

**PERUBAHAN HISTOKIMIA HATI DAN GINJAL MENCIT TERPAPAR MERKURI
SERTA PEMULIHANNYA DENGAN NANOGOLD**

**HISTOCHEMICAL CHANGES LIVER AND KIDNEY OF MICE EXPOSED TO
MERCURY AND RECOVERY WITH NANOGOLD**

Titik Taufikurohmah^{1*}, I Gusti Made Sanjaya¹, Afaf Baktir², Achmad Syahrani³

¹Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Surabaya, Surabaya, Indonesia

²Departemen Kimia, Fakultas SAINTEK Universitas, Airlangga Surabaya, Surabaya,
Indonesia

³Departemen Kimia, Fakultas Farmasi Universitas, Airlangga Surabaya, Surabaya, Indonesia

*email: ttaufikurohmah@yahoo.com, titiktaufikurohmah@unesa.ac.id

Received 11 February 2016; Accepted 15 April 2016; Available online 16 May 2016

ABSTRAK

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh fenomena beredarnya kosmetik bermerkuri yang terjadi pada masyarakat saat ini. Rumusan masalah dalam penelitian adalah apakah terjadi kerusakan histokimia hati dan ginjal mencit setelah terpapar merkuri dan apakah *nanogold* dapat memulihkan kerusakan tersebut. Penelitian pre-klinik ini menggunakan hewan uji mencit *Mus musculus* sebanyak 24 ekor dibagi dalam 6 grup dimana grup A sebagai control, grup B dipapar Merkuri, Grup C, D, E dan F setelah dipapar merkuri masing-masing dipulihkan dengan nanogold konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm. Pemaparan dilakukan satu minggu dengan pemulihan empat minggu. Mencit dinekropsi setelah perlakuan, hati dan ginjal diproses menjadi preparat dengan metode *embedding blocking* dalam paraffin. Pewarnaan Histokimia jaringan hati dan ginjal dengan *Hematoxylin eosin* (HE) untuk mengetahui perubahan sel dan jaringan sedangkan pewarnaan *Van Geyson* untuk mengetahui struktur kolagen penyusun jaringan. Statistik Manova menunjukkan hasil yang berbeda diantara grup perlakuan. Kerusakan jaringan sel dan kolagen dapat diamati dari teknik Histokimia terhadap grup yang terpapar merkuri dibandingkan grup control. Proses pemulihan jaringan sel dan kolagen dapat diamati dari grup C, D, E dan F. Dengan demikian disimpulkan bahwa merkuri yang dipapar 1 minggu melalui kulit memberikan efek kerusakan jaringan sel dan kolagen pada hati dan ginjal Mencit. *Nanogold* 20 ppm dapat memulihkan kerusakan jaringan sel dan kolagen dari hati dan ginjal Mencit setelah 4 minggu pemulihan.

Kata kunci: hewan uji, kolagen, kosmetik, pre-klinik, sel

ABSTRACT

The background of this research is the circulation cosmetic with mercury that occur today in society. The problem of the research is that occur histochemical's damage liver and kidney after exposure to mercury, and is that nanogold can recovery that damage. The pre-clinical study needed 24 mice (*Mus musculus*) were divided into 6 groups, the control is A group, B group was exposed to mercury, Groups C, D, E and F after being exposed to mercury, than recovery by nanogold with concentration each of 5, 10, 15 and 20 ppm. Exposure was performed 1 week and 4 weeks of recovery. Necropsy of mice doing after treatment, liver and kidneys are processed into preparations by blocking with paraffin embedding method.

Histochemical staining of liver and kidney tissue with Hematoxylin eosin (HE) to determine changes of cell constituent and staining Van Geyson to determine the structure of collagen constituent. Statistics Manova showed different results between treatment groups. Tissue damage, lysis cell and destruction of collagen can be observed from histochemical techniques for mercury-exposed group compared to the control group. Tissue and collagen recovery process can be observed from group C, D, E and F. The conclusion that the effects of mercury one week exposed through skin give effect to collagen tissue damage at liver and kidneys of mice. 20 ppm of Nanogold can recovery damaged cells and collagen tissue from the liver and kidneys of mice after four weeks of recovery.

Keywords: animal test, cells, collagen, cosmetic, pre-clinical.

PENDAHULUAN

Beredarnya kosmetik bermerkuri di Indonesia berkaitan erat dengan munculnya klinik-klinik kecantikan di berbagai Kota besar yang menyediakan kosmetik berbahaya ini. Hal ini telah dilakukan uji kandungan merkuri dan hidroquinon dari beberapa klinik kecantikan di Kota Surabaya, dimana 6 sampel 5 diantaranya positif mengandung merkuri (Taufikurohmah & Setiarso, 2012). Fenomena baru yang sangat diminati masyarakat terutama kaum wanita saat ini adalah kulit putih merona. Fenomena ini tidak hanya terjadi di Indonesia tetapi juga di China dan Korea pada produk kosmetik berbentuk liquid atau cairan. (Xiaoyu & Jie, 2011). Untuk mendapatkan kondisi yang diinginkan ini, mereka tidak peduli meskipun harus menggunakan kosmetik dengan bahan berbahaya merkuri. Merkuri mampu memutihkan kulit dari noda hitam, melalui mekanisme menekan sel melanocyt yaitu sel yang mengekskresikan melanin atau pigmen kulit. Kulit tanpa pigmen terlihat putih seperti kapas, sangat rentan terhadap kerusakan baik oleh sinar matahari utamanya sinar UV dan juga debu polusi yang mengandung banyak radikal bebas. Sesungguhnya pigmen kulit adalah pelindung dari sinar matahari agar sel kulit tidak mengalami kerusakan, ibaratnya seperti payung pelindung untuk sel-sel kulit namun ternyata keberadaannya tidak disukai, dianggap mengganggu dan

disingkirkan dengan krem pemutih wajah. Krim pemutih wajah yang mengandung merkuri sangat membahayakan karena memicu terbentuknya radikal bebas yang menyebabkan kerusakan berantai baik sel fibroblas maupun kolagen pada kulit wajah (Taufikurohmah, Soegianto, Sanjaya, Baktir, & Syahrani, 2013b).

