

Hepatotoksisitas Ochratoxin A Pada Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pendedahan Selama Periode Oorganogenesis

By Arum Setiawan

Hepatotoksisitas Ochratoxin A Pada Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pendedahan Selama Periode Oorganogenesis

Arum Setiawan^{1*}, Respati Wulandari², Mammed Sagi³, dan Istriyati⁴

¹Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya

E-mail : setiawan_unsri@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi

Abstrak. Ochratoxin A (OTA) merupakan metabolit utama kelompok Ochratoxin yang bersifat toksis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian OTA selama organogenesis terhadap struktur histologi hepar fetusmencit. OTA diberikan secara oral dengan dosis 0,5 mg/kgbb, 1,0 mg/kgbb dan 1,5 mg/kgbb pada umur kebuntingan (uk) 7-14 hari. Kelompok kontrol tidak diberi perlakuan sama sekali, sedangkan kelompok placebo diberi perlakuan dengan sodium bikarbonat. Hepar fetus diambil pada saat uk-18 hari, diproses untuk pengamatan mikroanatomi dengan metode parafin, tebal sayatan 6 µm, diwarnai dalam larutan *Hematoxylin Eosin*. Sayatan histologi hepar diamati di daerah sekitar vena sentralis dan hepatosit. Hasil pengamatan menunjukkan hepar kelompok kontrol dan plasebo sel-selnya tidak mengalami kerusakan. Pada perlakuan I, II, dan III, vena sentralis mengalami hiperemia dan hepatosit mengalami kerusakan berupa cloudy swelling, nekrosis, dan hemorhagi. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian OTA pada induk mencit selama umur kebuntingan 7-14 hari akan menyebabkan kerusakan pada struktur hepar fetus mencit. Tingkat kerusakan sejalan dengan semakin tingginya dosis perlakuan.

Kata kunci: Ochratoxin A, hepar, fetus mencit, struktur histology

PENDAHULUAN

Ochratoxin A bersifat racun pada banyak spesies binatang, dengan ginjal sebagai target utama. Keracunan OTA erat kaitannya dengan gang-guan dan gagal ginjal yang akhir-akhir ini makin meningkat. Contoh yang konkrit di Eropa, yang disebut *Porcine nephropathy* pada ternak babi dan *Balkan nephropathy* pada manusia, sudah dibuktikan ada kaitan erat dengan makanan yang tercemar OTA. *Porcine nephropathy* merupakan kerusakan ren pada babi yang disebabkan terkontaminasinya pakan dengan OTA, yang ditandai dengan gejala gizi buruk dan pertumbuhan yang lamban. *Balkan nephropathy* merupakan pe-nyakit endemik yang ditemukan di Bulgaria, Yugoslavia dan Romania yang menyebabkan kerusakan pada ginjal.

Balkan nephropathy terjadi pada manusia yang sering meng-konsumsi

makanan yang berjamur, seperti keju. Pada tikus dan mencit, OTA juga diketahui menyebabkan tumor pada ginjal dan hepar.

Hepar adalah organ penyerapan nutrien dari saluran cerna dan disimpan dalam bentuk lain agar dapat dimanfaatkan oleh organ lain dalam tubuh. Hepar memiliki beberapa fungsi, antara lain untuk detoksifikasi, sekresi empedu, penyimpanan metabolit, fungsi metabolik, dan sintesis protein. Detoksifikasi merupakan pemecahan beberapa senyawa bersifat racun menjadi metabolit yang bersifat hidrofil yang mudah dieksresikan melalui ginjal.

