



Induksi Metastasis Limfonodus oleh DMBA Topikal pada Model Mencit C3H/HeJ dengan Karsinoma Sel Skuamosa

Fitria Tahta Alfina¹, Devy Ariany², Nurlaely Mida Rachmawati^{3*}, Luluk Hermawati⁴, Ghina Mutiara Abas⁵

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Indonesia

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Indonesia

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Indonesia

⁴Departemen Biologi Medis, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Indonesia

⁵Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Indonesia

*Penulis Korespondensi: nurlaely_pspd@uinjkt.ac.id

Abstract. 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) is an environmental carcinogen. Topical application of DMBA in mice induces skin tumors with 100% incidence, and approximately 40% progress to squamous cell carcinoma (SCC), which carries a high risk of metastasis. To evaluate lymph node metastasis in SCC following topical administration of 0.125% DMBA. This research was conducted as a laboratory experimental study. A total of 200 μ l of 0.125% DMBA was applied topically to the dorsal skin of C3H/HeJ mice three times a week for 10 weeks. All mice with SCC showed metastatic deposits in the lymph nodes, characterized by anaplastic cells with hyperchromatic nuclei and a 1:1 nucleus-to-cytoplasm ratio. Significant differences in follicular area were found between the malignant DMBA group and the vehicle (mean difference 0.26; $P < 0.001$), distilled water (0.25; $P < 0.001$), and between the benign DMBA group and both vehicle (0.28; $P < 0.001$) and distilled water (0.27; $P < 0.001$). No significant differences were observed between the malignant and benign DMBA groups ($P = 0.767$), or between vehicle and distilled water ($P = 0.884$). Topical application of 0.125% DMBA for 10 weeks is associated with lymph node metastasis in SCC, which can be identified through histological observation of tumor cell deposits and follicular hyperplasia in lymph nodes.

Keywords: DMBA; Metastasis; Mice; Squamous Cell Carcinoma; Topical Application

Abstrak. 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) merupakan karsinogen lingkungan. Aplikasi topikal DMBA pada mencit diketahui dapat menginduksi tumor kulit dengan insidensi 100%, dan sekitar 40% berkembang menjadi karsinoma sel skuamosa (KSS), yang memiliki potensi metastasis tinggi. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kejadian metastasis limfonodus pada KSS setelah aplikasi topikal DMBA 0,125%. Penelitian ini menggunakan studi eksperimental laboratorium. Sebanyak 200 μ l DMBA 0,125% dioleskan secara topikal pada punggung mencit C3H/HeJ tiga kali per minggu selama 10 minggu. Seluruh mencit yang mengalami KSS menunjukkan tanda metastasis berupa deposit sel anaplastik dengan inti hiperkromatik dan rasio inti-sitoplasma 1:1. Analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan luas folikel limfonodus antara kelompok DMBA ganas dengan vehicle (selisih rata-rata 0,26; $P < 0,001$), akuades (0,25; $P < 0,001$), dan DMBA jinak dengan vehicle (0,28; $P < 0,001$) serta akuades (0,27; $P < 0,001$). Tidak ditemukan perbedaan signifikan antara DMBA ganas dan DMBA jinak ($P = 0,767$), maupun antara vehicle dan akuades ($P = 0,884$). Aplikasi topikal DMBA 0,125% selama 10 minggu berasosiasi dengan metastasis limfonodus pada KSS, yang dapat diidentifikasi melalui pengamatan mikroskopik deposit sel tumor dan perubahan hiperplastik folikel limfonodus. perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan.

Kata kunci: Aplikasi Topikal; DMBA; Karsinoma Sel Skuamosa; Mencit; Metastasis

1. LATAR BELAKANG

Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons/PAHs*) merupakan kelompok senyawa organik lipofilik yang tersusun atas atom karbon dan hidrogen dalam struktur cincin aromatik berfusi. Senyawa ini dikenal bersifat toksik, mutagenik, dan karsinogenik, dengan mekanisme toksisitas yang melibatkan gangguan aktivitas enzim detoksifikasi serta kerusakan membran sel melalui pembentukan spesies oksigen reaktif

(*reactive oxygen species*/ROS) (Kim et al., 2013; Samburova et al., 2016). Salah satu PAH yang paling banyak diteliti adalah 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), yang lazim ditemukan dalam asap kendaraan bermotor, asap rokok, serta hasil pembakaran tidak sempurna dari batubara dan minyak bumi (Boogaard et al., 2022). DMBA bertindak sebagai karsinogen inisiator melalui aktivasi enzim sitokrom P450 dan pembentukan adduksi DNA, yang pada akhirnya memicu mutasi pada gen onkogeni.

