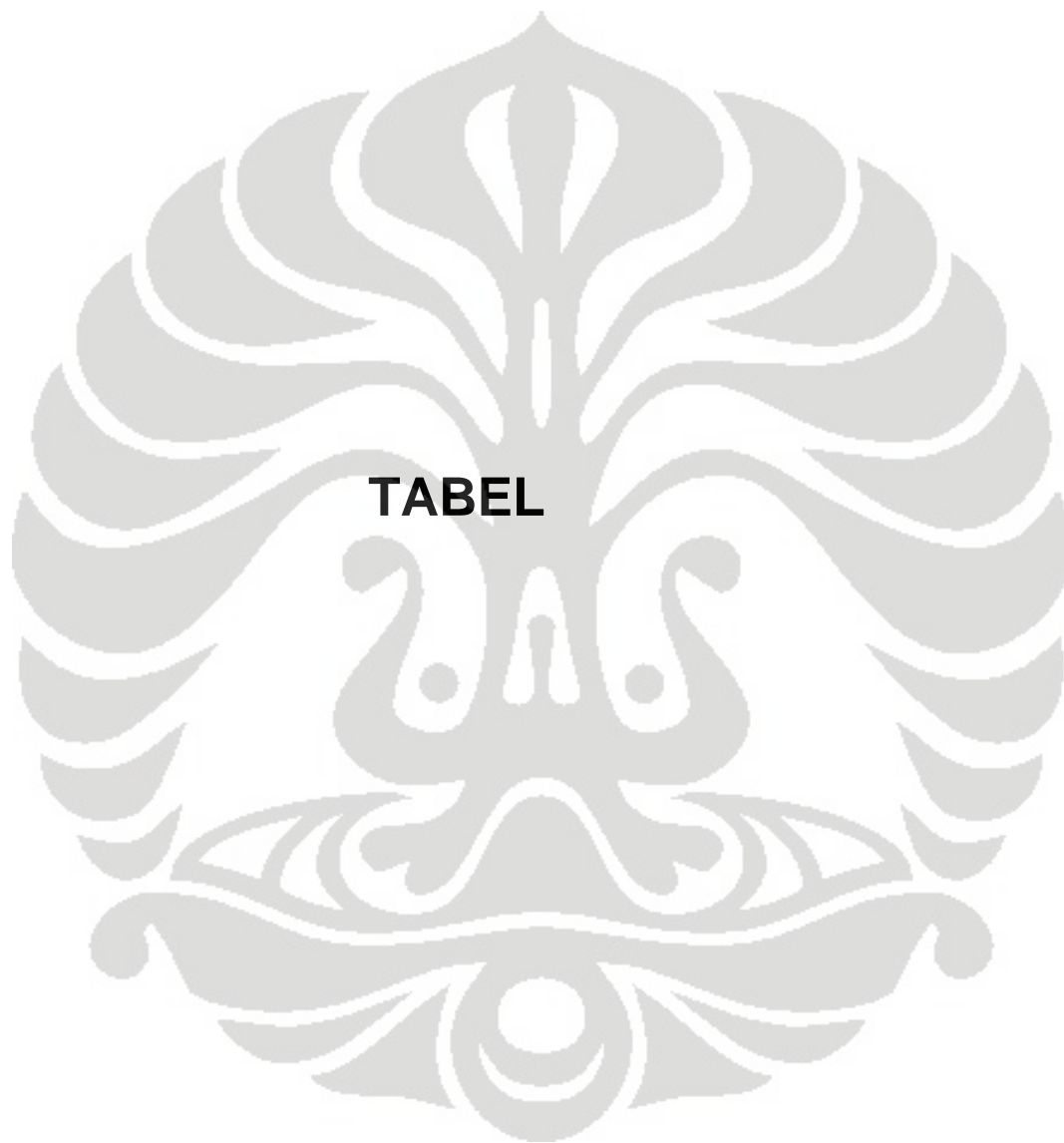
23. NCI. 2007. Lung cancer, non-small cell: Treatment - Patient Information [NCI PDQ]. *NCI Public Inquiries Office: National Cancer Institute's (NCI's)*
24. World Health Organization. 1992. Validation of analytical procedures used in the examination of pharmaceutical materials. *WHO Technical Report*. Series No.823 p117
25. Dewanto, Y. H. 2007. Studi *Benzo[a]pyrene - Hemoglobin Adduct* pada Pedagang Asongan yang Berisiko Tinggi Terpapar Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH). Depok : Departemen Kimia FMIPA UI
26. Budiawan & Khairani, N. 2008. Modul Pelatihan Biomonitoring Bahan Kimia Beracun dan Berbahaya. Depok : Pusat Kajian Risiko dan Keselamatan Lingkungan FMIPA UI
27. Alexandrov, K., Margarita R., et al. 1992. An Improved Fluorometric Assay for Dosimetry of BaP-Diol-Epoxy DNA Adducts in Smokers Lung: Comparisons with Total Bulky Adducts and Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Activity. *Cancer Research*. 52, 6248-6253
28. Hietava M. 2005. Validations –part 5; Workshop on GMP and Quality Assurance of TB products. *World Health Organization*.













