

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL OLIGODENDROGLIA SETELAH
PEMBERIAN CYTIDINE DIPHOSPHOCHOLINE PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) YANG DIPAPAR DENGAN METILMERKURI**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh:

DESY RAHMAWATI
NIM. 060810402

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Dr. Widjiati, drh., M.Si)
Pembimbing Utama



(Dr. M. Zainal Arifin, drh., M.S)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL OLIGODENDROGLIA SETELAH PEMBERIAN CYTIDINE DIPHOSPHOCHOLINE PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIPAPAR DENGAN METILMERKURI

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat suatu karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 25 September 2013



Desy Rahmawati

060810402

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 30 Agustus 2013

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.kes
Sekretaris : Dr. Bambang Poernomo, drh., M.S
Anggota : Arimbi, drh., M.Kes
Pembimbing Utama : Dr. Widjiati, drh., M.Si
Pembimbing Serta : Dr. M. Zainal Arifin, drh., M.S

Telah di uji pada

Tanggal : 25 September 2013

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.kes
Sekretaris : Dr. Bambang Poernomo, drh., M.S
Anggota : Arimbi, drh., M.Kes

Surabaya , 25 September 2013

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh, Ph.D
NIP. 195312161978062001

HISTOPATHOLOGY VIEW OF OLIGODENDROGLIA CELL AFTER GIVING CYTIDINE DIPHOSPHOCHOLINE IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) WERE EXPOSED BY METHYLMERCURY

Desy Rahmawati

ABSTRACT

Cytidine diphosphocholine as neuroprotektan inhibit cell damage. Methylmercury is highly neurotoxic agent, and enviromental pollutants that can cause central nervous disorders, such as brain. Methylmercury also cause developmental disorders in humans anad animals. This study aims to determine histopathology of oligodendroglia cell after giving cytidine diphosphocholine in white rats (*Rattus norvegicus*) were exposed by methylmercury. Twenty five rats divided into five groups with 30 day treatment. The control group (P0) 0.5 ml of distilled water, P1 (methylmercury 0.02 mg / kg), P2 (methylmercury 0.04 mg / kg), P3 (methylmercury 0.02 mg / kg + cytidine diphosphocholine 100mg / kg) , P4 (methylmercury 0.04 mg / kg + cytidine diphosphocholine 100mg / kg). Data analysis use ANOVA (Analysis of Variant) and Tukey test. The result of this experiment is cytidine diphosphocholine oligodendroglia cells can repair the damage that has been exposed to methylmercury showed in P2 and P4 group. The conclusion is that the provision of cytidine diphosphocholine 100mg / kg / mm / day oligodendroglia cells can repair damaged white rat (*Rattus norvegicus*) were exposed by methylmercury.

Keyword : Methylmercury, Oligodendrocyte cells , Cytidine diphosphocholine.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah swt atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul. **Gambaran histopatologi sel oligodendroglia setelah pemberian cytidine diphosphocholine pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan metilmerkuri.**

Dengan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dr. Widjiati, drh., M.Si., selaku pembimbing pertama dan Dr. M. Zainal Arifin, drh., M.S. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, nasehat, serta dukungannya sampai selesainya penyusunan naskah skripsi ini.

Dr. Eka Pramytha Hestianah., drh., M.Kes., selaku ketua penguji, Dr. Bambang Poernomo, drh., M.S., selaku sekretaris penguji, dan Arimbi, drh., M.Kes., selaku anggota penguji yang memberikan nasehat, masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S, selaku dosen wali yang selalu memberikan nasehat dan masukan akademis selama penulis menempuh pendidikan dan juga seluruh dosen beserta jajaran staf yang telah banyak membantu dan membekali ilmu selama mengikuti pendidikan di Fakultas

Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dr. Paulus Sugianto. Sp.S, atas masukan, saran dan ilmu yang diberikan selama penelitian berlangsung.

Mama Satriyanah, papa Nur Syamsi, S.E., M.H, M. Syarif Hidayat dan Nur Anissa Ramadhani yang telah mendoakan dan memberikan kasih sayangnya selama ini. Dr. Erma Safitri, drh., M.Si dan keluarga besar yang selama berkuliah telah banyak membantu dalam hal apapun.

Terima kasih untuk Agung Budianto, Sabrina Melisa, dan Roudhotul Anggraeni teman penelitian yang baik dan hangat. Sahabat-sahabat tercinta Yanti, Deny, Dennis, Mahendra, Isa, Nay, Erving, Merryyna, Mita, Surya, Ken Geneva, Elsa, Marga, Karina, Fadila, Monica, Woro, Ade, Syarah yang telah memberikan semangat dan dukungan hingga terselesainya skripsi ini, dan teman seperjuangan Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2006, 2007, 2008 yang tidak bisa penulis sebutkan semuanya.