Bahaya merkuri dalam krim pemutih meskipun sering disiarkan melalui berbagai media, namun terasa tidak mempan, bahkan tidak mampu mengalahkan keinginan untuk mendapatkan kulit putih merona dalam waktu singkat. Penelitian pre-klinik menggunakan mencit *Mus musculus* ini bertujuan memberikan edukasi melalui pembuktian ilmiah bahaya kosmetik bermerkuri yang dioleskan di permukaan kulit, terhadap dua organ penting yaitu ginjal dan hati. Bahaya secara langsung pada bagian kulit yang dioleskan krem yang mengandung merkuri sangat jelas yaitu terjadinya lisis atau kematian sel fibroblast dan kerusakan jaringan kolagen pada kulit (Taufikurohmah, Winarni, Sanjaya, Baktir, & Syahrani, 2013a).

Ginjal adalah organ dimana proses penyaringan darah terjadi. Kontaminan yang terbawa oleh darah yang merupakan sisa metabolisme, terakumulasi di dalam ginjal. Kontaminan yang berupa logam berat sangat membahayakan ginjal diantaranya dapat menyebabkan inflamasi dan penumpukan matriks ekstra seluler (Hu, Mars, & Liu, 2008). Kegagalan sistem

penyembuhan jaringan ginjal akibat trauma kronis disebut sebagai renal fibrosis. Renal fibrosis termasuk jenis kerusakan yang sulit dipulihkan karena bersifat irreversible. Renal fibrosis termasuk gejala kronis ginjal yang mengindikasikan telah terjadi proses kerusakan yang berlangsung lama (Liu, 2006).

Hati adalah organ penting manusia, yang merupakan pusat terjadinya metabolisme kompleks. Hati juga merupakan tempat menyimpan nutrisi penting yang diedarkan ke seluruh tubuh. Hati merupakan tempat pembentukan dan sekresi cairan empedu yang juga sangat penting dalam sistem pencernaan. Fungsi utama hati selain memproduksi cairan empedu, juga tempat menetralkan racun yang masuk dalam tubuh juga mendukung sistem perlindungan tubuh. Pemberian ekstrak etanol daun *Ashitaba* secara oral tidak memberikan efek yang bermakna terhadap histologi hati mencit, dimana hanya ditemukan nekrosis dan degenerasi melemak ringan (Swarayana, Sudira, & Berata, 2012).

Fisiologi hati dan ginjal sangat berkaitan dengan makanan, minuman dan kontaminan yang masuk dalam tubuh, dimana kedua organ tersebut ikut ambil bagian di dalam sistem metabolisme baik ekskresi dan sekresi tubuh. Penggunaan krim yang mengandung bahan berbahaya merkuri diduga terbawa dalam metabolisme dan sirkulasi tubuh, mengendap dalam jaringan hati dan ginjal juga mempengaruhi sistem metabolisme yang ada pada kedua organ tersebut. Untuk membuktikan dugaan ini perlu dilakukan penelitian pre-klinik terhadap perubahan fisiologi kedua organ yang diamati menggunakan teknik penanganan jaringan.

Perubahan jaringan baik ginjal maupun hati dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pemulihan kerusakan akibat merkuri dilakukan dengan pemberian krem yang mengandung

nanogold. Perkembangan jaringan hati dan ginjal yang mengalami pemulihan secara bertahap dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok yang terpapar merkuri tanpa pemulihan.

Hipotesis penelitian yang dibuktikan adalah ada pengaruh perlakuan terhadap parameter uji pada jaringan antara lain kuantitas dan kualitas sel dan kolagen. Kualitas jaringan sel dan kolagen dapat diamati dari pewarnaan histokimia menggunakan pewarna hematoxilin-eosin (HE) dan pewarna Van Geyson. Pewarna HE memberikan penajaman gambar sel penyusun jaringan, sedangkan pewarna Van Geyson lebih memperlihatkan jaringan kolagen.

Tujuan penelitian ini memberikan penjelasan efek merkuri yang dipaparkan melalui kulit, terhadap dua organ penting ginjal dan hati mencit. Hal ini dimaksudkan untuk memberikan penjelasan ilmiah bahayanya kosmetik bermerkuri terhadap kesehatan ginjal dan hati agar masyarakat lebih berhati-hati dan tidak ikut-ikutan menggunakan kosmetik berbahaya ini. Pemulihan kerusakan 2 organ penting menggunakan nanogold diharapkan dapat terjadi sebagaimana pemulihan kerusakan sel fibroblas dan jaringan kolagen pada kulit yang telah terpapar kosmetik bermerkuri (Taufikurohmah, Sanjaya, Baktir, & Syahrani, 2014).

Nanogold adalah istilah untuk kumpulan atom emas (cluster) dalam jumlah tertentu yang memiliki diameter dalam rentang 1-100 nm. Berbagai teknik sintesis nanogold diantaranya dengan material awal kation Au^{3+} yang direduksi menggunakan natrium sitrat dalam matriks gliseril mono stearate dan digunakan sebagai antiaging dalam kosmetik modern (Taufikurohmah, Sanjaya, & Syahrani, 2011). *Nanogold* memiliki aktivitas meredakan radikal bebas, bersifat sebagai antioksidan dan telah digunakan dalam produk farmasi termasuk obat dan

kosmetik. Dalam uji aktivitas menggunakan radikal bebas buatan *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) terbukti bahwa makin tinggi konsentrasi nanogold didapatkan persen peredaman terhadap radikal bebas ini makin meningkat (Taufikurohmah, Sanjaya, Baktir, & Syahrani, 2012).