Tabel 4. Sifat fisis dari *Benzo[a]pyrene*

• Tekanan uap	:	$7,47 \times 10^{-7}$ mm Hg (25° C)
• Titik leleh	:	178,1-179,3° C
• Titik didih	:	496° C
• Log KoW	:	6,06 pada 25° C
• Kelarutan dalam air	:	3,8 µg/L pada 250° C
• Konstanta Henry's	:	$4,9 \times 10^{-7}$ atm-m ³ /mol
• Faktor Konversi	:	1 ppm = 10,32 mg/m ³
• Nomor <i>Chemical Abstracts Service</i> (CAS)	:	50-32-8
• Melarut baik dalam ethanol dan methanol, larut dalam benzene, toluene, aseton, DMSO dan eter.		

Tabel 5. Data seluruh responden dari kuesioner

(A) Data kuesioner responden pasien kanker paru

No	KODE SAMPEL	STADIUM KANKER	JENIS KANKER	KEMO-TERAPI	ROKOK	KETERANGAN
					AKTIF	
1	CA01	II	Adenokarsinoma		Ya	> 10 th, berhenti 3 bln yl
2	CA02	III	Tumor paru		Ya	> 10 th, 1,5 bks/hr, baru berhenti
3	CA03	III	Adenokarsinoma		Ya	> 10 th, baru berhenti
4	CA04	IV	Adenokarsinoma		Ya	> 10 th, baru berhenti
5	CA05	IV	Kanker Sel Besar		Ya	> 10 th, berhenti 9 bln yl
6	CA06	III	Adenokarsinoma	baru 1 x	Ya	> 10 th, berhenti 3 bln yl
7	CA07	III	Non-small sel Ca		Ya	> 10 th, berhenti 2 bln yl
8	CA08	IV	Adenokarsinoma		Ya	> 10 th, berhenti 1 bln yl, 3 btg/hr
9	CA09	III	Adenokarsinoma		Ya	> 10 th, berhenti 1 bln yl, 1 bks/hr
10	CA10	III	Tumor paru		Ya	> 10 th, berhenti 2 mgg yl, 2 btg/hr
11	CA11	III	Adenokarsinoma	baru 1 x	Ya	> 10 th, berhenti 7 bln yl, 1 bks/hr
12	CA12	III	Adenokarsinoma	baru 1 x	Ya	> 10 th, berhenti 6 bln yl, 1 bks/hr
13	CA13	III	Adenokarsinoma	baru 1 x	Ya	> 10 th, berhenti 2 tahun yl

(B) Data kuesioner responden polisi lalu lintas

No	KODE SAMPEL	GANGGUAN PERNAFASAN	RIWAYAT KERJA			MEROKOK	
			MASKER SAAT BEKERJA	LAMA KERJA (THN)	TRANSPOR-TASI	AKTIF	KETERANGAN
1	PL01	Kadang batuk	Tidak pernah	6	Bus umum	Ya	-
2	PL02	-	Sering	14	Bus umum	Ya	1-2th, 1 jam terakhir
3	PL03	Kadang batuk	Kadang	13	Motor	Tidak	-
4	PL04	Kadang batuk	Sering	13	Motor	Tidak	-
5	PL05	Tidak ada	Kadang	12	Motor	Tidak	-
6	PL06	Tidak ada	Tidak pernah	6	Motor	Tidak	Berhenti 5th lalu
7	PL07	Kadang batuk	Kadang	44	Mobil	Tidak	-
8	PL08	Kadang batuk	Sering	21	Motor	Tidak	-
9	PL09	Tidak ada	Kadang	8	Motor	Tidak	-
10	PL10	Tidak ada	Tidak	12	Motor	Tidak	