Semua pihak lain yang telah membantu penulisan dalam penyusunan skripsi ini baik langsung maupun tidak langsung. Semoga segala bantuan dan bimbingan kepada penulis menjadi sebuah amal ibadah yang akan dibalas oleh Allah SWT. Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN IDENTITAS.....	iv
ABSTRACT.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang penelitian.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Landasan teori.....	4
1.4 Tujuan penelitian.....	5
1.5 Manfaat penelitian.....	5
1.6 Hipotesis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Cytidine diphosphocholine.....	6
2.2 Metilmerkuri.....	7
2.2.1 Karakteristik dan sumber merkuri.....	7
2.2.2 Toksisitas metilmerkuri.....	9
2.3 Tinjauan tentang otak.....	11
2.3.1 Sel oligodendroglia.....	12
2.4 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	13
BAB 3 MATERI DAN METODE.....	15
3.1 Tempat dan waktu penelitian.....	15
3.2 Materi Penelitian.....	15
3.2.1 Hewan Percobaan.....	15
3.2.2 Alat-alat penelitian.....	15
3.2.3 Bahan Penelitian.....	16
3.3 Besar Sampel.....	16
3.4 Metode Penelitian.....	17
3.4.1 Persiapan hewan penelitian.....	17
3.4.2 Penentuan dosis.....	17
3.4.3 Tahap perlakuan.....	18
3.5 Variabel penelitian.....	19
3.6 Peubah yang diamati.....	19

3.7 Rancangan penelitian dan analisis data.....	20
3.8 Kerangka operasional penelitian.....	21
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	22
BAB 5 PEMBAHASAN.....	25
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
6.1 Kesimpulan.....	28
6.2 Saran.....	28
RINGKASAN.....	29
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Hasil rerata dan simpangan baku jumlah sel oligodendroglia.....	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia Cytidine diphosphocholine.....	6
2.4 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	14
3.8 Kerangka operasional penelitian	21
4.2 Gambaran mikroskopis organ otak pada perlakuan	23
4.3 Diagram perbandingan rata-rata sel oligodendroglia.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dosis metilmerkuri dan cytidine diphosphocholine.....	35
2. Hasil analisis data	37
3. Pembuatan histopatologi organ otak.....	43
4. Dokumentasi kegiatan.....	46

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Ag	=	Argentum
Au	=	Aurum
Cd	=	Cadmium
Co	=	Cobalt
Cr	=	Cromium
Cu	=	Cuprum
Hg	=	Hydrargyrum
Fe	=	Ferum
Mn	=	Mangan
Ni	=	Nikel
Sn	=	Stannum
Zn	=	Zincum
Pb	=	Plumbum
SSP	=	Sistem saraf pusat
GnRH	=	<i>Gonadotropin releasing hormone</i>
Ppm	=	putaran per menit
bb	=	Berat badan
mg	=	milligram
kg	=	kilogram
ANOVA	=	Analisis Varian

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemajuan teknologi di bidang industri beberapa tahun terakhir ini mengakibatkan perkembangan industri dan peningkatan kualitas hidup masyarakat. Selain dampak positif juga terdapat dampak negatif dari perkembangan dan kemajuan industri bagi kehidupan manusia terutama dalam bidang kesehatan. Dampak negatif bagi kesehatan diantaranya disebabkan oleh limbah industri adanya bahan kimia sintetik yang dihasilkan oleh industri, yang bersifat embriotoksik dan teratogenik (Sadler, 2000).

Logam berat tergolong dalam bahan B3 (bahan beracun berbahaya) yaitu bahan yang karena sifat atau konsentrasinya, jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung, dapat mencemarkan dan merusak lingkungan hidup, kesehatan kelangsungan hidup manusia serta makhluk hidup lain (Priyanto, 2010). Metilmerkuri merupakan agen yang sangat neurotoksik, dan merupakan pencemar lingkungan paling banyak yang dapat menimbulkan gangguan syaraf pusat, seperti otak. Metilmerkuri juga menyebabkan gangguan perkembangan pada manusia dan hewan (Franco *et al.*, 2009).