Berbagai studi pra-klinis menunjukkan bahwa paparan topikal DMBA secara berulang mampu menginduksi transformasi sel epitel kulit menjadi neoplasma (Snarskaya et al., 2017). Penerapan model *in vivo* dengan aplikasi topikal DMBA telah memperlihatkan induksi hiperplasia epidermis serta pembentukan tumor kulit pada beberapa galur mencit. Misalnya, pada galur SKH1-hr, aplikasi DMBA topikal berulang menyebabkan hiperplasia epidermis sejak minggu keempat, dan perkembangan papilloma menjadi karsinoma sel skuamosa dalam kurun waktu 23 minggu (Thomas et al., 2016). Selain itu, protokol kombinasi DMBA/TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) telah menjadi metode standar dalam pemodelan karsinogenesis kulit. Pendekatan ini memungkinkan studi mekanisme molekuler kanker kulit, termasuk aktivasi mutasi gen RAS dan progresi tumor skuamosa (H. Li & Brakebusch, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Vähätupa, et al menunjukkan bahwa model DMBA-TPA efektif untuk mengkaji mekanisme biologis kanker kulit, khususnya yang berkaitan dengan interaksi antara faktor genetik dan inflamasi (Vähätupa et al., 2019). Paparan DMBA meningkatkan ekspresi enzim matriks metalloproteinase (MMP)-2 dan MMP-9 serta faktor pro-angiogenik seperti VEGF dan IL-17, yang memperkuat kemampuan invasi sel tumor ke jaringan ikat dan sistem limfatik (Chen & Zhou, 2015; Owen et al., 2001). Galur mencit C3H/HeJ, yang memiliki mutasi *loss-of-function* pada gen TLR4, menunjukkan respons imun yang cenderung didominasi oleh IL-17 dibanding IFN- γ , yang kemudian membentuk mikrolingkungan tumor bersifat pro-inflamasi dan immunosupresif. Keadaan ini diyakini mempercepat progresi tumor dan meningkatkan risiko metastasis melalui limfonodus regional (Li et al., 2017).

Salah satu ciri khas penting sel kanker adalah kemampuan untuk melakukan reprogramming metabolik melalui glikolisis aerobik, yang dikenal sebagai Warburg effect. Mekanisme ini dikendalikan oleh enzim seperti Pyruvate Kinase M2 (PKM2), dan berkontribusi terhadap proliferasi serta invasi sel kanker secara agresif (Zulfa et al., n.d.). Menariknya, dalam studi lain, DMBA juga terbukti menyebabkan kerusakan histopatologis pada organ lain, seperti hepar, dengan temuan berupa nekrosis hepatosit, dilatasi vena sentralis, serta infiltrasi sel radang (Ariany et al., 2025). Dengan berbagai bukti tersebut, mencit galur

C3H/HeJ menjadi kandidat model hewan yang relevan untuk mengevaluasi hubungan antara paparan karsinogen PAH dan proses metastasis.

Meskipun model DMBA telah banyak digunakan untuk mempelajari tumor primer pada kulit, kajian mengenai kejadian metastasis limfonodus, khususnya pada mencit galur C3H/HeJ, masih terbatas. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya menyoroti insidensi tumor kulit dan morfologi jaringan lokal tanpa mengeksplorasi lebih lanjut perubahan histologis pada limfonodus regional.

Keberadaan deposit sel tumor dan perubahan struktur folikel limfatik, seperti hiperplasia, dapat menjadi indikator penting dalam menilai respons imun maupun proses metastasis. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan kuantitatif dan histopatologis untuk mengidentifikasi keterlibatan limfonodus dalam penyebaran tumor yang diinduksi oleh DMBA.

2. KAJIAN TEORITIS

DMBA sebagai Karsinogen dan Induksi Karsinoma Sel Skuamosa

7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) merupakan senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang dikenal bersifat lipofilik, mutagenik, dan karsinogenik. Senyawa ini bertindak sebagai karsinogen inisiator yang memerlukan aktivasi metabolik oleh enzim sitokrom P450, menghasilkan metabolit diol-epoksida reaktif yang dapat membentuk aduksi DNA. Proses tersebut memicu mutasi pada gen p53 dan H-ras, yang berperan dalam transformasi sel normal menjadi sel neoplastik (Loo et al., 2025). Model induksi kanker kulit dengan DMBA/TPA telah lama digunakan untuk mempelajari mekanisme karsinogenesis kulit multistadium, mencakup fase inisiasi, promosi, dan progresi tumor.

Paparan DMBA/TPA menyebabkan stres oksidatif, aktivasi jalur inflamasi (NF- κ B), dan gangguan keseimbangan proliferasi apoptosis, sehingga mendukung pembentukan dan pertumbuhan tumor epitelial (Wi et al., 2025; Wang et al., 2025). Jalur PI3K/Akt/mTOR diketahui berperan penting dalam proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker akibat paparan DMBA. Penghambatan jalur ini terbukti mampu menekan perkembangan tumor, seperti yang terlihat pada penelitian tentang pengaruh brucine dan costunolide, yang menghambat transformasi sel dan karsinogenesis kulit melalui regulasi fosforilasi AKT (Wang et al., 2025; Wi et al., 2025).