			pernah				
11	PL11	Tidak ada	Kadang	14	Motor	Tidak	-
12	PL12	Kadang batuk	Kadang	7	Motor	Tidak	-
13	PL13	Kadang batuk	Sering	14	Motor	Ya	Berhenti 1bln lalu
14	PL14	Tidak ada	Sering	13	Mobil	Ya	Berhenti 1bln lalu
15	PL15	Tidak ada		7	Motor	-	-
16	PL16	-	Tidak pernah	6	Motor	Tidak	-
17	PL17	Kadang batuk	Tidak pernah	6	Motor	Tidak	<1th merokok, 3btg/hr, 16 jam terakhir
18	PL18	Tidak ada	Kadang	26	Motor	Tidak	
19	PL19	Tidak ada	Sering	9	Motor	Ya	5-10th merokok. 8btg/hari, 9 jam terakhir
20	PL20	Kadang batuk	Kadang	16	Motor	-	-
21	PL21	Kadang batuk	Sering	10	Mobil	Ya	>10th merokok, 1bks/hr, 1 jam terakhir
22	PL22	Tidak ada	Kadang	17	Mobil	-	-
23	PL23	Kadang batuk		20	Motor	Tidak	Berhenti 10bln lalu
24	PL24	Tidak ada	Sering	8	Motor	Tidak	Berhenti 4th lalu
25	PL25	Kadang batuk	Kadang	13	Motor	Ya	1-2th merokok. 6btg/hari, 1jam terakhir

(C) Data kuesioner responden polisi bagian administrasi

No	KODE SAMPEL	GANGGUAN PERNAFASAN	RIWAYAT KERJA			MEROKOK	
			LAMA KERJA (THN)	MASKER SAAT BEKERJA	TRANSPOR-TASI	AKTIF	KETERANGAN
1	PA01	Tidak ada	3	Kadang-kadang	-	Ya	1 perokok disekitar
2	PA02	Tidak ada	10	Sering	-	Ya	2-5 th, 6 btg/hr, 4 perokok disekitar
3	PA03	Tidak ada	23	Tidak pernah	-	Ya	> 10 th, 1 bks/hr, merokok 1 jam yl
4	PA04	Tidak ada	14	Kadang-kadang	Motor	Ya	5-10 th, 1 bks/hr, merokok 2 jam yl
5	PA05	Tidak ada	7	Kadang-kadang	-	Tidak	3 perokok disekitar
6	PA06	Tidak ada	7	Tidak pernah	-	Tidak	Berhenti merokok 2 th yl
7	PA07	Tidak ada	6	Tidak pernah	-	Tidak	-
8	PA08	Tidak ada	18	Sering	Mobil	Tidak	-

Keterangan : Seluruh kelompok responden berjenis kelamin laki-laki

Tabel 6. Data seluruh perolehan konsentrasi *adduct* BaPT

(A) Data responden pasien kanker paru (CA)

SAMPEL	USIA	Luas Area Puncak Kromatogram	Konsentrasi B[a]P-tetrol I-1 ($\mu\text{g/L}$ sample dalam 50 L methanol 100%)	pg B[a]P-tetrol /mg Globin	Perokok
CA01		1402	13,068	0,01	Ya
CA02	58	4623	43,058	43,06	Ya
CA03	65	521	4,865	4,86	Ya
CA04	63	276	2,584	2,58	Ya
CA05	62	1057	9,855	9,86	Ya
CA06	59	714	6,662	6,66	Ya
CA07	50	5469	50,936	50,94	Ya
CA08	45	201	1,885	1,89	Ya
CA09	59	714	6,662	6,66	Ya
CA10	54	0	0,000	0,00	Ya
CA11	43	2609	24,306	24,31	Ya
CA12	50	1548	14,427	14,43	Ya
CA13	49	432	4,036	4,04	Ya

(B) Data responden polisi lalu lintas (PL)

SAMPEL	USIA	Luas Area Puncak Kromatogram	Konsentrasi B[a]P-tetrol I-1 ($\mu\text{g/L}$ sample dalam 50 L methanol 100%)	pg B[a]P-tetrol /mg Globin	Perokok
PL01	38	355	3,3191	3,32	Ya
PL02	33	446	4,1664	4,17	Ya
PL03	36	164	1,5407	1,41	Tidak
PL04	35	199	1,8666	1,87	Tidak
PL05	-	-	-	-	-
PL06	26	190	1,7828	1,78	Ya
PL07	28	210	1,9691	1,97	Tidak
PL08		-	-	-	-
PL09	28	326	3,0491	3,05	Tidak
PL10	32	292	2,7326	5,06	Tidak

PL11	35	271	2,5370	4,97	Tidak
PL12	27	206	1,9318	1,93	Tidak
PL13	33	273	2,5556	2,56	Ya
PL14	35	752	7,0156	7,02	Ya
PL15	27	180	1,6897	1,69	Tidak
PL16	27	145	1,3638	1,36	Tidak
PL17	28	379	3,5426	7,38	Ya
PL18	46	255	2,3880	2,39	Tidak
PL19	31	227	2,1273	2,13	Ya
PL20	-	-	-	-	-
PL21	47	216	2,0249	2,02	Ya
PL22	42	188	1,7642	1,76	Tidak
PL23	43	399	3,7288	3,73	Ya
PL24	26	213	1,9970	2,00	Ya
PL25	35	351	3,2819	5,66	Ya