Aktivitas *nanogold* dalam mendukung aktivitas tabir surya oktil parametoksi sinamat juga telah berhasil meningkatkan serapan sinar Ultra Violet (UV), dengan demikian nanogold juga dapat menghambat penuaan akibat sinar matahari atau yang lebih dikenal *photoaging* (Sanjaya & Taufikurohmah, 2013). Dalam kajian histologi, *nanogold* telah terbukti meningkatkan proliferasi sel fibroblast dan meningkatkan biosintesis kolagen yang merupakan produk ekstra seluler dari sel ini yang berperan dalam membangun elastisitas dan keremajaan kulit (Taufikurohmah, Winarni, Sanjaya, Baktir, & Syahrani, 2013a).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah mencit jenis *Mus musculus*, pakan mencit, paraffin, entelan, pewarna Hematoksin Eosin (HE), pewarna Van Geyson, Xilitol, Alkohol, eter, krem placebo, formalin, buffer phospat 10%, merkuri (Hg^{2+}) 20 ppm, *nanogold* (Au^0) 20 ppm. Sedangkan alat-alat yang digunakan meliputi kandang mencit lengkap, pisau, sarung tangan, peralatan gelas, peralatan penanganan jaringan, seperangkat bak celup, bak embading, microtom HM 355S *Rotary Microtome*, penangas air, bak pewarna, pinset, penjepit, kaca obyek, mikroskop Axio Imager A2 & software Axiovision Rel 4.8 .

Prosedur

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi dalam 6 kelompok atau

grup. Grup A sebagai kelompok kontrol, Grup B adalah kelompok perlakuan yang dipapar menggunakan krim yang mengandung merkuri di permukaan kulit tanpa pemulihan. Grup C, D, E dan F adalah kelompok perlakuan yang dipapar merkuri sebagaimana Grup B tetapi dilanjutkan pemulihan menggunakan nanogold masing-masing dengan konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm. Seluruh mencit diadaptasi selama 2 minggu (14 hari). Pemaparan dilakukan selama 1 minggu, sementara itu pemulihan dilakukan selama 4 minggu.

Mencit yang digunakan dalam penelitian berusia 2 bulan dengan kisaran berat 20-25 gram. Seluruh mencit diadaptasi selama 2 minggu, selanjutnya dilakukan perlakuan dengan menggunakan krem yang dioles di bagian punggung dengan pertimbangan tidak mudah dijangkau oleh tangan maupun kaki mencit. Kelompok control (grup A) dengan krem placebo, sedangkan Kelompok merkuri (grup B) dengan krem yang sejenis tetapi ditambahkan merkuri 20 ppm selama 1 minggu. Grup C, D, E dan F diperlakukan sebagaimana grup B tetapi dilanjutkan dengan pemulihan menggunakan krem yang sejenis tetapi ditambahkan *nanogold* 5, 10, 15 dan 20 ppm.

Preparasi jaringan dilakukan setelah perlakuan pengolesan krem dan pengambilan jaringan ginjal dan hati dari mencit. Histokimia pada jaringan diawali dengan proses fiksasi menggunakan formalin 10% dalam buffer phospat. Selanjutnya jaringan dipotong kubus dan dicelupkan dalam alkohol dengan konsentrasi meningkat dari 70, 80, 90 dan 96% dilanjutkan toluena pertama dan kedua masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya penanaman jaringan pada parafin cair dan dibiarkan sampai beku dan keras sehingga siap diiris tipis. Dengan menggunakan *microtome* jaringan diiris tipis 4 μm . Irisan tipis jaringan dimasukkan dalam *water bath*

lalu diletakkan diatas gelas obyek dan siap diwarnai.

Pewarnaan histokimia jaringan ginjal dan hati dengan pewarna HE dan Van Geison. Jaringan diamati menggunakan mikroskop Axio Imager A2 dengan kamera AxioCam ICc 1 dilengkapi dengan software Axiovision Rel 4.8 untuk menghitung luas area jaringan yang tertutup kolagen. Pemeriksaan tiap gambar dilakukan pada 5 lapang pandang yang berbeda dengan perbesaran 400X. Analisis data terhadap kualitas jaringan dilakukan dengan membandingkan masing-masing perlakuan. Analisa kuantitatif jaringan dengan menghitung kerapatan kolagen dibantu dengan software, sedangkan jumlah sel per area dihitung pada tiap luasan tertentu ($80.000 \mu\text{m}^2$) pada 5 lapang pandang yang berbeda. Data kuantitas sel per luas area dan luas area yang tertutup kolagen tiap grup perlakuan dianalisis statistic dengan MANOVA pada SPSS 18.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pewarnaan Jaringan Ginjal dan Analisisnya.