Selain itu, beberapa senyawa alami menunjukkan potensi kemopreventif terhadap efek karsinogenik DMBA. β -caryophyllene dilaporkan mampu menginduksi apoptosis dan menekan aktivitas PI3K/Akt (Sun et al., 2025), sedangkan bergapten menunjukkan efek

antitumor pada karsinoma sel skuamosa oral melalui penghambatan jalur NF- κ B dan PI3K/Akt/mTOR (Luo et al., 2025). Secara histopatologis, progresi akibat DMBA ditandai oleh perubahan dari hiperplasia, displasia, hingga karsinoma sel skuamosa (KSS) dengan ciri pleomorfisme, hiperkromasia, dan invasi ke jaringan ikat yang menandai awal metastasis (Wi et al., 2025).

Mekanisme Metastasis Limfonodus dan Perubahan Histopatologis

Metastasis merupakan proses kompleks yang terdiri atas pelepasan sel tumor dari lokasi primer, invasi ke jaringan sekitarnya, migrasi melalui pembuluh limfatik atau darah, dan kolonisasi di organ target. Pada kanker kulit, terutama melanoma, penyebaran melalui sistem limfatik regional menjadi jalur utama metastasis. Proses ini melibatkan perubahan genetik dan fenotipik yang meningkatkan kemampuan sel tumor untuk beradaptasi dengan lingkungan baru serta menghindari pengawasan imun (Lambert et al., 2017).

Salah satu mekanisme utama yang memfasilitasi invasi dan penyebaran adalah peningkatan ekspresi matrix metalloproteinase (MMP), khususnya MMP-2 dan MMP-14, yang mendegradasi matriks ekstraseluler sehingga memungkinkan sel kanker menembus membran basal. Selain itu, aktivasi epithelial–mesenchymal transition (EMT) memberikan kemampuan migrasi dan resistensi terhadap stres lingkungan mikro. Kedua mekanisme ini berperan sinergis dalam meningkatkan mobilitas sel tumor serta potensi metastasisnya (Dongre & Weinberg, 2019).

Ketika sel kanker mencapai limfonodus regional, mereka memicu perubahan mikroenvironment, termasuk hiperplasia folikel limfoid dan reorganisasi struktur kortikomeduler. Perubahan ini mencerminkan respon imun awal terhadap sel tumor, tetapi kemudian dapat bergeser menjadi keadaan imunosupresif lokal melalui peningkatan ekspresi PD-L1 dan infiltrasi sel T regulator. Secara histopatologis, metastasis ditandai oleh adanya deposit sel anaplastik dengan inti hiperkromatik, disertai distorsi arsitektur normal dan respon desmoplastik (Li et al., 2022; Torres-Cabala et al., 2020).

Peran Lingkungan Mikro Tumor, Respons Imun, dan Model Hewan

Lingkungan mikro tumor (tumor microenvironment, TME) berperan sentral dalam progresi dan metastasis kanker. TME terdiri atas sel imun, fibroblas, pembuluh darah, matriks ekstraseluler, serta mediator inflamasi yang berinteraksi secara kompleks dengan sel tumor. Interaksi ini mendorong pertumbuhan tumor melalui sekresi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α , faktor angiogenik seperti VEGF, serta molekul imunosupresif seperti TGF- β dan PD-L1, yang bersama-sama menciptakan kondisi pro-tumorigenik (Quail & Joyce, 2017).

Paparan karsinogen 7,12-dimetilbenz[a]antrasena (DMBA) diketahui memicu inflamasi kronis dan stres oksidatif yang mengaktivasi jalur NF- κ B dan STAT3, memperkuat proliferasi serta angiogenesis. Selain itu, perubahan metabolisme seperti aerobik glycolysis (efek Warburg) berperan dalam regulasi myeloid-derived suppressor cells (MDSC) yang menekan imunitas antitumor (Li et al., 2018). Pada mencit galur C3H/HeJ, mutasi pada Toll-like receptor 4 (TLR4) mengubah respons imun terhadap rangsangan inflamasi. Aktivasi TLR2, TLR4, dan TLR9 terbukti meningkatkan ekspresi VEGF dan PDGF, yang memperkuat angiogenesis serta pertumbuhan tumor (Grimmig et al., 2016).