Sumber pencemaran merkuri dapat disebabkan oleh proses geologi dan biologi. Senyawa merkuri yang terdapat pada batu dan tanah dikikis oleh hujan dan angin. Meskipun demikian, hal itu tidak sebanding jumlahnya bila dibandingkan dengan pencemaran merkuri yang disebabkan oleh aktivitas manusia, seperti: pembakaran batubara, beberapa jenis produk minyak bumi,

penggunaan fungisida, katalisator merkuri dan penambangan emas yang menggunakan merkuri untuk ekstraksi partikel emas (Nofiani, 2004).

Data pada manusia maupun hewan menunjukkan bahwa metilmerkuri segera diserap melalui saluran cerna (Jones *et al.*, 2007). Sekitar 80% merkuri yang terserap dalam tubuh akan menuju sistem sistemik dan sampai ke otak menyebabkan neurotoksikan. Jika terserap usus, merkuri dapat dioksidasi dalam tubuh membentuk senyawa organik. Penyerapan Metilmerkuri juga dapat ditularkan melalui kulit, namun data kuantitatifnya tidak tersedia. Hal ini disebabkan oleh sifat lipofilitas yang tinggi dari Metilmerkuri. Suatu transport aktif pada sawar darah otak diperkirakan membawa Metilmerkuri masuk ke dalam otak, sehingga menyebabkan gangguan perkembangan dan fungsi otak (Xu *et al.*, 2007).

Penelitian menunjukkan kandungan logam berat merkuri dalam kupang asal pantai kenjeran surabaya sebesar 0,6418 ppm. Angka tersebut melebihi batas minimum kadar merkuri dalam makanan yang telah ditetapkan oleh WHO/FAO sebesar 0,5 ppm. Merkuri yang masuk ke dalam tubuh akan diekskresikan melalui urine, feses, saliva, kulit. Ekskresi merkuri ini tergantung dari dosis dan lama paparan merkuri (Sjarkawi, 2002).. Gejala yang khas adalah tremor. Pertama penderita biasanya mengalami tremor pada otot muka dan kemudian merambat ke jari-jari tangan (Darmono, 2001). Apabila ini dibiarkan secara berlarut-larut tidak menutup kemungkinan akan terjadinya outbreak keracunan merkuri seperti pada kasus Minamata dan teluk Buyat (Setyorini, 2003). Sel oligodendroglia yang diberikan dengan $HgCl_2$ terjadi apoptosis dan nekrosis (Issa *et al.*, 2003).

Penelitian neuroprotektan Cytidine diphosphocholine terbukti mampu melindungi kerusakan otak akibat *traumatic brain injury*, dan *cerebral ischemia* yang menunjukkan hasil pemulihan neurologis yang baik (Ozay *et al.*, 2007). Cytidine diphosphocholine sebagai neuroprotektan menghambat kerusakan sel. Cytidine Diphosphocholine berfungsi untuk meningkatkan integritas struktural dan fungsional membran sel saraf dan membantu perbaikan membran sel. Mekanisme aktivitas dapat menjelaskan sebagian besar fungsi neurorestoratif Cytidine diphosphocholine itu (Qureshi dan Endres, 2010).

Cytidine diphosphocholine dalam proses metabolisme akan membentuk kolin, dimana kolin akan diubah menjadi glutathion. Glutathion adalah salah satu antioksidan endogen primer dalam tubuh yang berperan sebagai sistem pertahanan sel otak terhadap serangan radikal bebas (Purba, 2008). Oleh karena itu diharapkan Cytidine diphosphocholine dapat memperbaiki kerusakan pada jaringan otak akibat paparan Metilmerkuri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka permasalahan yang timbul adalah :

1. Apakah pada pemberian merkuri 0.02 mg/kg/bb/hari dan Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari dapat memperbaiki sel oligodendroglia.

2. Apakah pada pemberian merkuri 0.04 mg/kg/bb/hari dan Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari dapat memperbaiki sel oligodendroglia

1.3 Landasan Teori

Metilmerkuri sangat beracun, paparan MeHg dapat mengakibatkan efek samping pada beberapa sistem organ pada manusia maupun hewan (Qureshi and Endres, 2010). Bentuk merkuri dapat bereaksi secara katalitik maupun secara langsung dengan fosfolipid yang merupakan bagian terpenting dari struktur sel dalam sistem saraf (Palar, 1994). Metilmerkuri terikat pada protein dalam darah dan sulfihiril berisi molekul rendah seperti sistein. Kompleks MeHg-sistein yang terbentuk bereaksi sebagai analog asam amino, yang mempunyai struktur seperti methionin, sehingga dapat diangkut melewati sawar darah otak (Yanuar, 2004).