(D) Data responden polisi bagian administrasi (PA) & penduduk desa (PD)

SAMPEL	USIA	Luas Area Puncak Kromatogram	Konsentrasi B[a]P-tetrol I-1 ($\mu\text{g/L}$ sample dalam 50 L methanol 100%)	pg B[a]P-tetrol /mg Globin	Perokok
PA01		81	0,768	0,77	Ya
PA02	24	102	0,963	1,85	Ya
PA03	32	136	1,280	1,28	Ya
PA04	45	152	1,429	1,43	Ya
PA05	37	119	1,122	1,12	Ya
PA06	25	65	0,619	0,62	Tidak
PA07	26	0	0,014	0,03	Tidak
PA08	25	0	0,014	0,01	Tidak



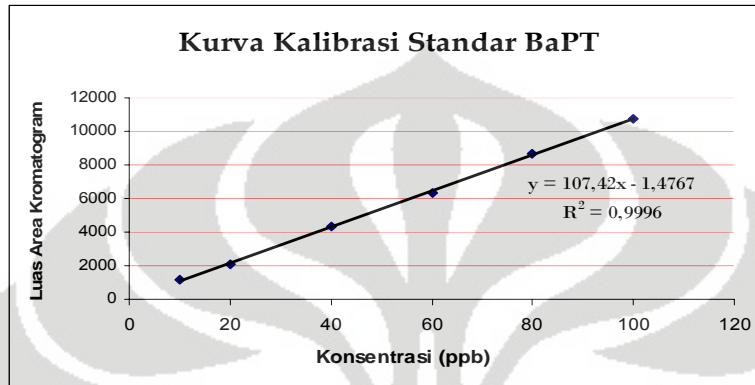


LAMPIRAN



Lampiran 1

DATA PERHITUNGAN LOD DAN LOQ



Konsentrasi ($\mu\text{g/L}$)	Luas puncak (y)	Luas puncak (y')	Selisih (y-y')	(y-y') ²
10	1130	1072,524	57,476	3303,490576
9	884	965,124	-81,124	6581,103376
7	680	750,324	-70,324	4945,464976
5	511	535,524	-24,524	601,426576
3	350	320,724	29,276	857,084176
1	118	105,924	12,076	145,829776
0,5	0	52,234	-52,234	2728,390756
				19189,71

Sy =	61,95112559	=	
LOD =	1,730156179 ppb	=	0,31 pg/mg Globin
LOQ =	5,767187264 ppb	=	1,03 pg/mg Globin

Keterangan:

y = Luas area kromatogram konsentrasi sample yang diperoleh

y' = Nilai rata-rata y

$$S_y = \sqrt{\sum (y-y')^2 / n-2}$$

$$\text{LOD} = (3 \cdot S_y) / b$$

$$\text{LOQ} = (10 \cdot S_y) / b$$

Lampiran 2

DATA HASIL PERHITUNGAN UJI PRESISI

Konsentrasi	y	y'	y-y'	(y-y') ²	SD	KV (%)
100 ppb	10747	10789,83	-42,83	1834,69	76,6065	0,710
	10737		-52,83	2791,36		
	10796		6,167	38,027		
	10778		-11,83	140,027		
	10939		149,167	22250,6		
	10742		-47,83	2288,02		
			Σ	29342,83		
80 ppb	8465	8582,67	-117,67	13845,44	107,2915	1,250
	8771		188,33	35469,44		
	8518		-64,67	4181,78		
	8573		-9,67	93,44		
	8540		-42,67	1820,44		
	8629		46,33	2146,78		
			Σ	57557,33		
60 ppb	6315	6361,5	-46,5	2162,25	48,7349	0,766
	6351		-10,5	110,25		
	6331		-30,5	930,25		
	6427		65,5	4290,25		
	6418		56,5	3192,25		
	6327		-34,5	1190,25		
			Σ	11875,5		

Keterangan:

y = Luas area kromatogram konsentrasi sample yang diperoleh

y' = Nilai rata-rata y

$$SD = \text{Simpangan Baku} = \sqrt{\frac{\sum (y-y')^2}{n-1}}$$

$$KV (\%) = \text{Koefisien Variasi} = \frac{SD}{y'} \times 100\%$$

Lampiran 3

DATA HASIL PERHITUNGAN UJI ANALISIS ANOVA SINGLE FAKTOR

SUMMARY					95% CI	
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
PL	22	69,3546	3,152482	3,253307		
PA	8	7,109699	0,888712	0,43243		

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	30,06463	1	30,06463	11,7989	0,001866	4,195972
Within Groups	71,34645	28	2,548088			
Total	101,4111	29				

- Ho : Polisi lalu lintas memiliki tingkat paparan B[a]P dan konsentrasi B[a]P-tetrol *hemoglobin -Adduct* yang lebih rendah dibandingkan dengan polisi bagian administratif.
- H1 : Polisi lalu lintas memiliki tingkat paparan B[a]P dan konsentrasi B[a]P-tetrol *hemoglobin -Adduct* yang lebih tinggi dibandingkan dengan polisi bagian administratif.