Pewarnaan jaringan ginjal menggunakan pewarna HE

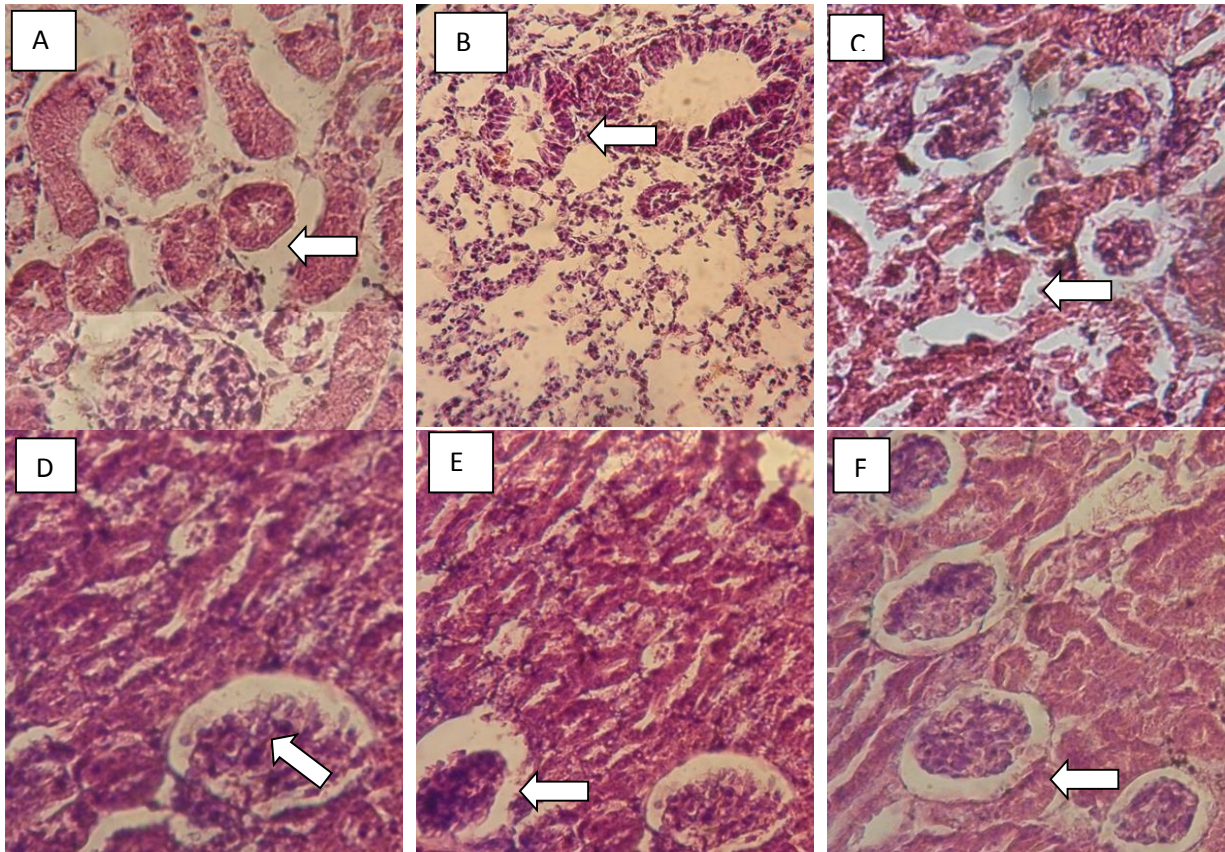
Pewarnaan jaringan menggunakan pewarna HE untuk mengamati jaringan sel pada ginjal. Penyerapan warna oleh inti sel yang lebih tajam dibandingkan plasma sel, dapat digunakan untuk menjelaskan penyebaran, kerapatan dan jumlah sel. Inti sel yang tidak seragam ukuran dan penyebarannya menunjukkan adanya gangguan diantaranya lisis dan kematian sel. Histologi jaringan yang ada pada ginjal juga dapat teramati diantaranya glomerulus

dan saluran-saluran dengan epitel selapis yang berbentuk segi enam terlihat jelas dengan pewarnaan ini.

Kualitas jaringan ginjal grup perlakuan dapat diamati dari gambar mikroskopik dengan perbesaran 400x dibandingkan dengan kualitas jaringan kelompok normal. Rusaknya jaringan akibat pemaparan merkuri dan juga proses pemulihan jaringan dapat diamati dari gambar mikroskopik ini. Pemulihan terjadi apabila gambar mikroskopik jaringan mendekati atau mirip dengan gambar jaringan kelompok normal. Pada jaringan ginjal mencit kelompok normal terlihat glomerulus (anak panah putih pada **Gambar 1A**) memiliki bentuk yang kokoh dengan saluran-saluran yang tegas dan epitel-epitel pipih dengan bentuk segi enam yang seragam (Putra, Aulanni'am, & Oktaviane, 2011). Pemaparan merkuri menyebabkan glomerulus mengalami kerusakan dimana bentuknya sudah tidak segi enam dan terburai atau pecah. Proses pemulihan menggunakan *nanogold* terjadi secara bertahap dapat diamati pula pada **Gambar 1C-F**, dimana bentuk epitel pipih segi enam mulai jelas pada gambar terakhir (**Gambar 1F**) yaitu pemulihan dengan konsentrasi *nanogold* 20 ppm selama empat minggu.

Jumlah sel ginjal tiap area seluas $80.000 \mu\text{m}^2$ dihitung pada 5 lapang pandang yang berbeda pada tiap kelompok yang terdiri dari 4 mencit menghasilkan data seperti yang ditampilkan pada **Tabel 1**.

Uji statistik Manova terhadap data menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dalam jumlah sel ginjal rata-rata.



Gambar 1. Penampang melintang ginjal mencit dengan pewarnaan HE, A adalah ginjal kelompok normal, B kelompok terpapar merkuri, C, D, E dan F kelompok pemulihan dengan *nanogold* 5, 10, 15 dan 20 ppm.

Tabel 1. Data jumlah rata-rata sel Ginjal pada luas area tertentu.