Lingkungan mikro yang proinflamasi dan imunosupresif memungkinkan sel tumor bertahan dan bermigrasi ke jaringan sekunder, termasuk limfonodus regional (Binnewies et al., 2018). Model hewan dengan induksi DMBA memberikan sarana penting untuk memahami karsinogenesis kulit secara *in vivo*. Analisis histopatologis terhadap jaringan kulit dan limfonodus memungkinkan evaluasi progresi tumor dari tahap inisiasi hingga metastasis regional. Oleh karena itu, pendekatan ini relevan untuk menilai keterlibatan lingkungan mikro dan respons imun dalam metastasis karsinoma sel skuamosa (KSS) (Neagu et al., 2016).

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan studi eksperimental laboratorium. Sebanyak 27 ekor mencit jantan galur C3H/HeJ berumur ± 8 minggu dan berbobot 30–38 gram digunakan dalam penelitian. Mencit dibagi menjadi tiga kelompok ($n=9$ per kelompok), diantaranya kelompok kontrol negatif (akuades), kelompok vehicle (aseton), dan kelompok perlakuan (DMBA 0,125%). Selama penelitian, 12 ekor mencit mati, sehingga analisis akhir dilakukan pada 15 ekor mencit (5 ekor per kelompok).

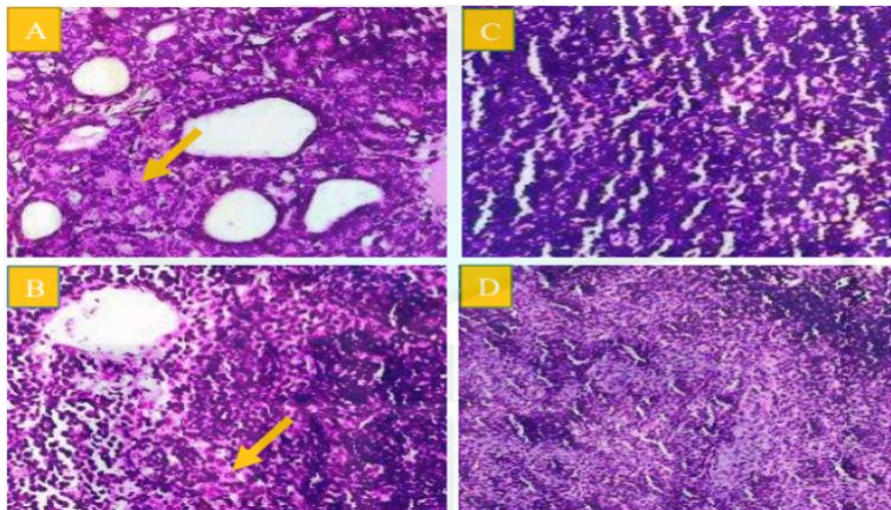
Area punggung mencit dicukur, kemudian diberikan aplikasi topikal larutan uji sebanyak 200 μ l, tiga kali per minggu selama 10 minggu. Setelah 10 minggu dilakukan nekropsi dan pengambilan limfonodus inguinal. Jaringan difiksasi, diproses untuk preparat histologi, dan diwarnai dengan hematoksilin-eosin. Jaringan diamati menggunakan mikroskop konfokal Olympus DP2-BSW. Luas folikel limfonodus diukur menggunakan perangkat lunak ImageJ untuk menilai adanya hiperplasia. Data luas folikel dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA dengan uji lanjut LSD pada perangkat lunak SPSS.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok yang diberikan perlakuan DMBA 0,125% dalam aseton, kelompok kontrol negatif (akuades), dan kelompok vehicle (aseton) tidak menunjukkan perubahan mikroskopik yang signifikan, yang menunjukkan hasil normal. Sebaliknya, kelompok yang diberikan DMBA menunjukkan efek induksi tumor yang diamati secara mikroskopik, yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Angka kejadian tumor kulit pada kelompok DMBA ($n = 5$) yang diinduksi dengan DMBA 0,125% secara topikal 3 kali/minggu selama 10 minggu adalah 100% sesuai penelitian dengan penelitian sebelum yang dilakukan oleh As'ad pada tahun 2018 (As'ad, 2018). Penelitian ini melakukan pengamatan dengan hewan yang sama menunjukkan bahwa 80% kasus adalah papilloma skuamosa (tumor jinak), 40% adalah karsinoma sel skuamosa (tumor ganas), dan 20% merupakan kombinasi keduanya (papilloma skuamosa dan karsinoma sel skuamosa).

Pada Gambar. 1 (A) dan (B) menunjukkan adanya ciri-ciri metastasis yang ditandai dengan keberadaan deposit sel tumor, seperti yang ditunjukkan oleh anak panah. Deposit tersebut tampak menggantikan sel-sel limfosit dan terdiri dari sel-sel anaplastik yang memiliki inti hiperkromatik serta rasio inti terhadap sitoplasma mendekati 1:1. Sebaliknya, pada limfonodus mencit dengan jaringan kulit yang mengalami papilloma skuamosa, ciri tersebut tidak dijumpai. Hal serupa juga tidak ditemukan pada kelompok kontrol yang diberikan vehicle maupun akuades.