OTA memperlihatkan sifat ne-frotoksik, hepatotoksik, teratogenik dan immunotoksik pada beberapa spesies binatang dan menyebabkan abnormal-litas pada jaringan hepar dan jantung. Dengan berat molekul 403,82 dalton, OTA yang diberikan kepada induk mampu melewati barier plasenta dan masuk ke dalam



tubuh fetus hewan, sedangkan pada manusia OTA dapat masuk melalui air susu ibu yang terkontaminasi. Oleh karena meluasnya makanan yang terkontaminasi oleh OTA yang mungkin dikonsumsi oleh induk, semakin perlu adanya pengkajian mengenai gangguan dan kerusakan organ pada fetus, terutama hepar fetus, dalam hubungannya dengan pencemaran makanan oleh jamur yang menghasilkan OTA. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian OTA selama periode organogenesis terhadap struktur mikroanatomis hepar fetus mencit.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Mei sampai Juni 2012, bertempat di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM dan Laboratorium Embriologi dan Histo-logi Hewan Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.

Bahan dan Alat

hewan uji yaitu 30 ekor mencit (*Mus musculus L.*) betina bunting, umur \pm 2–2,5 bulan, dengan berat 25–30 g. Hewan uji diberi pakan berupa pellet Par G. OTA untuk perlakuan dan sodium bikarbonat sebagai pelarutnya. Bahan yang diperlukan untuk pembuatan preparat histologi hepar fetus yaitu alkohol absolut, alkohol 96 %, formalin 10 %, parafin, xilol, toluol, *erlich's hematoxylin*, *eosin y*, gelas benda dan penutup dan canada balsam.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk pemeliharaan hewan percobaan. S spuit injeksi ukuran 1 ml untuk pemberian perlakuan, satu set alat bedah untuk membedah hewan perlakuan, mikrotom putar, *hotplate*, oven paraffin, mikrometer, mikroskop binokular dan alat fotomikrografi sebagai alat dokumentasi.

Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing 6 ulangan. Dosis perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah kontrol (akuades), kontrol placebo (sodium bicarbonat), perlakuan OTA Dosis 0,5mg/kgbb/hari, perlakuan OTA Dosis 1,0mg/kgbb/hari, perlakuan OTA Dosis 1,5mg/kgbb/hari. Perlakuan diberikan secara oral menggunakan jarum berkanul (jarum cekok) dengan volume 1 ml selama 8 hari berturut-turut secara oral, yaitu mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-14 kebuntingan.

Pengambilan Data

Pada umur kebuntingan 18 hari, induk mencit dibunuh dan diambil fetusnya, kemudian dari fetus diambil hepar dan difiksasi dalam larutan formalin 10 % untuk preparasi selanjutnya.

Analisis Data

Data mengenai struktur mikroskopis hepar fetus mencit dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan membandingkan struktur histologis kelompok perlakuan dengan kontrol dan placebo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap struktur mikroanatomis hepar fetus mencit dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1

Tabel 1. Penilaian kualitatif struktur mikroanatomis hepar fetus mencit

| Organ | Perlakuan | Variabel | | | | | | |
|-------|-----------|----------|-----|----|----|----|----|----|
| | | CS | KR | KL | PN | AT | HM | HP |
| Hepar | K | - | - | - | - | - | - | - |
| | KP | - | - | - | - | - | - | - |
| | P1 | + | + | + | + | - | - | - |
| | P2 | ++ | ++ | ++ | ++ | - | - | - |
| | P3 | ++ | +++ | ++ | ++ | - | + | + |



Keterangan :

- : tidak ada; + : sedikit; ++ : sedang; +++ : banyak

CS : *Cloudy swelling*,

KR : Karioreksis

KL : Kariolisis

PN : Piknosis

AT : Atrofi,

HM : Hemorhagi,

HP : Hiperemia

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil berupa data kualitatif, yaitu data hasil pengamatan mikroanatomis hepar fetus mencit (*Mus musculus* L.) sebelum pemberian OTA dan sesudah pemberian OTA pada induknya.