Kesimpulan:

Nilai $F > F_{crit}$

Ho ditolak atau H1 diterima

Lampiran 4

PENJELASAN MENGENAI PENELITIAN

STUDI HEMOGLOBIN -*ADDUCT* PADA POLISI LALU LINTAS DAN FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN

(INFORMED CONSENT)

Kami meminta anda, sebagai polisi lalulintas, untuk turut mengambil bagian dalam suatu penelitian yang berjudul "*Studi Hemoglobin dan DNA-Adduct pada penderita kanker paru*", karena kami akan melihat adanya kemungkinan anda terpapar suatu senyawa kimia PAH (*polyaromatic hydrocarbon*), yaitu senyawa kimia yang terdapat di lingkungan dan diduga dapat menyebabkan timbulnya kanker.

Penelitian ini akan dilakukan oleh Dewi Mais, mahasiswi Departemen Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, untuk mengetahui adanya pembentukan Hemoglobin dan DNA yang termodifikasi (*DNA-Adduct*) oleh zat yang bersifat penyebab kanker (karsinogen) melalui isolasi dan analisis Hemoglobin dan DNA dari darah polisi lalulintas.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait senyawa PAH (*Benzo[a]pyrene*) sebagai salah satu penyebab kanker paru. Partisipasi anda dalam penelitian ini akan memberikan sumbangsih besar bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam mendeteksi secara dini risiko kanker akibat bahan kimia karsinogen di lingkungan. Partisipasi anda dalam penelitian ini tidak akan menyebabkan beban keuangan bagi anda atau keluarga anda.

Pengambilan Darah

Darah anda akan kami minta sebanyak 10 ml (kira-kira 1 sendok makan) untuk keperluan penelitian kami. Darah ini akan kami periksa untuk mengetahui adanya Hemoglobin dan *DNA-Adduct* yang terbentuk sebagai penanda biologik (biomarker) terhadap risiko kanker. Kemungkinan dapat timbul lebam/bengkak atau kemerahan disekitar tempat pengambilan darah, namun hal ini tidak terjadi pada semua orang.

Kerahasiaan

Semua data penelitian ini akan diperlakukan secara rahasia sehingga tidak mungkin orang lain menghubungkannya dengan anda. Anda diberi kesempatan untuk menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini. Anda dapat menghubungi **DR. Budiawan** melalui telepon **(021) 772-11984** atau melalui surat dengan alamat: **Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok 16424**. Surat persetujuan ini akhirnya akan disimpan disini.

Partisipasi Sukarela

Bila anda bersedia berpartisipasi, peneliti akan menanyakan beberapa pertanyaan yang berkaitan dengan kanker paru yang diderita, riwayat pekerjaan, dan kebiasaan hidup anda sehari-hari yang memiliki risiko untuk terjadinya paparan terhadap *benzo[a]pyrene*, antara lain aktivitas merokok.

Anda tidak dapat dan tidak akan dipaksa untuk ikut serta dalam penelitian ini bila anda tidak menghendakinya. Anda hanya boleh ikut mengambil bagian atas kehendak anda sendiri. Anda berhak untuk menolak untuk ikut serta dalam penelitian ini tanpa perlu memberikan suatu alasan. Bila anda memutuskan untuk tidak berpartisipasi, tak seorangpun boleh melakukan diskriminasi apapun terhadap anda. Para dokter dapat memutuskan bahwa anda tidak diikutsertakan dalam penelitian ini, terlepas dari keinginan anda untuk tetap berpartisipasi atau tidak. Keputusan ini diambil dengan selalu memperhatikan hal yang terbaik bagi anda.

Tandatangan

Saya telah membaca, atau dibacakan kepada saya apa yang tertera diatas ini, dan saya telah diberi kesempatan untuk mengajukan pertanyaan-pertanyaan dan membicarakan kegiatan penelitian ini dengan para anggota tim penelitian. Saya memahami maksud, risiko, lamanya waktu dan prosedur penelitian ini. Dengan membubuhkan tanda tangan saya dibawah ini, saya menegaskan keikutsertaan saya secara sukarela dalam kegiatan penelitian ini. Saya telah menerima tembusan dari surat persetujuan ini.