Cytidine diphosphocholine bertindak untuk mendukung dan menjaga kesehatan saraf dan fungsi kognitif yang optimal. Cytidine diphosphocholine mempromosikan fungsi kolinergik, dopaminergik dan mendukung sintesis fosfolipid serta penggabungan ke dalam membran sel. Cytidine diphosphocholine juga meningkatkan mekanisme antioksidan dalam tubuh, sementara menekan kerusakan akibat radikal bebas pada jaringan saraf. Karena aktivitas yang luas pada jaringan saraf, Cytidine diphosphocholine berfungsi sebagai agen terapi komprehensif untuk mendukung kesehatan otak (Qureshi dan Endres, 2010). Cytidine diphosphocholine meningkatkan kadar neurotransmitter otak pada tikus dengan dosis 100mg/kg (Conant, 2004). Senyawa Cytidine diphosphocholine

setelah dimetabolisme akan menghasilkan cystein. Senyawa cystein dibutuhkan untuk mensintesis antioksidan glutathion (Adibhatla *et al.*, 2002). Dihasilkannya antioksidan glutathion dapat menangkal *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang terbentuk akibat induksi dari Metilmerkuri. Kompleks glutathion-merkuri mengurangi kerusakan intraseluler dengan mencegah merkuri memasuki jaringan sel yang dapat menjadi racun intraseluler (Patrick, 2002).

1.4 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi sel oligodendroglia setelah pemberian cytidine diphosphocholine pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan metilmerkuri.

1.5 Manfaat penelitian

Memberikan informasi terhadap masyarakat luas tentang gambaran histopatologi sel oligodendroglia setelah pemberian cytidine diphosphocholine pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan metilmerkuri

1.6 Hipotesis

1. Pada pemberian merkuri dosis 0,02 mg/kg/bb/hari dan cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari terjadi perbaikan sel oligodendroglia.
2. Pada pemberian merkuri dosis 0,04 mg/kg/bb/hari dan cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari terjadi perbaikan sel oligodendroglia.

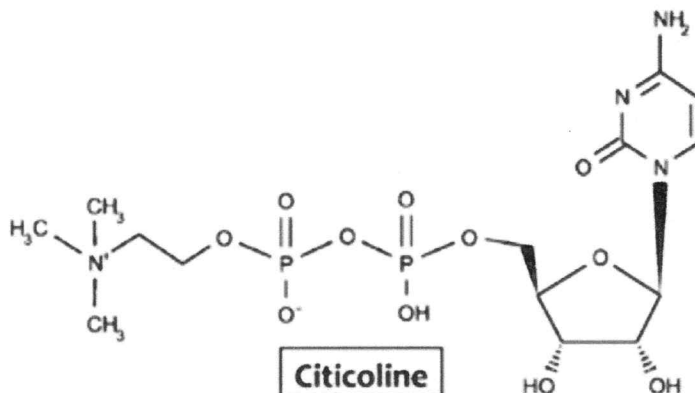
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cytidine diphosphocholine

Cytidine diphosphocholine adalah mononukleotida yang terdiri dari ribose, sitosin, pirofosfat, dan kolin. Sebagai suatu senyawa endogen, Cytidine diphosphocholine adalah perantara penting dalam sintesis fosfolipid membrane sel struktural dan pembentukannya adalah yang membatasi dalam sintesis fosfatidilkolin (Qureshi and Endres, 2010)



Gambar 2.1 Struktur kimia Cytidine diphosphocholine (Qureshi and Endres, 2010)

Cytidine diphosphocholine adalah bentuk unik dari kolin yang siap melewati penghalang *Blood-Brain Barrier* secara langsung ke jaringan otak. Cytidine diphosphocholine adalah batas yang membatasi antara biosintesis fosfatidilkolin, sebuah komponen penting dalam membrane sel syaraf. Cytidine diphosphocholine telah ditemukan dan menjadi nilai studi pada hewan dan manusia. Cytidine diphosphocholine disetujui sebagai nama obat di Eropa dan Jepang yang digunakan pada stroke/trauma, gangguan neurologis lainnya. Cytidine diphosphocholine bersifat perantara endogen dalam biosintesis plasma

darah dan digunakan di Eropa dan Jepang untuk mengobati stroke dan cedera otak. Bila diberikan secara oral atau injeksi untuk tikus, Cytidine diphosphocholine dimetabolisme sepenuhnya untuk membentuk choline dan cytidin. Intermediet ini kemudian memasuki sirkulasi, melintasi *Blood Brain Barrier* dan dikonversi sebagai asetil kolin, fosfokolin dan CTP (D'Orlando dan Sandage 1995).