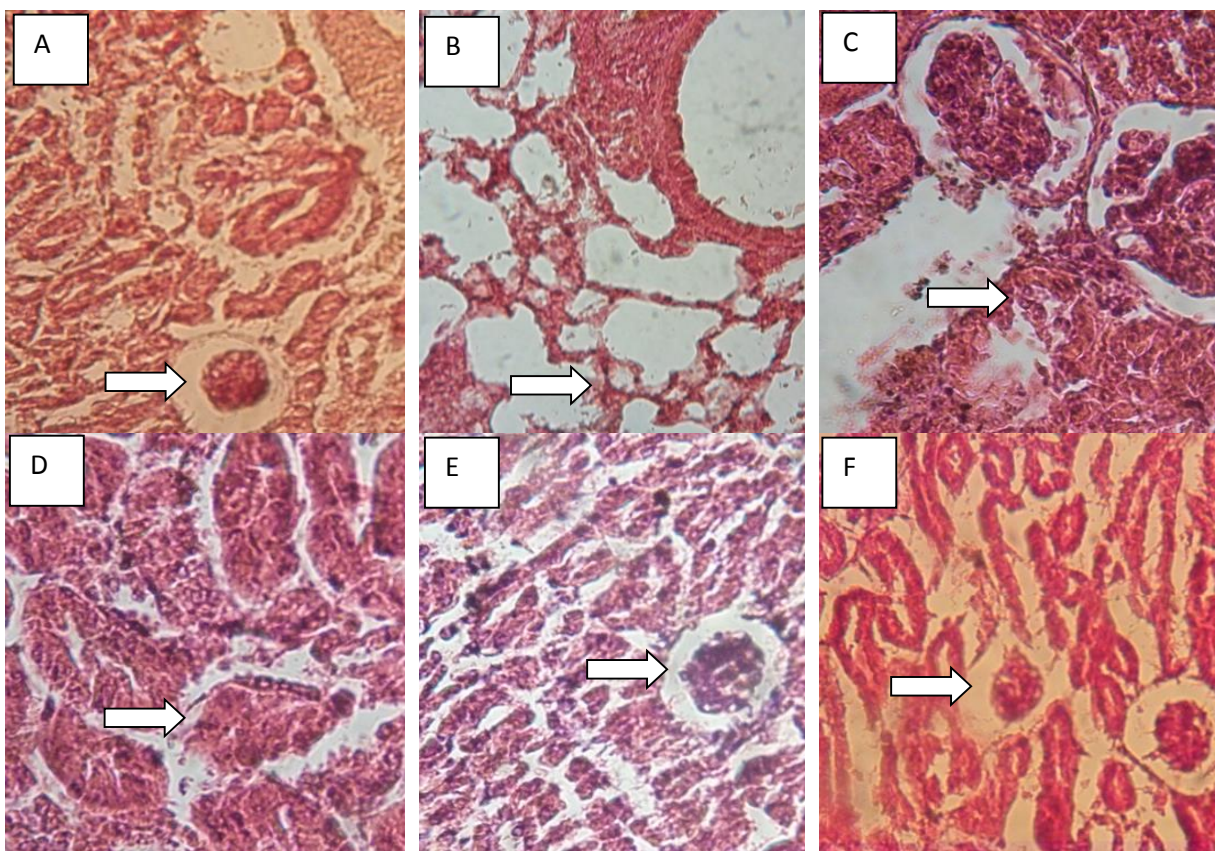
Kelompok	Jumlah sel ginjal rata2 tiap 80.000 μ m ² pada 5 lapang pandang 4 mencit					
A	29	31	30	33	32	
B	10	11	9	8	9	
C	11	13	12	11	12	
D	14	16	19	17	15	
E	22	24	26	27	23	
F	32	31	30	33	31	

Pewarnaan jaringan ginjal menggunakan pewarna Van Geison.

Pewarna Van Geison terserap maksimal oleh jaringan kolagen, dengan demikian peningkatan kuantitas kolagen maupun penurunannya dapat diamati dengan sangat baik. Degradasi kolagen akibat merkuri dapat diamati dari munculnya jaringan-jaringan melemak yang

tidak menyerap pewarna sehingga terlihat putih dalam gambar histokimia (**Gambar 2**).

Persen luas area yang tertutup kolagen dihitung pada 5 lapang pandang yang berbeda pada tiap kelompok yang terdiri dari 4 mencit menghasilkan data sebagaimana yang terdapat pada **Tabel 2**.



Gambar 2. Penampang melintang ginjal mencit dengan pewarnaan Van Geison, A adalah ginjal kelompok normal, B kelompok terpapar merkuri, C, D, E dan F kelompok pemulihan dengan nanogold 5, 10, 15 dan 20 ppm.

Tabel 2. Data area kolagen pada luas jaringan ginjal tertentu.

Kelompok	% area rata2 yang tertutup kolagen (80.000 μm^2) pada 5 lapang pandang 4 mencit				
A	40,25	41,51	40,53	39,88	42,12
B	15,23	18,45	17,43	17,54	18,41
C	27,42	29,34	31,23	32,54	29,23
D	35,33	36,12	36,46	37,03	38,2
E	38,42	39,02	38,66	39,21	39,26
F	42,34	43,12	44,12	41,56	40,88

Uji statistik multivariat MANOVA memberikan nilai signifikansi 0,00 untuk kelompok uji, hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh antar kelompok uji dalam jumlah sel dan kuantitas kolagen, selanjutnya pada *Leven's test of equality of error variance* memberikan harga signifikansi 0,431 untuk jumlah sel dan 0,089 untuk kuantitas kolagen. Karena kedua harga lebih besar dari 0,05 maka data termasuk homogen. Uji *Between-Subject*

Effects memberikan harga signifikansi 0,00 menunjukkan terdapat hubungan antara jumlah sel dan kuantitas kolagen.

Pemberian rodamin B yang bersifat toksik pada mencit dengan konsentrasi makin besar memberikan kerusakan ginjal yang makin besar. Kerusakan ginjal yang dimaksud terjadi pada bagian glomerulus yaitu penyempitan ruang bowman, cerosis tubulus, nekrosis dan hipertropi (Mayori, Marusini, & Tjong, 2013). Kerusakan ginjal

akibat pemberian merkuri lebih parah dibandingkan kerusakan akibat rodamin B dimana tidak hanya penyempitan ruang bowman tetapi glomerulus pecah terburai sehingga ruang bowman tertutup serpihan glomerulus.

Pemberian teh hitam dengan dosis yang meningkat dapat menurunkan inflamasi dan kerusakan glomerulus pada ginjal mencit, hal ini disebabkan karena kandungan flavonoid pada teh hitam. Senyawa Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang meredam radikal bebas yang banyak dihasilkan pada proses inflamasi dan kerusakan glomerulus sehingga kerusakan lebih lanjut dapat dicegah dan menuju pemulihan (Pawitra & Jean, 2010). Pemberian *nanogold* pada konsentrasi meningkat memberikan hasil pemulihan kerusakan kolagen dan sel ginjal mencit semakin cepat juga. Mekanisme aktivitasnya juga seperti senyawa antioksidan pada umumnya tetapi *nanogold* memiliki aktivitas lebih lama karena setelah teroksidasi selanjutnya tereduksi kembali dan aktif sebagai antioksidan tanpa mengalami kerusakan, adapun senyawa antioksidan alami setelah teroksidasi, rusak strukturnya dan tidak aktif lagi. Aktivitas katalitik dari *nanogold* telah dilaporkan dalam berbagai biosintesis penting dalam tubuh sehingga telah banyak diaplikasikan dalam berbagai produk biofarmasi dan biomedik (Alanazi, Awwad, & Ibrahim, 2010).