Pada kelompok kontrol hepar fetus susunannya terlihat normal dengan vena sentralis terletak di tengah lobulus (Gambar 1.A). Sel-sel hepar tidak tersusun secara radier terhadap vena sentralis seperti pada struktur hepar dewasa, sehingga masih sangat sulit dibedakan antar sel-sel penyusun hepar atau hepatosit (gambar 1.A.b). Pada kelompok plasebo hepar fetus juga terlihat normal dengan vena sentralis terletak di tengah lobulus hepar.

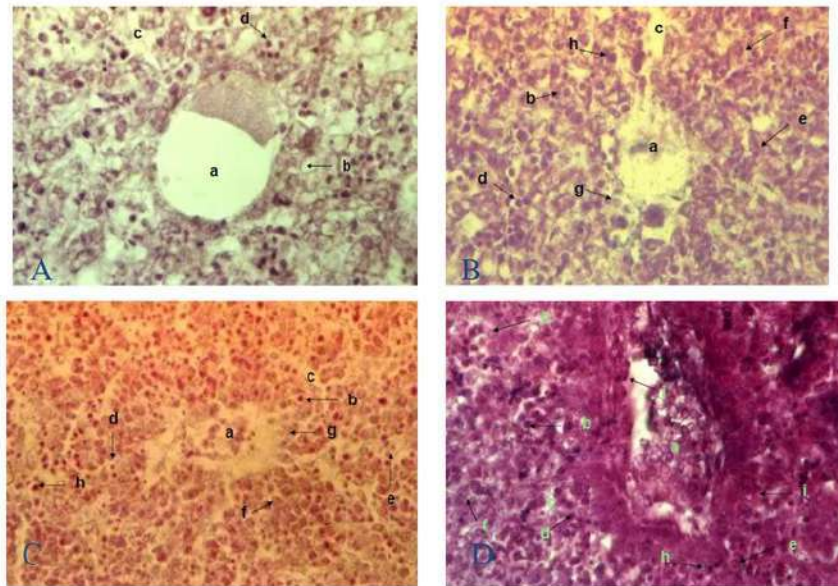
Pada kelompok perlakuan I, terlihat bahwa hepar fetus mulai mengalami kerusakan. Pada gambar 1.B di atas, vena sentralis juga berada di tengah lobulus seperti pada hepar normal. Sel-selnya juga tidak tersusun radier terhadap vena sentralis, sehingga sulit dibedakan sel-sel penyusunnya, yaitu hepatosit (Gambar 1.B.b). Sinusoid (Gambar 1.B.c) juga belum menunjukkan gambaran yang jelas. Namun pada perlakuan I ini vena sentralis mulai terlihat keruh karena adanya sel penyusun hepar (hepatosit) yang berada di sekitar vena sentralis mengalami kerusakan

(pecah) dan nukleusnya keluar dari sel dan masuk ke vena sentralis. Pada beberapa bagian sel, terlihat adanya degenerasi bengkak keruh atau *cloudy swelling* (Gambar 1.B.e) yang terjadi akibat kelebihan cairan dalam sel sehingga sel akan membengkak dan inti sel akan terdesak ke tepi. Selain itu, pada beberapa bagian sel ada yang inti selnya normal, ada yang inti selnya sudah pecah menjadi fragmen-fragmen (karioreksis), ada yang inti selnya sudah hilang (kariolisis) dan ada pula yang intinya memadat (piknosis). Pada perlakuan ini, sel-sel yang mengalami nekrosis belum banyak terlihat.