2.2 Metilmerkuri

2.2.1 Karakteristik dan Sumber merkuri

Merkuri adalah unsur yang mempunyai nomor atom (NA=80) serta mempunyai massa molekul relatif (MR=200,59). Merkuri diberi simbol kimia Hg yang merupakan singkatan yang berasal dari bahasa Yunani *Hydrargyricum*, yang berarti cairan perak. Bentuk fisik dan kimianya sangat menguntungkan karena merupakan satu-satunya logam yang berbentuk cair dalam temperature kamar (25°C), titik bekunya paling rendah (-39°C), mempunyai kecenderungan menguap lebih besar, mudah bercampur dengan logam-logam lain menjadi logam campuran (Amalgam/Alloi), juga dapat mengalirkan arus listrik sebagai konduktor baik tegangan arus listrik tinggi maupun tegangan listrik rendah (Alfian, 2006).

Merkuri digolongkan sebagai pencemar paling berbahaya diantara berbagai macam logam berat. Produksi metilmerkuri cukup besar dan penggunaannya di berbagai bidang cukup luas (Budiono 2003). Kadar merkuri yang tinggi pada perairan umumnya diakibatkan oleh buangan industri (*industrial wastes*) dan akibat sampingan dari penggunaan senyawa-senyawa merkuri di bidang pertanian.

Merkuri dapat berada dalam bentuk metal, senyawa-senyawa anorganik dan senyawa organik. Terdapatnya merkuri di perairan dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu pertama oleh kegiatan perindustrian seperti pabrik cat, kertas, peralatan listrik, klorin dan soda kaustik, kedua oleh alam itu sendiri melalui proses pelapukan batuan dan peletusan gunung berapi. Pencemaran merkuri yang disebabkan kegiatan alam pengaruhnya terhadap biologi maupun ekologi tidak signifikan (Budiono 2003).

Merkuri yang terdapat dalam limbah atau *waste* di perairan umum diubah oleh aktivitas mikroorganisme menjadi komponen Metilmerkuri ($\text{CH}_3\text{-Hg}$) yang memiliki sifat racun dan daya ikat yang kuat disamping kelarutannya yang tinggi terutama dalam tubuh hewan air. Hal tersebut mengakibatkan merkuri terakumulasi melalui proses *bioakumulasi* dan *biomagnifikasi* dalam jaringan tubuh hewan-hewan air, sehingga kadar merkuri dapat mencapai level yang berbahaya baik bagi kehidupan hewan air maupun kesehatan manusia, yang makan hasil tangkap hewan-hewan air tersebut (Budiono 2003).

Merkuri (Hg) atau air raksa sering dikategorikan sebagai polutan bagi lingkungan. Setiap tahun berton-ton merkuri dilepaskan ke atmosfer karena pemakaiannya yang luas baik di industri, pertanian, kedokteran gigi, rumah sakit, laboratorium penelitian. Kontributor yang signifikan adalah pembakaran batubara pada pembangkit listrik yang juga menghasilkan polutan merkuri. Merkuri ada dalam tiga bentuk, unsur logam merkuri, garam merkuri, merkuri organik. Unsur merkuri dalam bentuk bebas adalah logam yang berbentuk cair yang banyak digunakan pada thermometer, terhirupnya uap jenis merkuri ini dapat

mengakibatkan kerusakan paru-paru dan otak. Merkuri oksida bersifat hampir tidak larut dalam air, digunakan pada antiseptik topikal. Garam merkuri atau bentuk anorganiknya sebagai contoh adalah merkuri klorida. Merkuri organik sebagai contoh Metilmerkuri yang secara komersial digunakan sebagai fungisida, disinfektan, zat pengakil pada sintesis organik bagi senyawa organometalik lainnya dan sebagai pengawet cat (Mackert.,1997).

Merkuri sangat mudah melintas batas sawar darah-otak (blood brain barrier) maupun plasenta. Hal ini lebih disebabkan oleh sifat lipofilisitas yang tinggi dari metal merkuri. Metilmerkuri sendiri mudah berdifusi melalui membran sel tanpa perlu sistem transport tertentu. Karena reaktivitasnya yang tinggi terhadap gugus sulfhidril yang terdapat pada berbagai protein, maka jumlah Metilmerkuri bebas dalam cairan biologis menjadi sangat kecil. Suatu transport aktif pada sawar darah otak diperkirakan membawa metal merkuri masuk ke dalam otak. Dalam darah, logam yang sangat neurotoksik ini terikat secara eksklusif pada protein dan sulfhidril berbobot molekul rendah seperti sistein. Kompleks *MeHg-sistein* yang terbentuk beraksi sebagai analog asam amino, mempunyai struktur mirip methionin, sehingga dapat diangkut oleh pembawa system-L untuk asam amino bebas untuk melintas melalui sawar darah otak (Yanuar, 2004).

