

Histopatologi Hati dan Paru Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Formalin dan Benzo(α)pyrene

Rike Wahyuningroom¹, Aris Soewondo², Sri Widyarti³

^{1,2,3} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

rike.wahyuni@gmail.com¹, soewondo@ub.ac.id², swid@ub.ac.id³

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian formalin dan benzo(α)pyrene terhadap struktur jaringan hati dan paru mencit (*Mus musculus*). Mencit jantan berumur dua bulan terpapar formalin dosis 2 mg/kg berat badan dengan perlakuan oral selama 60 hari dan terpapar benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan dengan perlakuan injeksi intraperitoneal sebanyak empat kali setelah 30 hari dengan selang waktu satu hari. Struktur histologi hati dan paru mencit dianalisis secara deskriptif. Jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis dianalisis dengan menggunakan uji Mann-Whitney pada software SPSS 16.0 for Windows. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian formalin, benzo(α)pyrene dan kombinasi antara formalin dan benzo(α)pyrene meningkatkan jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis. Nekrosis terjadi di sekitar area portal triad dan di sekitar area vena sentralis pada hati mencit, sedangkan nekrosis terjadi di sekitar area vena pada paru mencit.

Kata kunci : benzo(α)pyrene, formalin, hati, nekrosis, paru

ABSTRACT

The objective of this research is to examine the effects of formalin and benzo(α)pyrene administration on the liver and lungs histological structure in mice (*Mus musculus*). Two months of age male mice were treated orally with formalin 2 mg/kg body weight during 60 days and injected intraperitoneally with benzo(α)pyrene 250 mg/kg body weight four times after 30 days with one day interval. Histological structure of liver and lungs were analyzed descriptively. Numbers of necrotic hepatocytes were analyzed with Mann-Whitney Test by using SPSS 16.0 for Windows software. The result showed that administration of formalin, benzo(α)pyrene and combination of formalin and benzo(α)pyrene increase the number of necrotic hepatocytes. Necrosis was found around portal triad area and central vein area in the liver, whereas necrosis was found around vein area of mice lungs.

Keywords : benzo(α)pyrene, formalin, liver, lungs, necrosis

PENDAHULUAN

Paparan formalin dan benzo(α)pyrene dalam dosis tertentu dapat menyebabkan kerusakan DNA. Aktivasi enzim poly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1) pada 74, 62, 55 dan 42 kDa menunjukkan adanya indikasi nekrosis akibat paparan formalin dan benzo(α)pyrene pada hati dan paru mencit [7]. Paparan formalin dosis 25 mg/kg berat badan dan benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan mampu menyebabkan terbentuknya *necrotic foci* pada parenkim hati [8].

Kerusakan sel dan jaringan yang terjadi akibat paparan formalin dan benzo(α)pyrene sehingga dapat menyebabkan sel menjadi nekrosis akan diamati secara histologis sehingga diketahui

tingkat kerusakan sel rata-rata baik pada hatimaupun paru. Penelitian ini dilakukan sebagai konfirmasi yang berupa bukti histologi dari penelitian Maghfironi (2010) mengenai hiperaktivitas PARP-1 sebagai akibat paparan formalin dan benzo(α)pyrene terhadap hatidan paru mencit (*Mus musculus*).

METODE PENELITIAN

Perlakuan hewan coba. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) strain Balb-C berumur dua bulan dengan berat badan berkisar antara 20-30 gram. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih

dahulu selama satu minggu. Penanganan hewan coba dilakukan selama 2 bulan. Perlakuan yang diberikan pada hewan coba, antara lain: kontrol, pemberian formalin dengan dosis 2 mg/kg berat badan secara peroral setiap hari selama dua bulan, pemberian benzo(α)pyrene melalui injeksi intraperitoneal dengan dosis 250 mg/kg berat badan dilakukan setelah 30 hari dengan empat kali injeksi selang waktu satu hari, dan Pemberian formalin dosis 2 mg/kg berat badan secara peroral setiap hari dan injeksi intraperitoneal benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan yang dilakukan setelah 30 hari dengan dilakukan dalam empat kali injeksi dan selang waktu satu hari. Perlakuan formalin dilakukan untuk mengetahui adanya efek yang ditimbulkan dari administrasi larutan formalin tersebut yang menyebabkan mencit menjadi rentan terhadap senyawa karsinogenik benzo(α)pyrene.

Persiapan dan pewarnaan preparat.