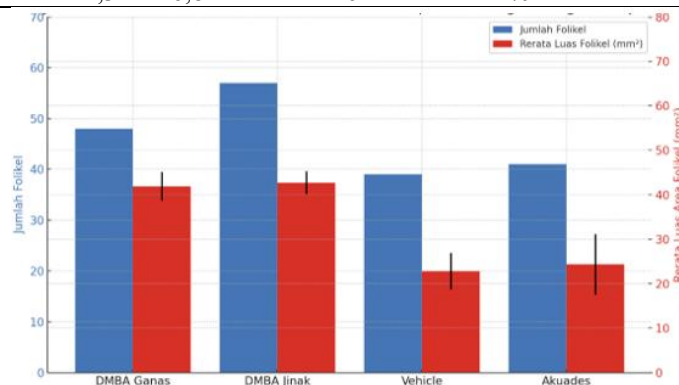


Gambar 1. Tampilan metastasis pada organ limfonodus. (A) dan (B) Pada kelompok DMBA, terlihat adanya deposit sel tumor, yaitu sel anaplastik dengan inti hiperkromatik dan rasio inti-sitoplasma 1:1 (ditunjukkan dengan panah). (C) Pada kelompok vehicle dan (D) pada kelompok akuades, tidak ditemukan tanda-tanda metastasis pada organ limfonodus.

Perbesaran 10x.

Tabel 2. Perbandingan Luas (mm²) dan Jumlah Folikel Limfonodus Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	Luas Folikel Limfonodus (mm ²) Rerata $\pm$ SD	Tersempit (mm ²)	Terluas (mm ²)	Jumlah Folikel Limfonodus
DMBA Ganas	41,82 $\pm$ 23,19	8	97	48
DMBA Jinak	42,71 $\pm$ 22,57	10	94	57
Vehicle	22,79 $\pm$ 14,52	7	75	39
Akuades	24,31 $\pm$ 16,81	6	79	41



Gambar 2. Jumlah dan Rerata Luas Area Folikel Limfonodus pada Setiap Kelompok

Gambar 2 menunjukkan bahwa kelompok DMBA jinak memiliki jumlah folikel dan rerata luas area folikel limfonodus tertinggi dibanding kelompok lainnya, yaitu 57 folikel dengan luas rata-rata 42,71 $\pm$ 2,57 mm². Kelompok DMBA ganas memiliki jumlah folikel sedikit lebih rendah (48 folikel) dengan rerata luas 41,82 $\pm$ 3,19 mm². Sementara itu, kelompok kontrol (vehicle dan akuades) menunjukkan jumlah folikel lebih sedikit, masing-masing 39 dan 41 folikel, serta rerata luas area folikel yang jauh lebih kecil, yaitu 22,79 $\pm$ 4,12 mm² dan 24,31 $\pm$ 6,81 mm². Perbedaan ini menunjukkan adanya pengaruh signifikan dari paparan DMBA terhadap peningkatan jumlah dan ukuran folikel limfonodus ($p < 0,05$), yang mengindikasikan aktivitas imunologis sebagai respons terhadap pertumbuhan tumor.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi topikal DMBA 0,125% sebanyak tiga kali per minggu selama 10 minggu secara konsisten menginduksi pembentukan tumor kulit pada mencit C3H/HeJ, dengan insidensi mencapai 100%. Sebagian besar mencit (80%) mengalami papilloma skuamosa, dan 40% menunjukkan transformasi ganas menjadi karsinoma sel skuamosa. Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menegaskan potensi DMBA sebagai karsinogen kuat, yang bekerja melalui peningkatan stres oksidatif, proliferasi sel abnormal, serta penurunan apoptosis, sebagaimana dibuktikan oleh peningkatan ekspresi Ki-67 dan aktivasi caspase-3 pada model mencit Swiss Albino (Manna et al., 2020).

Galur mencit C3H/HeJ yang digunakan dalam penelitian ini memiliki mutasi *loss-of-function* pada gen TLR4, yang diketahui menyebabkan penurunan aktivasi jalur imun bawaan. Studi yang dilakukan oleh Naseemuddin, et al menunjukkan bahwa defek TLR4 menyebabkan mencit lebih rentan terhadap karsinogenesis yang diinduksi DMBA, dengan kecenderungan polaritas imun menuju respons Th17. Hal ini ditandai oleh peningkatan kadar IL-17 dan penurunan IFN- γ serta IL-12, menciptakan lingkungan mikro tumor yang proinflamasi dan mendukung angiogenesis (Naseemuddin et al., 2012). Kadar VEGF, MMP-2, dan MMP-9 yang lebih tinggi pada jaringan tumor dan serum mencit C3H/HeJ dibandingkan mencit normal memperkuat dugaan bahwa defisiensi sinyal TLR4 berperan dalam peningkatan agresivitas tumor (Jahan et al., 2024; Naseemuddin et al., 2012).