2.2.2 Toksisitas Merkuri

Toksisitas senyawa merkuri tergantung dari bentuknya, rute masuknya ke dalam tubuh, dosis dan umur saat terjadi paparan. Merkuri organik merupakan jenis merkuri yang paling berbahaya bagi manusia. Merkuri ini dapat melalui

Blood Brain Barrier dan *Placenta barrier*. Merkuri ini tidak bisa keluar dari otak, namun akan terakumulasi dalam otak dalam jangka waktu yang lama. Keracunan akut yang disebabkan oleh merkuri umumnya terjadi pada pekerja industri, pertambangan, dan pertanian yang menggunakan merkuri sebagai bahan baku, katalis atau pembentuk amalgam ataupun pestisida. Keracunan akut terjadi karena pemaparan merkuri langsung dalam dosis besar. Efek toksik Hg berkaitan dengan susunan syaraf yang sangat peka terhadap Hg dengan gejala pertama adalah parestesia, lalu ataksia, disartria, ketulian, dan akhirnya kematian. Terdapat hubungan antara dosis Hg dengan gejala toksisitas, seperti keracunan Metilmerkuri di Irak yang menunjukkan kadar Hg pada rambut korban minimum 100 ppm sehingga muncul kasus parestesia. Merkuri (Hg) bisa menghambat pelepasan GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) oleh kelenjar hipotalamus dan menghambat ovulasi sehingga terjadi akumulasi Hg pada korpus luteum. Merkuri masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi, ingesti, dan kontak dengan kulit. Pada umumnya pemaparan merkuri secara kronis adalah melalui ingesti atau pencernaan makanan, sedangkan yang melalui inhalasi dan kontak dengan kulit biasanya akibat pemaparan merkuri yang bersifat akut (Sjarkawi, 2002).

Bentuk merkuri klorida (HgCl_2) lebih toksik daripada bentuk merkuri (HgCl) disebabkan karena HgCl_2 berbentuk divalent yang lebih mudah larut daripada bentuk monovalen. Bentuk HgCl_2 juga cepat dan mudah diabsorpsi sehingga daya toksisitasnya lebih tinggi (Darmono, 2001). Senyawa merkuri organik seperti merkuri klorida berdasarkan hasil penelitian terhadap hewan percobaan senyawa-senyawa tersebut akan terakumulasi pada organ hati, ginjal

dan otak. Paling banyak didistribusikan ke organ ginjal (Palar, 1994 ; Fahy, 1987). Merkuri yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses fisiologis dalam tubuh (Palar, 1994). Menurut Flanagan (1995) merkuri klorida sangat toksik dimana bila terjadi pemaparan secara ingesti sebesar satu gram terbukti menyebabkan keracunan yang fatal pada orang dewasa.

Efek keracunan merkuri klorida kronis menyebabkan kerusakan system saraf pusat. Bila terjadi keracunan kronis, gejalanya berupa kelemahan umum, dispnue, nyeri dada dan perut, muntah, disartia, kelamahan otot motoris dan gangguan reflek yang abnormal. Gejala motorik antara lain tremor halus, terutama pada tangan, bibir, lidah, dan geraham, parestesia pada penciuman dan pengecap. Pada mata, lapang pandangan menjadi menyempit. Kelumpuhan otot motorik dapat menyebabkan kematian. Toksisitas merkuri organik seperti merkuri klorida dapat menyebabkan toksisitas akut. Pada keracunan akut terdapat pengendapan protein pada selaput lender akibat garam merkuri menyebabkan warna mulut, faring, dan saluran cerna keabu-abuan disertai nyeri hebat dan muntah. Muntah ini bersifat protektif karena menyingkirkan merkuri dari lambung (Syamsudin, 1995).

2.3 Tinjauan Tentang Otak

Otak terdiri dari dua lapisan yaitu substansia alba dan substansia grisea. Substansia alba sebagian besar terdiri dari akson ascendens dan descendens yang bermyelin, mengelilingi substansia grisea. Pada substansia alba terdapat jalur serabut syaraf dan serabut neurit yang diselubungi myelin serta ditunjang oleh neuroglia. Substansia grisea menempati bagian tengah traktus dan terisi oleh

interneuron, badan sel, dendrite neuron eferen, akson neuron aferen dan berbagai sel penunjang. Substantia grisea menjadi wadah kumpulan badan-badan sel yang tidak bermyelin sehingga menyebabkan warna kelabu yang membentuk huruf H. Kumpulan badan sel ini dinamakan *nuclei* (Corwin, 2001).