Pemberian monosodium glutamat (MSG) dapat menimbulkan kerusakan tubulus proksimal pada ginjal mencit, hal ini disebabkan karena terbentuknya radikal bebas yang menyerang bagian ginjal tersebut. Pemulihan kerusakan tubulus proksimal ini secara bertahap dapat

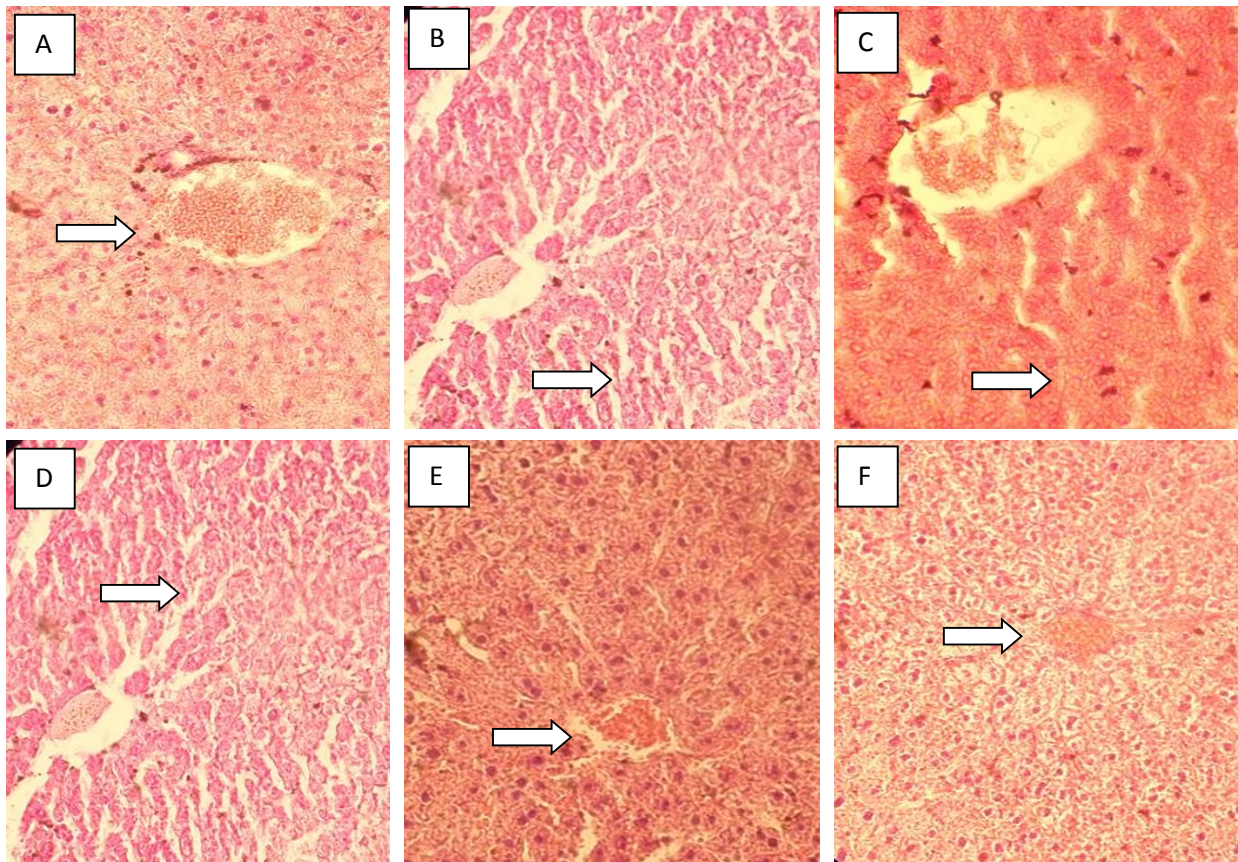
dilakukan dengan pemberian gabungan vitamin E dan vitamin C yang berperan sebagai antioksidan (Zulfiani & Hutahaean, 2015). Mekanisme pemulihan tubulus proksimal juga terjadi pada kerusakan akibat merkuri yang dilanjutkan pemulihannya dengan *nanogold*. Dengan demikian *nanogold* dapat berfungsi untuk meredam radikal bebas akibat kerusakan jaringan oleh pemberian merkuri.

Hasil Pewarnaan Jaringan Hati dan Analisisnya

Pewarnaan jaringan hati dengan pewarna HE

Inti sel hati menyerap warna yang bersifat basa dari HE sehingga terlihat lebih gelap (anak panah putih pada **Gambar 3A**) dibandingkan sitoplasma di sekitarnya, dengan demikian jumlah dan kerapatan inti sel teramati dengan tegas. Pada kelompok yang terpapar merkuri (**Gambar 3B**), inti sel tidak teramati sebagaimana kelompok normal (**Gambar 3A**). Merkuri menyebabkan kerusakan sel yang diawali dengan degradasi matriks ekstra seluler sehingga terlihat saluran-saluran kosong. Beberapa sel terkumpul dimana terdapat juga sel tanpa inti atau inti sel tidak berselaput yang merupakan awal dari lisis dan kematian sel. Pemulihan oleh *nanogold* dapat terlihat pada kelompok C, D, E dan F, dimana terlihat pembentukan sel secara bertahap menuju kondisi normal (**Gambar 3C-F**).

Persen luas area yang tertutup kolagen pada penampang hati mencit seluas $80.000\mu\text{m}^2$ pada 5 lapang pandang yang berbeda tiap kelompok yang terdiri dari 4 mencit menghasilkan data sebagaimana ditampilkan pada **Tabel 4**.



Gambar 3. Penampang melintang hati mencit dengan pewarnaan HE, A adalah hati kelompok normal, B kelompok terpapar merkuri, C, D, E dan F kelompok pemulihan dengan *nanogold* 5, 10, 15 dan 20 ppm.