Metastasis hanya diamati pada kelompok tumor ganas (karsinoma), di mana penyebaran ke kelenjar getah bening (limfonodus) disertai gambaran histopatologis berupa sel-sel kanker anaplastik dengan inti hiperkromatik dan besar. Keberadaan metastasis ini berkaitan erat dengan peningkatan aktivitas MMP-2 dan MMP-9 yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler, serta ekspresi VEGF yang memfasilitasi neovaskularisasi, baik melalui pembuluh darah maupun limfe. Ketiga molekul ini diketahui menjadi penanda penting dalam proses invasi dan metastasis pada berbagai kanker, termasuk kanker payudara (Corrêa Rassele et al., 2025; Fares et al., 2020).

Dilihat dari sisi imunologi, tumor jinak seperti papilloma menunjukkan aktivasi respons imun adaptif yang relatif terjaga, ditandai oleh pembesaran limfonodus dan peningkatan jumlah folikel menunjukkan aktivasi sel B dan T. Sebaliknya, pada tumor ganas ditemukan deplesi sentra germinativum pada limfonodus, yang menunjukkan adanya imunosupresi oleh tumor. Hal ini diduga akibat sekresi sitokin imunoregulator seperti IL-10, TGF- β , serta produksi nitrit oksida (NO), yang secara kolektif menurunkan aktivitas sel penyaji antigen (APC) dan menghambat efektor limfosit T (Delclaux et al., 2024; Xia et al., 2025; Zotta et al., 2025).

Kelompok kontrol yang diberikan akuades maupun vehicle tidak menunjukkan pembentukan tumor ataupun metastasis, sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut tersebut tidak memiliki sifat karsinogenik. Hal ini memperkuat bahwa efek tumorigenik yang diamati pada kelompok DMBA berasal dari senyawa aktifnya, bukan dari bahan pelarut atau prosedur aplikasi. Hal ini serupa dengan studi sebelumnya dalam studi model DMBA di mana kontrol vehicle tidak menimbulkan tumor kulit pada mencit (Li & Brakebusch, 2021; Manna et al., 2020).

Secara keseluruhan, penelitian ini memperkuat bukti bahwa induksi tumor oleh DMBA tidak hanya melibatkan proses transformasi seluler, tetapi juga memanipulasi mikrolingkungan

imun, terutama pada latar belakang genetik defisiensi TLR4 seperti pada mencit C3H/HeJ. Kombinasi stres oksidatif, disregulasi imun, dan aktivasi molekul pro-invasif membentuk dasar yang kuat bagi perkembangan dan penyebaran tumor kulit ganas dalam model ini.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian DMBA 0,125% sebanyak 200 μ L secara topikal tiga kali per minggu selama 10 minggu pada mencit galur C3H/HeJ efektif menginduksi pembentukan tumor kulit, dengan angka kejadian metastasis mencapai 100% pada hewan yang mengalami transformasi ganas menjadi karsinoma sel skuamosa. Gambaran metastasis meliputi deposit sel tumor pada limfonodus dan/atau hiperplasia folikel limfoid. Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok DMBA ganas dengan vehicle maupun akuades, serta antara kelompok DMBA jinak dengan vehicle dan akuades ($P \leq 0,05$). Perbedaan ini diduga berkaitan dengan aktivitas proliferasi limfosit yang mencerminkan respons imun terhadap progresi tumor

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Program Studi Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah yang sudah memfasilitasi dalam pelaksanaan penelitian ini dan pihak-pihak terkait yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Ariany, D., Rahman, A., Rachmawati, N. M., Hermawati, L., & Irawati, N. B. U. (2025). Studi histopatologi pengaruh pemberian DMBA secara topikal pada organ hati mencit C3H/HEJ. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran*, 10(1 SE-), 66–71.
- As'ad, M. (2018). *Efek pemberian 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) secara topikal terhadap gambaran histopatologi jaringan kulit pada mencit strain C3H/HeJ*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Binnewies, M., Roberts, E. W., Kersten, K., Chan, V., Fearon, D. F., Merad, M., Coussens, L. M., Gabrilovich, D. I., Ostrand-Rosenberg, S., Hedrick, C. C., Vonderheide, R. H., Pittet, M. J., Jain, R. K., Zou, W., Howcroft, T. K., Woodhouse, E. C., Weinberg, R. A., & Krummel, M. F. (2018). Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nature Medicine*, 24(5), 541–550. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0014-x>
- Boogaard, H., Patton, A. P., Atkinson, R. W., Brook, J. R., Chang, H. H., Crouse, D. L., Fussell, J. C., Hoek, G., Hoffmann, B., Kappeler, R., Kutlar Joss, M., Ondras, M., Sagiv, S. K., Samoli, E., Shaikh, R., Smargiassi, A., Szpiro, A. A., Van Vliet, E. D. S., Vienneau, D., ... Forastiere, F. (2022). Long-term exposure to traffic-related air pollution and selected health outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Environment*