Susunan saraf pusat (SSP) terdiri atas otak dan medulla spinalis yang mengandung sel saraf yang disebut neuron dan sel penyokong yang disebut neuroglia (Fawcett, 2002). Neuron terdiri atas tiga bagian yaitu dendrit, badan sel dan akson. Dendrit merupakan juluran-juluran panjang untuk menerima stimulus dari lingkungan, sel epitelia sensoris dan dari neuron lain. Badan sel atau perikarion merupakan pusat trofik untuk seluruh sel syaraf yang peka terhadap rangsang, mengandung inti dan sitoplasma disekelilingnya. Akson merupakan juluran tunggal khusus untuk membangkitkan atau menghantar impuls saraf ke sel lain (Junqueira, 2007).

2.3.1 Sel Oligodendroglia

Oligodendrosit disebut juga sebagai oligodendroglia, lebih kecil daripada astrosit dengan cabang-cabang sel yang lebih pendek dan jumlahnya lebih sedikit. Intinya kecil, lonjong, sering agak tidak teratur, dan heterokromatik. Sitoplasma yang sedikit tampak sebagai pinggiran perinuklir. Dengan mikroskop elektron, sitoplasma umumnya lebih padat dari pada astrosit, dengan ribosom bebas dan terikat dalam jumlah besar, aparat golgi yang luas dan banyak mitokondria. Juga terdapat banyak mikrotubul yang meluas ke dalam cabang sitoplasma (Lesson, 1995). Oligodendrosit membentuk selubung myelin yang merupakan insulator

listrik neuron disusunan saraf pusat. Sel ini memiliki cabang-cabang yang membungkus akson, dan menghasilkan selubung myelin (Junqueira, 2007).

Myelin dibentuk oleh oligodendroglia dalam sistem saraf pusat. Substansi putih mengandung akson yang bermielin dan oligodendrosit yang memproduksi myelin tetapi tidak terdapat badan sel neuron. Substansi kelabu mengandung badan sel neuron, dendrit dan bagian awal dari akson dan sel glia yang tidak bermielin (Fawcett, 2002).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Odontoceti
Famili	: Murridae
Genus	: Ratus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

(Kusumwati, 2004).



Gambar 2.4 Tikus putih (Dokumentasi Pribadi)

Tikus putih merupakan salah satu hewan laboratorium yang sering digunakan dalam penelitian obat-obatan, makanan, dan uji toksikologi. Berat badan tikus putih jantan antara 300-400 g, sedangkan betina 250-300 g. lama hidup 2,5-3 tahun, temperature tubuh 37,5°C, kebutuhan air 8-11 ml/100g BB, kebutuhan makanan 5g/100g BB (Kusumawati, 2004). Pada zaman modern ini, tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah banyak digunakan sebagai model eksperimental pada berbagai macam riset sebagai model mamalia. Reproduksi yang sangat baik dan cara makan yang omnivora merupakan beberapa faktor yang menyebabkan tikus putih banyak digunakan untuk penelitian (Kusumawati, 2004).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan waktu penelitian

Pemeliharaan hewan coba, pemberian Metilmerkuri dan Cytidine diphosphocholine dilakukan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pembuatan preparat histopatologi otak dengan pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan Maret hingga April 2012.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina berjumlah 25 ekor. Dengan berat badan berkisar 140-150 gram dan berumur 3 bulan dan diadaptasi selama satu minggu.

3.2.2 Alat-alat Penelitian

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah timbangan untuk mengukur berat tikus, mikroskop binokuler (*OLYMPUS ® DP 12 Microscope Digital Camera System*), kandang tikus berupa bak plastik berbentuk persegi panjang dengan tutup yang diberi kawat sebanyak lima beserta tempat makan dan minum tikus, timbangan analitik, jarum sonde, *disposable syringe* 1 ml, gunting bedah, pinset, scalpel, pot salep, kapas, *object glass*, *cover glass*, mikroskop serta

alat dokumentasi penelitian. Untuk sediaan histopatologis peralatan yang digunakan adalah serangkaian alat dehidrasi, mikrotom, *hot plate*.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam melaksanakan penelitian ini, terdiri dari: Metilmerkuri, aquabides, Cytidine diphosphocholine, pakan ayam broiler yang diberikan secara *ad libitum*, air minum PDAM yang diberikan secara *ad libitum*, chloroform yang digunakan untuk mengeuthanasia tikus, formalin 10% untuk mengawetkan organ tikus (otak). Bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi Hematoksin Eosin (HE) adalah: alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, xylol, parafin, canada balsam serta pewarna hematoksin dan eosin.