Tabel 3. Data jumlah sel hati tiap luas area tertentu.

Kelompok	Jumlah sel hati tiap 80.000 μm^2 pada 5 lapang pandang 4 mencit				
A	43	45	46	47	51
B	10	12	14	16	15
C	17	19	21	20	18
D	23	25	26	22	24
E	34	37	38	41	39
F	48	51	54	52	49

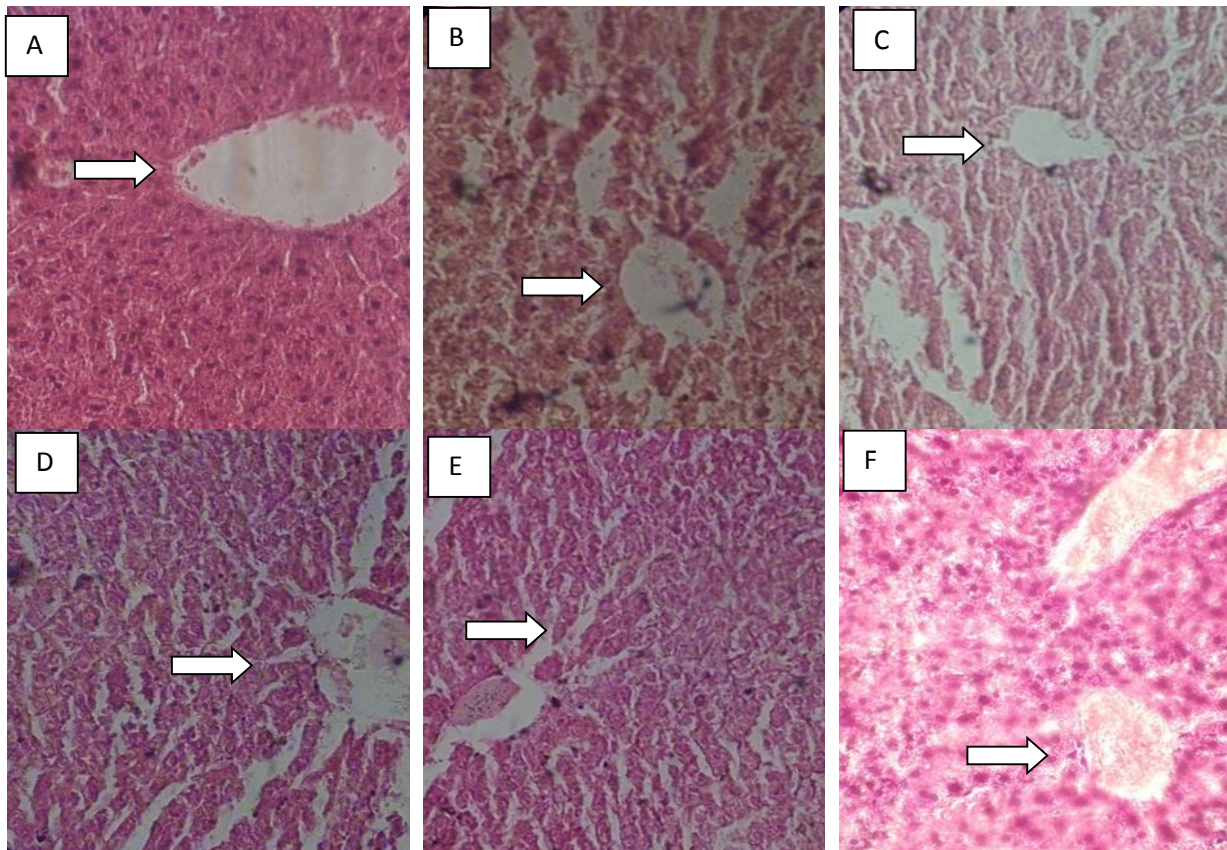
Uji statistik multivariat MANOVA memberikan nilai signifikansi 0,00 untuk kelompok uji, hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh antar kelompok uji dalam jumlah sel dan kuantitas kolagen, selanjutnya pada *Leven's test of equality of error variance* memberikan harga signifikansi 0,421 untuk jumlah sel dan 0,093 untuk kuantitas kolagen. Karena kedua harga lebih besar dari 0,05 maka data

termasuk homogeny. Uji *Between-Subject Effects* memberikan harga signifikansi 0,00 menunjukkan terdapat hubungan antara jumlah sel dan kuantitas kolagen.

Induksi CCl_4 pada mencit dapat menimbulkan kerusakan pada hati mencit, diantaranya terjadi nekrosis dan steatosis. Kerusakan ini dapat diatasi dengan pemberian ekstrak tanaman sarang semut yang memicu regenerasi sel sehingga

nekrosis dan steatosis mengalami penurunan (Tatukude, Loho, & Lintong, 2014). Penurunan nekrosis dan steatosis dan perbaikan sel hati mencit akibat paparan merkuri juga berhasil dilakukan dengan pemberian *nanogold*. Pemulihan jaringan sel hati secara bertahap bahkan sampai kembali seperti kondisi semula terjadi pada mencit yang terpapar merkuri dan pemulihan menggunakan *nanogold*. Pemulihan ini dapat terjadi salah satunya

karena *nanogold* mampu berkonjugasi dengan glutathion yaitu antioksidan endogen dalam sel untuk bersinergi dalam fungsi meredam radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel (Ji-Ae et al, 2008). Nanogold juga berperan dalam penstabilan ATP yang merupakan sumber energy sel sehingga keberadaan *nanogold* dalam sel mengaktifkan proses metabolisme dalam kondisi sehat (Mi et al, 2010).



Gambar 4. Penampang melintang hati mencit dengan pewarnaan Van Geison, A adalah hati kelompok normal, B kelompok terpapar merkuri, C, D, E dan F kelompok pemulihan dengan *nanogold* 5, 10, 15 dan 20 ppm.

Tabel 4. Data area kolagen pada jaringan hati.