Tandatangan dan nama peserta sukarela/wali

Tanggal

Tandatangan saksi dan nama saksi

Tanggal

Tandatangan dan nama peneliti

Tanggal

PENJELASAN MENGENAI PENELITIAN

STUDI HEMOGLOBIN -ADDUCT PADA PENDERITA KANKER PARU

DAN FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN (INFORMED CONSENT)

Kami meminta anda, sebagai pasien penderita tumor/kanker paru di Rumah Sakit Persahabatan Jakarta, untuk turut mengambil bagian dalam suatu penelitian yang berjudul "*Studi Hemoglobin dan DNA-Adduct pada penderita kanker paru*", karena kami akan melihat adanya kemungkinan penyakit kanker yang anda derita disebabkan oleh paparan suatu senyawa kimia PAH (*polyaromatic hydrocarbon*), yaitu senyawa kimia yang terdapat di lingkungan dan diduga dapat menyebabkan timbulnya kanker.

Penelitian ini akan dilakukan oleh Dewi Mais, mahasiswi Departemen Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, untuk mengetahui adanya pembentukan Hemoglobin dan DNA yang termodifikasi (*DNA-Adduct*) oleh zat yang bersifat penyebab kanker (karsinogen) melalui isolasi dan analisis Hemoglobin dan DNA dari darah pasien yang terkena kanker paru.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait senyawa PAH (*Benzo[a]pyrene*) sebagai salah satu penyebab kanker paru. Partisipasi anda dalam penelitian ini akan memberikan sumbangsih besar bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam mendeteksi secara dini risiko kanker akibat bahan kimia karsinogen di lingkungan. Partisipasi anda dalam penelitian ini tidak akan menyebabkan beban keuangan bagi anda atau keluarga anda.

Pengambilan Darah

Saat anda menjalani pemeriksaan tumor/kanker paru, darah anda akan kami minta sebanyak 10 ml (kira-kira 1 sendok makan) untuk keperluan penelitian kami. Darah ini akan kami periksa untuk mengetahui adanya Hemoglobin dan *DNA-Adduct* yang terbentuk sebagai penanda biologik (biomarker) terhadap risiko kanker. Kemungkinan dapat timbul lebam/bengkak atau kemerahan disekitar tempat pengambilan darah, namun hal ini tidak terjadi pada semua orang.

Kerahasiaan

Semua data penelitian ini akan diperlakukan secara rahasia sehingga tidak mungkin orang lain menghubungkannya dengan anda. Anda diberi kesempatan untuk menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini. Anda dapat menghubungi **DR. Budiawan** melalui telepon **(021) 772-11984** atau melalui surat dengan alamat: **Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok 16424**. Surat persetujuan ini akhirnya akan disimpan disini.

Partisipasi Sukarela

Bila anda bersedia berpartisipasi, peneliti akan menanyakan beberapa pertanyaan yang berkaitan dengan kanker paru yang diderita, riwayat pekerjaan, dan kebiasaan hidup anda sehari-hari yang memiliki risiko untuk terjadinya paparan terhadap *benzo[a]pyrene*, antara lain aktivitas merokok.

Anda tidak dapat dan tidak akan dipaksa untuk ikut serta dalam penelitian ini bila anda tidak menghendakinya. Anda hanya boleh ikut mengambil bagian atas kehendak anda sendiri. Anda berhak untuk menolak untuk ikut serta dalam penelitian ini tanpa perlu memberikan suatu alasan. Bila anda memutuskan untuk tidak berpartisipasi, tak seorangpun boleh melakukan diskriminasi apapun terhadap anda. Para dokter dapat memutuskan bahwa anda tidak diikutsertakan dalam penelitian ini, terlepas dari keinginan anda untuk tetap berpartisipasi atau tidak. Keputusan ini diambil dengan selalu memperhatikan hal yang terbaik bagi anda.

Tandatangan

Saya telah membaca, atau dibacakan kepada saya apa yang tertera diatas ini, dan saya telah diberi kesempatan untuk mengajukan pertanyaan-pertanyaan dan membicarakan kegiatan penelitian ini dengan para anggota tim penelitian. Saya memahami maksud, risiko, lamanya waktu dan prosedur penelitian ini. Dengan membubuhkan tanda tangan saya dibawah ini, saya menegaskan keikutsertaan saya secara sukarela dalam kegiatan penelitian ini. Saya telah menerima tembusan dari surat persetujuan ini.