- International*, 164, 107262.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107262>
- Chen, X.-W., & Zhou, S.-F. (2015). NF- κ B axis, and tumorigenesis. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 2941–2946.
- Corrêa Rassele, A., Oliveira Almeida, I., Garschagen Gava, M., Bronhara Pimentel, P. A., Giuliano, A., Ruiz Sueiro, F. A., Rodrigues de Oliveira, A., Barboza de Nardi, A., & Dos Santos Horta, R. (2025). Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in primary canine mast cell tumors and related regional lymph node metastasis. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 15(2).
<https://doi.org/10.3390/ani15020283>
- Delclaux, I., Ventre, K. S., Jones, D., & Lund, A. W. (2024). The tumor-draining lymph node as a reservoir for systemic immune surveillance. *Trends in Cancer*, 10(1), 28–37.
<https://doi.org/10.1016/j.trecan.2023.09.006>
- Dongre, A., & Weinberg, R. A. (2019). New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(2), 69–84. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0080-4>
- Fares, J., Fares, M. Y., Khachfe, H. H., Salhab, H. A., & Fares, Y. (2020). Molecular principles of metastasis: A hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0134-x>
- Grimmig, T., Moench, R., Kreckel, J., Haack, S., Rueckert, F., Rehder, R., Tripathi, S., Ribas, C., Chandraker, A., Germer, C. T., Gasser, M., & Waaga-Gasser, A. M. (2016). Toll-like receptor 2, 4, and 9 signaling promotes autoregulatory tumor cell growth and VEGF/PDGF expression in human pancreatic cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 2060. <https://doi.org/10.3390/ijms17122060>
- Jahan, T., Saleh, A. A., & Anwar, S. (2024). Association of cytokine IL-17, IL-4, IL-6, and IL-12 gene polymorphisms in rheumatoid arthritis patients in a tertiary care hospital in Bangladesh. *International Journal of Rheumatology*, 2024, 3728179.
<https://doi.org/10.1155/2024/3728179>
- Kim, K.-H., Jahan, S. A., Kabir, E., & Brown, R. J. C. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*, 60, 71–80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.07.019>
- Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2017). Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 168(4), 670–691.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.037>
- Li, H., & Brakebusch, C. (2021). Chapter 7 - Analyzing skin tumor development in mice by the DMBA/TPA model. In L. Galluzzi & A. B. T.-M. in C. B. Buqué (Eds.), *Carcinogen-driven mouse models of oncogenesis* (Vol. 163, pp. 113–121). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2020.08.004>
- Li, J., Yang, F., Wei, F., & Ren, X. (2017). The role of toll-like receptor 4 in tumor microenvironment. *Oncotarget*, 8(39). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19105>
- Li, T., Liu, T., Zhao, Z., Xu, X., Zhan, S., Zhou, S., Jiang, N., Zhu, W., Sun, R., Wei, F., Feng, B., Guo, H., & Yang, R. (2022). The lymph node microenvironment may invigorate cancer cells with enhanced metastatic capacities. *Frontiers in Oncology*, 12, 816506.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.816506>