Pada perlakuan II, struktur mikroanatomis hepar mencit juga terlihat memiliki vena sentralis yang juga berada di tengah lobulus seperti pada hepar normal (Gambar 1.C.a). Sel-selnya juga tidak tersusun radier terhadap vena sentralis sehingga sulit dibedakan sel-sel penyusunnya atau hepatosit (Gambar 1.C.b). Sinusoid sulit mendapat gambaran yang jelas. Hanya saja pada perlakuan ini, vena sentralis terlihat keruh karena banyaknya sel di sekitar vena sentralis yang mengalami kerusakan (pecah) sehingga intinya keluar dari sel dan masuk ke dalamnya. Sel-sel penyusun hepar juga terlihat ada yang mengalami degenerasi bengkak keruh atau *cloudy swelling*. Degenerasi ini diakibatkan karena terjadinya kelebihan cairan dalam sel sehingga sel membengkak dan intinya terdorong ke tepi. Beberapa sel di sekitar vena sentralis juga terlihat mengalami karioreksis, kariolisis dan piknosis pada intinya. Pada Gambar 1.C. di atas, sel-sel yang mengalami nekrosis sudah mulai terlihat semakin banyak jumlahnya.



Arum Setiawan, dkk: *Hepatotoksitas Ochratoxin A Pada Fetus Mencit (Mus musculus L.) Setelah Pendedahan Selama Periode Oorganogenesis*



Gambar 1. Struktur mikroanatomis hepar fetus mencit.

Keterangan :

A. Kontrol,

B. Perlakuan Dosis 0,5 mg/kgbb

C. Perlakuan Dosis 1,0mg/kgbb,

D. Perlakuan Dosis 1,5 mg/kgbb

a. Vena sentralis, b. hepatosit, c. sinusoid, d. inti sel, e. *Cloudy swelling*

f. kariorekisis, g. kariolisis, h. piknosis, i. hemoraghi, j. hiperemia

Pada perlakuan III, struktur mikroanatomis hepar fetus terlihat mengalami kerusakan. Pada Gambar 1.D di atas, dapat dilihat bahwa vena sentralis (Gambar 1.D.a) terlihat keruh karena adanya fragmen-fragmen dari hepatosit disekitarnya yang mengalami kerusakan (pecah). Hepatosit juga masih sulit dibedakan dengan jelas, begitu pula sinusoid-nya yang semakin tidak terlihat gambarannya. Vena sentralis juga tampak mengalami hiperemia atau pendarahan. Hal ini terlihat dari adanya gambaran serabut tipis berwarna merah pada vena sentralis. Hiperemia dapat terjadi karena degenerasi sel hepar (hepatosit) yang menyebabkan sinusoid menjadi sempit sehingga darah terkungkung didalamnya dan tidak

bisa mengalir. Beberapa sel intinya ada yang normal dan ada pula yang mengalami nekrosis, yaitu kariorekisis, kariolisis dan piknosis. Kariorekisis merupakan pecahnya inti sel menjadi fragmen-fragmen, kariolisis merupakan lisisnya inti sel, sedangkan piknosis merupakan memadatnya inti sel. Nekrosis banyak terjadi pada sel-sel di sekitar vena sentralis, yang ditandai daerah yang bersifat eosinofilik (berwarna merah), homogen tanpa adanya inti sel (sehingga tidak ada pengikatan hematoxylin). Terlihat pula adanya hemorrhagi, yaitu suatu keadaan dimana darah berada pada tempat yang tidak semestinya, misal diantara sel-sel penyusun hepar (hepatosit). Hemorrhagi ini terjadi akibat adanya



gangguan mekanisme ion Na^+ dan K^+ yang mengakibatkan gangguan pada aliran darah sehingga sel darah merah akan terjebak dalam kapiler darah. Terganggunya sirkulasi dalam kapiler darah akan menyebabkan darah terkumpul dalam kapiler sehingga mengakibatkan tekanan dinding kapiler naik. Jika keadaan ini berlangsung secara terus menerus, maka dinding kapiler darah akan pecah sehingga sel-sel darah seperti eritrosit akan memasuki jaringan.