Tandatangan dan nama peserta sukarela/wali

Tanggal


Tandatangan saksi dan nama saksi

Tanggal

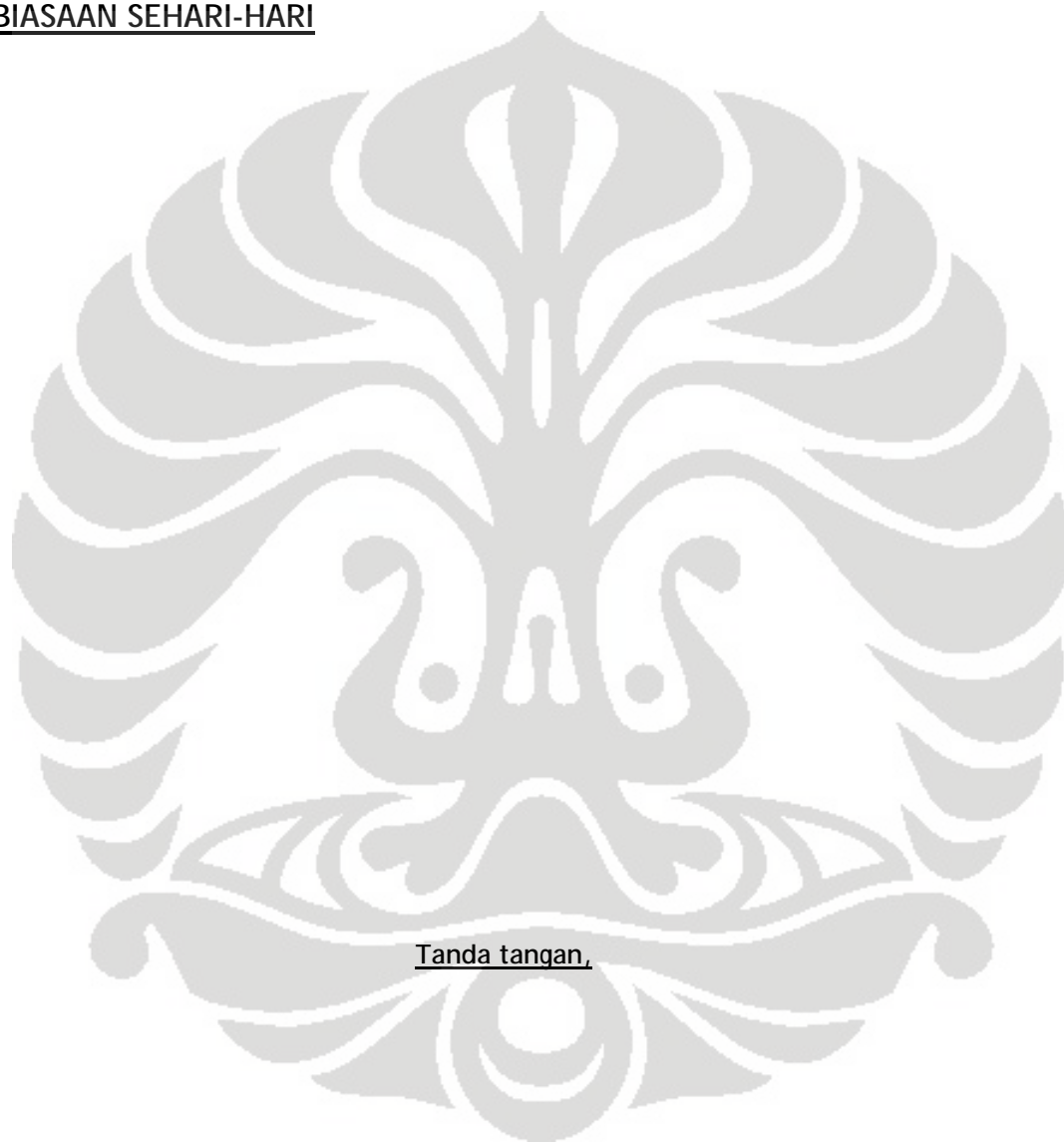
Tandatangan dan nama peneliti

Tanggal

Lampiran 5

	LEMBAR ANGKET	No.Sampel : <input type="text"/>	
<p>Dengan hormat, bersama ini saya mohon kesediaan Anda untuk mengisi lembar angket ini sesuai dengan keadaan yang sebenarnya. Jawaban yang Anda berikan pada formulir ini akan digunakan untuk penelitian mengenai "Studi Hemoglobin-Adduct akibat paparan Benzo[a]pyrene sebagai biomarker risiko kanker paru-paru". Silakan jawab pertanyaan sebaik yang Anda bisa. Jika ada yang tidak dimengerti, jangan ragu untuk menanyakannya pada saya. Atas kerjasamanya pada penelitian ini, saya ucapkan terima kasih.</p>			
Sampel	:	Polisi Lalu Lintas	
Sampel nomor	:	
Tanggal pengambilan sampel	:	
Waktu pengambilan sampel	:	
Cara pengisian	:	Sendiri / Pewawancara *	
DATA RESPONDEN			
Nama responden	:	
Jenis kelamin	:	Laki-laki / Perempuan *	
Usia	: tahun	
Lokasi tinggal	:	
<p><u>Catatan</u> : beri tanda silang (X) pada pilihan * = coret yang tidak perlu</p>			
<u>STATUS KESEHATAN</u>			
S0	Apakah Anda menderita gangguan pernapasan? (Misal : Batuk, asma, dll)		
	(1) Sering	(2) Kadang-kadang	(3) Tidak pernah
	Sebutkan gangguan pernapasan yang dialami:.....		
<u>KONDISI PEKERJAAN:</u>			
S5	Pekerjaan	:
	Lokasi bekerja	:
	Lama bekerja	: tahun
	Waktu bekerja	: jam per hari
	Frekuensi bekerja	: hari per minggu
	Waktu bekerja dilapangan	:	Jam s/d jam