- Li, W., Tanikawa, T., Kryczek, I., Xia, H., Li, G., Wu, K., Wei, S., Zhao, L., Vatan, L., Wen, B., Shu, P., Sun, D., Kleer, C., Wicha, M., Sabel, M., Tao, K., Wang, G., & Zou, W. (2018). Aerobic glycolysis controls myeloid-derived suppressor cells and tumor immunity via a specific CEBPB isoform in triple-negative breast cancer. *Cell Metabolism*, 28(1), 87–103.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.022>
- Loo, W. T. Y., Cheung, M. N. B., & Loo, P. C. (2025). Meta-analysis: 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) induces diverse types of breast carcinoma in rat models: A systematic review of tumor histopathology and pathogenesis. *Oncogene*, 12, 13.
- Luo, D., Zhu, C., & Jing, J. (2025). Bergapten exhibits antitumor effects on DMBA-induced oral squamous cell carcinoma via anti-inflammatory and apoptotic activities in hamsters by inhibiting NF- κ B and PI3K/Akt/mTOR pathways. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00210-025-04405-3>
- Manna, D., Akhtar, S., Maiti, P., Mondal, S., Kumar Mandal, T., & Ghosh, R. (2020). Anticancer activity of a 1,4-dihydropyridine in DMBA-induced mouse skin tumor model. *Anti-Cancer Drugs*, 31(4), 394–402. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000887>
- Naseemuddin, M., Iqbal, A., Nasti, T. H., Ghandhi, J. L., Kapadia, A. D., & Yusuf, N. (2012). Cell mediated immune responses through TLR4 prevents DMBA-induced mammary carcinogenesis in mice. *International Journal of Cancer*, 130(4), 765–774. <https://doi.org/10.1002/ijc.26100>
- Neagu, M., Caruntu, C., Constantin, C., Boda, D., Zurac, S., Spandidos, D. A., & Tsatsakis, A. M. (2016). Chemically induced skin carcinogenesis: Updates in experimental models (Review). *Oncology Reports*, 35(5), 2516–2528. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4683>
- Owen, J. L., Gunja-Smith, Z., & Lopez, D. M. (2001). MMP-9 production by T cells from mammary tumor bearers is upregulated by tumor-derived VEGF. *Breast Cancer Research*, 3(1), A46. <https://doi.org/10.1186/bcr373>
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2017). The microenvironmental landscape of brain tumors. *Cancer Cell*, 31(3), 326–341. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.02.009>
- Samburova, V., Connolly, J., Gyawali, M., Yatavelli, R. L. N., Watts, A. C., Chakrabarty, R. K., Zielinska, B., Moosmüller, H., & Khlystov, A. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons in biomass-burning emissions and their contribution to light absorption and aerosol toxicity. *Science of The Total Environment*, 568, 391–401. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.026>
- Snarskaya, E. S., Pylev, L. N., Akhunzyanov, A. A., & Kuznetcova, E. V. (2017). Experimental Basosquamous Carcinoma Model in Rats. *BioNanoScience*, 7(2), 423–427. <https://doi.org/10.1007/s12668-016-0380-0>
- Sun, Y., Ma, Y., & Wang, H. (2025). Chemopreventive role of β -caryophyllene in DMBA-induced skin cancer: Modulation of apoptotic pathways and PI3K/Akt signaling in Swiss albino mice. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 34(9), 1541–1552.
- Thomas, G., Tuk, B., Song, J.-Y., Truong, H., Gerritsen, H. C., de Gruijl, F. R., & Sterenborg, H. J. C. M. (2016). Studying skin tumourigenesis and progression in immunocompetent hairless SKH1-hr mice using chronic 7,12-dimethylbenz(a)anthracene topical

- applications to develop a useful experimental skin cancer model. *Laboratory Animals*, 51(1), 24–35. <https://doi.org/10.1177/0023677216637305>
- Torres-Cabala, C., Li-Ning-Tapia, E., & Hwu, W.-J. (2020). Pathology-based biomarkers useful for clinical decisions in melanoma. *Archives of Medical Research*, 51(8), 827–838. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.09.008>
- Vähätupa, M., Pemmari, T., Junttila, I., Pesu, M., & Järvinen, T. A. H. (2019). Chemical-induced skin carcinogenesis model using dimethylbenz[a]anthracene and 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (DMBA-TPA). *JoVE*, 154, e60445. <https://doi.org/10.3791/60445>
- Wang, Z., Xiao, Y., Huang, A., Zhang, L., & Luo, H. (2025). Attenuation of brucine action on DMBA/TPA-induced skin cancer by PI3K/Akt/mTOR signaling. *Journal of Molecular Histology*, 56(4), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10735-025-10524-1>
- Wi, K., Hwang, S. Y., Kim, Y. G., Lee, S. I., Lee, C. J., Bang, G., ... Lee, M. H. (2025). Costunolide inhibits the progression of TPA-induced cell transformation and DMBA/TPA-induced skin carcinogenesis by regulation of AKT-mediated signaling. *Cancer Cell International*, 25(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12935-025-03742-w>
- Xia, Y., Huang, C., Zhong, M., Zhong, H., Ruan, R., Xiong, J., Yao, Y., Zhou, J., & Deng, J. (2025). Targeting HGF/c-MET signaling to regulate the tumor microenvironment: Implications for counteracting tumor immune evasion. *Cell Communication and Signaling: CCS*, 23(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12964-025-02033-1>
- Zotta, A., Toller-Kawahisa, J., Palsson-McDermott, E. M., O'Carroll, S. M., Henry, Ó. C., Day, E. A., McGettrick, A. F., Ward, R. W., Ryan, D. G., Watson, M. A., Brand, M. D., Runtsch, M. C., Maitz, K., Lueger, A., Kargl, J., Miljkovic, J. L., Lavelle, E. C., & O'Neill, L. A. J. (2025). Mitochondrial respiratory complex III sustains IL-10 production in activated macrophages and promotes tumor-mediated immune evasion. *Science Advances*, 11(4), eadq7307. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adq7307>
- Zulfa, H. A., Bebi, N., Irawati, U., Hermawati, L., & Diana, W. A. (n.d.). Literature review: The role of pyruvate kinase M2 in aerobic glycolysis of cancer cells: Mechanisms and potential inhibitor (1–9).