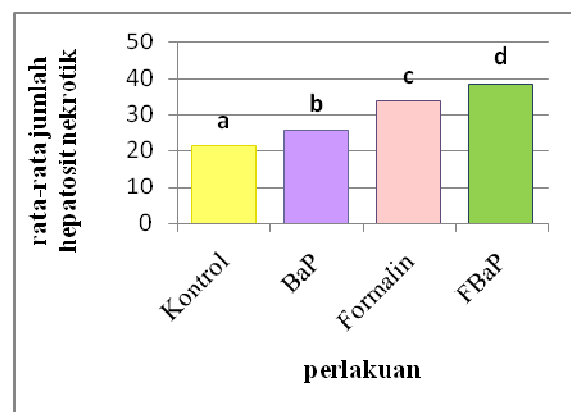
Mencit (*Mus musculus*) dibedah setelah masa perlakuan 2 bulan. Pembuatan preparat dilakukan untuk hati dan paru dengan metode parafin. Pewarnaan preparat menggunakan metode pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

Pengamatan. Pengamatan dan penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler Olympus CX21 dengan perbesaran 400x untuk spesimen organ hati, dan perbesaran 1000x untuk spesimen organ paru-paru. Pengambilan gambar spesimen dilakukan pada 5 bidang pandang yang berbeda-beda untuk masing-masing irisan preparat hati, sedangkan untuk preparat paru dilakukan pengambilan gambar spesimen pada setiap bronkus maupun bronkiolus yang tampak.

Analisis data. Data jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis dianalisis dengan Uji Mann-Whitney menggunakan software SPSS 16.0 (for Windows). Struktur hati & paru dianalisis secara deskriptif.

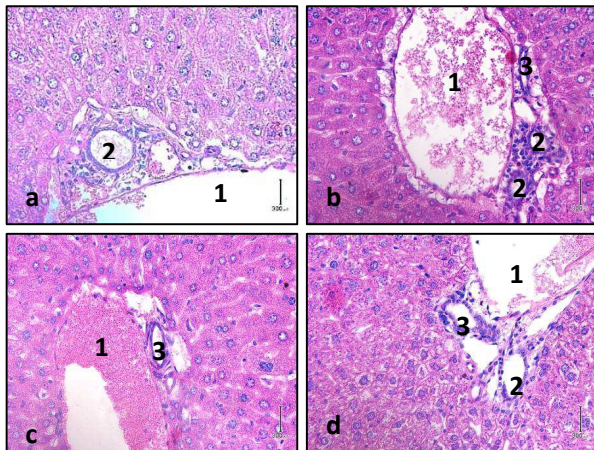
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis pengamatan histologi hati menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan kontrol, benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan (BaP), formalin dosis 2 mg/kg berat badan (Formalin), dan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan dengan formalin dosis 2 mg/kg berat badan (FBaP). Gambar 1 berikut merupakan grafik hasil analisis data yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar tiap perlakuan yang ditunjukkan oleh perbedaan notasi.



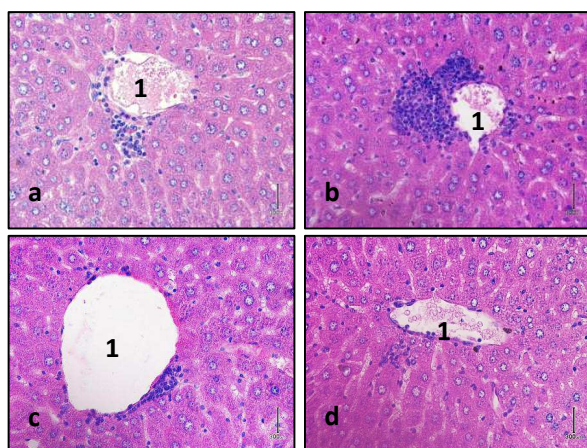
Gambar 1. Grafik rata-rata jumlah hepatosit nekrotik pada tiap perlakuan

Grafik pada gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan jumlah sel nekrosis berturut-turut pada tiap perlakuan yang diberikan, yaitu perlakuan kontrol, benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan (BaP), formalin dosis 2 mg/kg berat badan (Formalin), dan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan dengan formalin dosis 2 mg/kg berat badan (FBaP). Jumlah sel nekrosis tertinggi terdapat pada perlakuan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan dengan formalin dosis 2 mg/kg berat badan (FBaP). Perbedaan notasi pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan bila dibandingkan antara satu dengan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa paparan formalin dosis 2 mg/kg berat badan dan benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan mampu mempengaruhi struktur jaringan organ hati mencit (*Mus musculus*).



Gambar 2. Histologi hati area portal triad pada tiap perlakuan. a. Kontrol, b. BaP 250 mg/kg bb, c. Formalin 2 mg/kg bb, d. BaP + Formalin. 1. vena portal, 2. duktus empedu, 3. arteri portal. Perbesaran 400x.