Kelompok	Jumlah sel hati tiap 80.000 μ m ² pada 5 lapang pandang 4 mencit				
A	81,23	79,34	82,61	82,88	80,90
B	31,45	34,56	33,90	35,65	34,20
C	40,63	42,56	43,23	40,88	42,65
D	45,67	48,78	47,87	49,20	44,90
E	67,34	65,60	68,78	70,23	66,40
F	80,23	81,34	82,32	80,66	82,50

KESIMPULAN

Merkuri menimbulkan kerusakan pada sel dan jaringan kolagen pada organ ginjal mencit, pemulihan secara bertahap oleh *nanogold* memberikan hasil yang signifikan pada perbaikan sel dan jaringan kolagen. Merkuri juga menimbulkan kerusakan pada sel dan jaringan hati, dengan pemberian *nanogold* kerusakan tersebut dapat dipulihkan kembali. Dengan demikian kerusakan akibat pemakaian merkuri dalam kosmetik dapat dipulihkan menggunakan kosmetik yang mengandung *nanogold* secara bertahap.

UCAPAN TERIMA KASIH

1. Komisi Etik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah meloloskan uji Etik untuk penelitian ini.
2. Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memfasilitasi perlakuan jaringan Histokimia.
3. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya yang telah menyediakan instrument Mikroskop lengkap dengan software analisis gambar histokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alanazi, F.K., Awwad, A. Radwan., Ibrahim, A. Alsarra. (2010). Biopharmaceutical applications of nanogold (Review Article). *Saudi Pharmaceutical Journal*. 18, 179-183
- Hu, K., Mars, W., & Liu, Y. (2008). Novel actions of tissue-type plasminogen activator in cronic kidney disease: A Paradigm Shift. *Kidney International* 8(1), 1-13.
- Swarayana, I. M., Sudira, I. W., & Berata, I. K. (2012). Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) . *Buletin Veteriner Udayana*, 1(1)119-125.
- Ji-Ae, P., Pattubala, A. R., Hee-Kyung, K., In-sung, K., Gab-Chul, K., Yongmin, C., (2008). Gold nanoparticles functionalized by GD-complex of DTPA-bis(amide) conjugate of glutathione an MRI contrast agent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(23) , 6135-6137.
- Liu, Y. (2006). Renal Fibrosis : New insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney International* 6(9), 213-217.
- Mayori, R., Marusini, N., & Tjong, D. H. (2013). Pengaruh pemberian Rhodamin B terhadap struktur histologis ginjal mencit putih (*Mus musculus* L). *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J.Bio.UA)*, 2(1), 43-49.
- Mi, H. K., Soo, S. L., Sang J, C., Hyun, H. J., Sujung, Y., Sudeok, K. (2010). Real-time colorimetric screening of endopeptidase inhibitors using adenosine triphosphate (ATP)-stabilized gold nanoparticles. *Tetrahedron Letter*, 51(17), 2228-2231.
- Pawitra, I., & Jean, R. (2010). *Pengaruh Pemberian Teh Hitam (Camellia sinensis) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Balb/C*. Artikel Karya Tulis Ilmiah: Program Pendidikan Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro Semarang.
- Putra, R. R., Aulanni'am, & Oktavianie, D. A. (2011). *Ekspresi interleukin 1-beta (IL-1B) dan gambaran histopatologi ginjal tikus (Rattus norvegicus) model renal fibrosis hasil induksi streptokinase*. Malang: Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Laporan Penelitian

- Sanjaya, IGM., & Taufikurohmah, T. (2013). Nanogold as supporting activities of conventional sunscreen of octyl-p-methoxycinnamate to inhibit photoaging. *Chemistry and Materials*. 3 (3), 73-80.
- Tatukude, P., Loho, L., & Lintong, P. (2014). Gambaran histopatologi hati mencit Swiss yang diberi air rebusan sarang semut (*Mymercodia pendans*) paska induksi dengan carbon tetraklorida (CCl₄). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*.2(2)
- Taufikurohmah, T., Sanjaya, IGM., Syahrani, A. (2011). Nanogold synthesis using matrix mono glyceryl stearate as antiaging compounds in modern cosmetics. *Journal of Materials Science and Engineering*. 1(2)857-864
- Taufikurohmah, T., & Setiarso, P. (2012). Analisis kandungan merkuri pada krem yang beredar pada klinik kecantikan di Surabaya. Surabaya: Universitas Press.
- Taufikurohmah, T., Sanjaya, IGM., Baktir, A., Syahrani, A. (2012). Activity test of nanogold for reduction of free radicals, a pre-assessment utilization nanogold in pharmaceutical as medicines and cosmetics. *Journal of Materials Science and Engineering B*, 2 (12), 611-617.
- Taufikurohmah, T., Winarni D, A., Sanjaya, IGM., Baktir, A., Syahrani, A. (2013a). Histology study: Pre-clinic test of nanogold in *Mus musculus* skin, at fibroblast proliferation and collagen biosynthesis. *Chemistry and Materials Research*. 3 (5), 55-60.
- Taufikurohmah, T., Soegianto, A., Sanjaya, IGM., Baktir, A., Syahrani, A. (2013b). Mercury exposure effects to skin tissue of *Mus musculus* at fibroblasts cell proliferation and collagen quantity. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 4 (4), 60-70.
- Taufikurohmah, T., Sanjaya, IGM., Baktir, A., Syahrani, A. (2014). TEM analysis of gold nanoparticles synthesis in glycerin: novel safety materials in cosmetic to recovery mercury damage. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 5 (1), 397-407.
- Thomas W, Clarkson & Laszlo, Magos. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *MaInforma Health Care*. 36 (8), 609-662
- Xiaoyu, J. & Jie, J. (2011). Speciation of mercury in liquid cosmetic samples by ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 26 (7), 1380-1386
- Zulfiani, Ilyas, S., & Hutahaean, S. (2015). Pengaruh yang dipajankan monosodium glutamat (MSG) pemberian vitamin C dan E terhadap gambaran histologis ginjal mencit (*Mus musculus* L). (Padang Bulan, Medan: Departemen Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Laporan Penelitian