Pada beberapa bagian sel, terlihat adanya degenerasi bengkak keruh atau *cloudy swelling*. Degenerasi bengkak keruh atau *cloudy swelling* ini terjadi akibat kelebihan cairan dalam sel sehingga sel akan membengkak dan inti sel (nukleus) akan terdesak ke tepi. Sel tersebut kekurangan pasokan oksigen dan nutrisi. OTA yang masuk dalam darah akan terikat pada protein plasma pada serum darah, yaitu albumin. OTA yang masuk ke dalam darah ini akan ikut mengalir di sepanjang aliran darah, dan kemungkinan hal ini akan mengakibatkan infeksi pada banyak eritrosit sehingga mengganggu fungsi hemoglobin yang terkandung di dalamnya. Hal tersebut dapat mengakibatkan terhambatnya sirkulasi oksigen yang dibawa oleh hemoglobin. Hambatan sirkulasi oksigen tersebut menyebabkan pasokan oksigen pada sel-sel hepar menjadi berkurang. Selain terjadi gangguan pada sirkulasi oksigen, juga terjadi penurunan pasokan nutrisi yang diedarkan oleh darah. Kekurangan pasokan oksigen dan nutrisi pada sel hepar akan menyebabkan perubahan struktur mikroanatomis sel hepar fetus mencit.

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, diketahui bahwa pemberian OTA dengan dosis tertinggi mengakibatkan kerusakan yang paling parah pada hepar fetus bila

dibandingkan dengan pemberian dosis yang lebih rendah. Degenerasi sel dalam jumlah besar maupun adanya hiperemia dan hemoragi akan merusak struktur normal lobulus hepar.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah OTA yang diberikan kepada mencit bunting selama periode organogenesis akan menyebabkan mengakibatkan gangguan struktur mikroanatomis hepar fetus. Semakin tinggi dosis OTA yang diberikan pada induk mencit, semakin tinggi kerusakan hepar fetus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP₂M Dikti Depdiknas dan Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya atas bantuan dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dan dipublikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Leszkowicz, A. P. & R. A. Manderville. 2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 51. 61-99.
- Postupolski J., K. Karłowski & P. Kubik, 2006, Ochratoxin A in maternal and foetal blood and in maternal milk, *Rocz.Panstw.Zakl.Hig.*, 57:23-30.
- Ueta E., M. Kodama, Y. Sumino, M. Kurome, K. Ohta, R. Katagiri & I. Naruse, 2009, Gender-dependent differences in the incidence of Ochratoxin A-induced neural tube defects in Pdn/Pdn mouse, *Con.Anom. Manuscript ID :CGA-08-2009-043.R2*.
- Junqueira, L.C., J. Carneiro, dan R. O. Kelley. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi



Arum Setiawan, dkk: Hepatotoksisitas Ochratoxin A Pada Fetus Mencit (Mus musculus L.) Setelah Pendedahan Selama Periode Oorganogenesis

- ke-8. Alih bahasa Dr. Jan Tambayong. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 291-293; 370-385.
- Anief, M. 2002. Perjalanan dan Nasib Obat di Dalam Tubuh. Cetakan ketiga. UGM Press. Yogyakarta. 83-86.
- Zhang X., C. Bocsch-Saadatmandi, Y. Lou, S. Wolfram, P. Huebbe and G. Rimbach, 2009, Ochratoxin A induces apoptosis inneuronal cells, *Genes Nutr.*, 4:41-48.
- Guyton A.C. and J.E. Hall, 2005, Textbook of Medical Physiology 12th Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
- Marti, N.B., 2006, Ochratoxin A and Ochratoxigenic Modulds in Grapes, Must and Wine, *Ecophysiological Study*, Universitat de Lleida.
- Price, S.A. and L.M. Wilson, 1984, Clinical Concepts of Diseases Processes, McGraw-Hill Inc., New York, 206-230.
- Leeson, C. R. & T. S. Leeson. 1976. Histology 3rd edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. 237-239.



Hepatotoksisitas Ochratoxin A Pada Fetus Mencit (Mus musculus L.) Setelah Pendedahan Selama Periode Oorganogenesis

ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

★docobook.com
Internet

12%

EXCLUDE QUOTES ON
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES < 1%