Hasil pengamatan histologi hati menunjukkan bahwa hepatosit yang mengalami nekrosis terdapat di sekitar area portal triad dan vena sentralis (gambar 2 dan 3). Jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis berbeda pada tiap perlakuan. Darah yang kaya akan oksigen dan nutrisi yang telah diabsorpsi oleh usus halus akan masuk melalui area portal. Portal triad tersusun atas jaringan ikat, dan terdiri atas cabang-cabang dari arteri hepatis, vena portal hepatis, duktus empedu dan pembuluh limfa, sedangkan darah dari vena dan arteri pada area portal bercampur pada sinusoid terlebih dahulu kemudian mengalir menuju vena sentralis dan selanjutnya menuju sirkulasi darah [1].

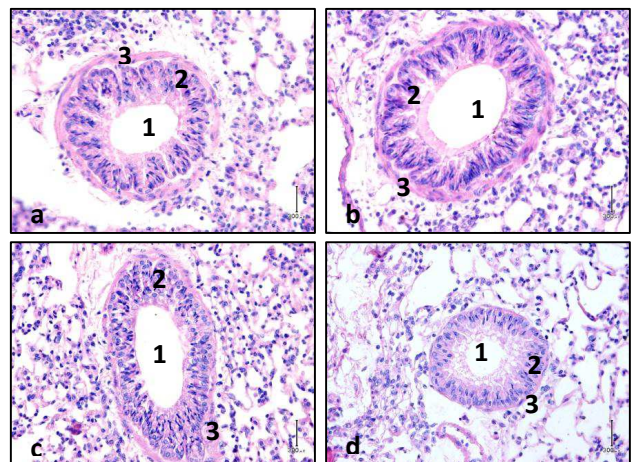


Gambar 3. Histologi hati area vena sentralis pada tiap perlakuan. a. Kontrol, b. BaP 250 mg/kg bb, c. Formalin 2 mg/kg bb, d. BaP + Formalin. 1. vena sentralis. Perbesaran 400x

Darah dari semua bagian tubuh harus melalui paru-paru sehingga setiap kelainan yang mempunyai hubungan dengan aliran darah juga akan mengenai paru-paru [5]. Histologi bronkiolus paru dengan perlakuan kontrol, benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan, formalin dosis 2 mg/kg berat badan, dan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan dengan formalin dosis 2 mg/kg berat badan tampak pada gambar 4.

Nekrosis tidak dapat diamati pada bronkiolus kecil. Gambaran histologi bronkiolus yang diberi perlakuan benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg berat badan, formalin dosis 2 mg/kg berat badan, dan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg berat badan dengan formalin dosis 2 mg/kg berat badan tidak tampak berbeda dengan perlakuan kontrol.

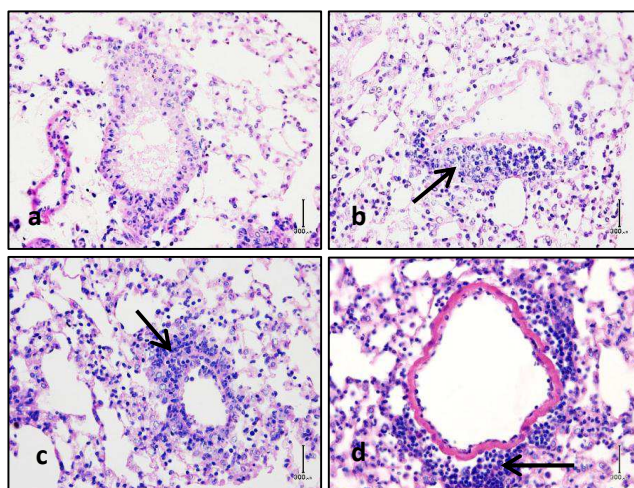
Pemberian perlakuan tampak berpengaruh pada vena paru yang menunjukkan adanya perbedaan histologis pada tiap perlakuan. Berbeda dengan perlakuan kontrol, ketiga perlakuan yang lain menunjukkan adanya nekro-inflamasi di sekeliling vena sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan benzo(α)pyrene dengan dosis 250 mg/kg berat badan, formalin dengan dosis 2 mg/kg berat badan dan kombinasi antara keduanya memberikan pengaruh terhadap histologi vena paru kecil (gambar 5).



Gambar 4. Histologi bronkiolus paru pada tiap perlakuan. a. Kontrol, b. BaP 250 mg/kg bb, c. Formalin 2 mg/kg bb, d. BaP + Formalin. 1. lumen, 2. epitel kolumnar, 3. sel otot polos. Perbesaran 400x

Konsentrasi formaldehid yang tinggi dapat menyebabkan reaksi sitotoksik [10]. Metabolisme benzo(α)pyrene oleh P450

menghasilkan jenis mutagenik ($\pm$)-benzo[*a*]pyrene-*r*-7,*t*-8-dihydrodiol-*t*-9,10- bersifat sangat reaktif dan dapat mengikat makromolekul seperti DNA, RNA dan protein sehingga dapat menginisiasi terjadinya nekrosis [4].