KEBIASAAN SEHARI-HARI



Tanda tangan,



LEMBAR ANGGKET

No.Sampel :

Dengan hormat, bersama ini saya mohon kesediaan Anda untuk mengisi lembar angket ini sesuai dengan keadaan yang sebenarnya. Jawaban yang Anda berikan pada formulir ini akan digunakan untuk penelitian mengenai "Studi Hemoglobin-Adduct akibat paparan Benzo[a]pyrene sebagai biomarker risiko kanker paru-paru". Silakan jawab pertanyaan sebaik yang Anda bisa. Jika ada yang tidak dimengerti, jangan ragu untuk menanyakannya pada saya. Atas kerjasamanya pada penelitian ini, saya ucapkan terima kasih.

Sampel : Pasien Penderita Kanker Paru
Sampel nomor :
Tanggal pengambilan sampel :
Waktu pengambilan sampel :
Cara pengisian : Wawancara

DATA RESPONDEN

Nama responden :
Jenis kelamin : Laki-laki/Perempuan*
Usia : tahun

Catatan : beri tanda silang (X) pada pilihan
* = coret yang tidak perlu

Catatan : beri tanda silang (X) pada pilihan

(Pertanyaan S1 - S5 berdasarkan keterangan dari Dokter yang menangani Pasien)

RIWAYAT PENYAKIT

- S1 Stadium Kanker Paru :
(1) Stadium I (2) Stadium II 3) Stadium III (4) Stadium IV
- S2 Jenis kanker yang diderita :
- S3 Apakah pasien sudah menjalani kemoterapi ? Ya / Tidak *
Jika ya, lanjutkan ke S4, sedangkan jika tidak langsung ke S5.
- S4 Jika pasien telah menjalani kemoterapi, lama menjalani kemoterapi :
(1) < 1 tahun (2) 1-2 tahun (3) > 2 tahun
- S5 Apakah pasien menderita gangguan pernapasan lain ? (Misal : radang paru, asma, dll)
(1) Sering (2) Kadang-kadang (3) Tidak pernah
- Gangguan pernapasan yang dialami :

(Pertanyaan S6 - S16 berdasarkan keterangan dari Pasien)

RIWAYAT PEKERJAAN

S6 Riwayat Pekerjaan :

Pekerjaan :
Lama bekerja : tahun
Waktu bekerja : jam per hari
Frekuensi bekerja : hari per minggu

S7 Penggunaan masker saat bekerja :
(1) Sering (2) Kadang-kadang (3) Tidak pernah

S8 Transportasi yang Anda gunakan untuk mencapai tempat kerja :
(1) Jalan kaki (2) Mobil (3) Bus/angkutan umum (4) Motor (5) Lainnya:

KEBIASAAN SEHARI-HARI

S9 Aktifitas Merokok :
(1) Perokok Aktif (2) Perokok pasif (suami/istri/keluarga perokok) (3) Tidak Merokok
Jika perokok pasif, lanjutkan ke S15.

S10 Jika perokok aktif, apakah masih merokok hingga saat ini ? ya / tidak *
Jika ya, ke S11- S13, jika tidak ke S14.

S11 Jika perokok aktif, jumlah rokok yang dihisap per hari : batang/bungkus

S12 Jika perokok aktif, lama merokok :
(1) < 1 tahun (2) 1-2 tahun (3) 2-5 tahun (4) 5-10 tahun (5) > 10 tahun

S13 Jika perokok aktif, sebelum anda diambil darahnya untuk sampel penelitian ini, kapan anda terakhir merokok? jam terakhir.

S14 Jika berhenti merokok, sudah berapa lama : bulan / tahun *

S15 Jika perokok pasif, berapa jumlah anggota keluarga yang merokok dalam satu tempat tinggal : orang, total anggota keluarga satu tempat tinggal : orang

S16 Apakah Anda mengonsumsi makanan yang dibakar atau panggang? (contohnya sate, daging panggang, steak, ayam / daging bakar, jagung bakar, dll)
(1) Sering (minimal 1 porsi per minggu) (2) Kadang-kadang (≤ 3 porsi/bulan)

Tanda tangan,

(.....)
Pewawancara

(.....)
Responden