Gambar 5. Histologi vena paru pada tiap perlakuan a. Kontrol, b. BaP 250 m/kg bb, c. Formalin 2 mg/kg bb, d. BaP + Formalin. 1. Lumen. Perbesaran 400x. Anak panah menunjukkan nekrosis

Formalin yang diadministrasikan secara oral akan menuju sistem pencernaan langsung dimetabolisme oleh hati, benzo(α)pyrene yang diadministrasikan dengan injeksi intraperitoneal diabsorpsi melalui vena mesenterik dan limfatik kemudian menuju ke hati, namun tidak dapat dimetabolisme dan dieliminasi oleh usus [6, 9].

Umumnya peristiwa nekrosis berkaitan dengan inflamasi [2]. Perubahan pada hati akibat absorpsi formalin terdiri dari pembengkakan (cloudy swelling) dari level yang ringan hingga parah, diikuti dengan vakuolasi pada protoplasma, perubahan nuklei dan infiltrasi leukositik sehingga dapat menyebabkan nekrosis fokal [3].

KESIMPULAN

Pemberian benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg bb, formalin dosis 2 mg/kg bb, dan kombinasi antara benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg bb dengan formalin dosis 2 mg/kg bb secara signifikan meningkatkan jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis apabila dibandingkan dengan kontrol. Jumlah nekrosis pada hepatosit meningkat secara signifikan berturut-turut pada perlakuan benzo(α)pyrene dosis 250 mg/kg bb, formalin dosis 2 mg/kg bb, dan kombinasi antara

benzo(α)pyrene dosis 250mg/kg bb dengan formalin dosis 2 mg/kg bb. Sel yang mengalami nekro-inflamasi pada hati ditemukan di sekitar area portal triad dan vena sentralis, sedangkan pada paru ditemukan di sekitar vena.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih yang sedalam-dalamnya ditujukan pada Allah SWT, orang tua dan keluarga, Bapak Drs. Aris Soewondo, M.Si selaku pembimbing, Bapak Drs. Sofy Permana, M.Sc. D.Sc. dan Ibu Dr. Sri Rahayu, M.Kes. selaku penguji, Ibu Dr. Sri Widyarti, M.Si selaku dosen pembimbing akademik dan penyelenggara proyek penelitian, serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Eroschenko, Victor P. & Mariano S. H. di Fiore. 2008. DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. Lippincott Williams & Wilkins: New York
- [2] Festjens, Nele, Tom Vanden Berghe & Peter Vandenabeele. 2006. Review: Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise : Signalling Cascades, important mediators and concomitant immune response. Biochimica et Biophysica Acta. 1757 : 1371-1387
- [3] Fischer, Martin H. 2003. Toxic effects of formaldehyde and formalin. <http://jem.rupress.org/>. tanggal akses : 27 Oktober 2011
- [4] Kim, James H., Kevin H. Stansbury, Nigel J. Walker, Michael A. Trush, Paul T. Strickland & Thomas R. Sutter. Metabolism of benzo(α)pyrene and benzo(α)pyrene-7,8-diol by human cytochrome P450 1B1. Carcinogenesis. 19 (10): 1847-1853
- [5] Kurniawan, A. N. 1983. Patologi: saluran pernafasan. Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- [6] Le, Jennifer. 2012. Drug administration. http://www.merckmanuals.com/home/drugs/administration_and_kinetics_of_drugs/drug_administration.html. tanggal akses : 01 Juni 2013
- [7] Maghfirani, A. 2010. Studi ekspresi protein PARP-1 pada organ hati dan paru mencit yang dipapar formalin dan benzopiren.

Jurusan Biologi Universitas Brawijaya.
Malang. Skripsi

- [8] Soni, Ahmad. 2013. Study of necrosis in the liver of formaldehyde and benzo(a)pyrene exposed-mice. *The Journal of Tropical Life Science*. 3 (1). 58-62
- [9] Uno, Shigeyuki, Timothy P. Dalton, Sandrine Derkenne, Christine P. Curran, Marian L. Miller, Howard G. Shertzer & Daniel W. Nebert. 2004. Oral exposure to benzo(a)pyrene in the mouse: detoxication by inducible cytochrome P450 is more important than metabolic activation. *Molecular Pharmacology*. 65: 1225-1237
- [10] Viegas, Susana, Carla Nunes, Joana Malta-Vacas, Mário Gomes, Miguel Brito, Paula Mendonça & João Prista. 2010. Genotoxic effects of exposure to formaldehyde in two different occupational settings. *J Occup Med Toxicol*. 5: 25.