3.3 Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina umur 3 bulan sebanyak 25 ekor sebagai sampel penelitian. Sampel selanjutnya diberikan perlakuan pemberian aquadest 0,5 ml, Metilmerkuri dengan dosis 0,2 mg/kg BB/hari, 0,04 mg/kg BB/hari, 0,2 mg/kg BB/hari + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB/hari, 0,04 mg/kg BB/hari + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB/hari selama 30 hari per oral. Besar sampel minimal yang digunakan untuk pengujian hipotesis penelitian ini, menggunakan rumus :

$$t(n-1) \geq 15$$

t adalah jenis perlakuan dan n adalah replikasinya (Kusriningrum, 2008). Dengan menggunakan rumus tersebut diperoleh n sebanyak 4, sehingga replikasinya paling sedikit pada penelitian ini adalah empat ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dengan umur 90 hari dengan pemberian lima perlakuan yang berbeda, masing-masing lima ulangan. Sebelum perlakuan hewan percobaan dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok yaitu P₀ (kelompok kontrol), P₁, P₂, P₃, dan P₄ (kelompok perlakuan). Masing-masing perlakuan terdiri dari lima ekor tikus. Tikus yang telah dikelompokkan kemudian diadaptasikan selama seminggu dengan tujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru dengan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

3.4.2 Penentuan Dosis

Dalam penentuan dosis Metilmerkuri pada tikus, digunakan dosis 0,02 mg/kg bb (Huang *et al.*, 2011), 0,04 mg/kg bb (Sugianto dkk., 2011). Dosis Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb merupakan dosis konversi berdasarkan jumlah paparan Metilmerkuri yang masuk pada setiap tubuh manusia pada daerah yang tercemar oleh Metilmerkuri setiap harinya (Huang *et al.*, 2011). Dosis Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb digunakan untuk melihat efek dari jumlah paparan

Metilmerkuri yang dua kali lipat lebih banyak terhadap kerusakan sel oligodendroglia. Dosis toksik yang diberikan berdasarkan fraksi yang tidak membunuh tikus tetapi berpotensi menimbulkan efek toksik (Sugianto dkk., 2011). Dosis Cytidine diphosphocholine menggunakan dosis 100mg/kg bb. Dosis tersebut digunakan berdasarkan penelitian (Baskaya *et al.*, 2000).

3.4.3 Tahap perlakuan

Hewan percobaan yang telah dikelompokkan menjadi lima kelompok, diberikan perlakuan dengan menggunakan jarum sonde. Adapun perlakuan tersebut secara rinci adalah berikut:

- P₀ : Lima ekor tikus diberikan 0,5 ml aquabides
- P₁ : Lima ekor tikus diberikan Metilmerkuri 0,02 mg/kg BB/hari
- P₂ : Lima ekor tikus diberikan Metilmerkuri 0,04 mg/kg BB/hari
- P₃ : Lima ekor tikus diberikan Metilmerkuri 0,02 mg/kg BB/hari +
Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB/hari
- P₄ : Lima ekor tikus diberikan Metilmerkuri 0,04 mg/kg BB/hari +
Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB/hari

Perlakuan diberikan dengan menggunakan *disposable syringe* 1 ml dengan jarum sonde per oral. Pemberian perlakuan dilakukan setiap hari selama 30 hari. Setelah perlakuan selama 30 hari, 24 jam setelah perlakuan terakhir, perlakuan P₀, P₁, P₂, P₃, P₄ dieuthanasia dengan menggunakan chloroform dan diseksi untuk diambil otaknya. Selanjutnya organ otak dimasukkan ke dalam pot yang telah diisi

dengan formalin 10%, kemudian dibuat preparat. Setelah pembuatan preparat, dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik.

3.5 Variabel penelitian

Variabel bebas : Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis Metilmerkuri dan dosis Cytidine diphosphocholine.

Variabel tergantung : Variabel tergantung adalah variabel sebagai akibat perlakuan dan yang akan diteliti dalam penelitian ini yaitu jumlah sel oligodendroglia tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami perbaikan.

Variabel kendali : Variabel kendali dalam penelitian ini adalah Jenis kelamin tikus putih, umur, strain tikus, pakan, minum, kandang dengan kondisi yang sama.

3.6 Peubah yang diamati

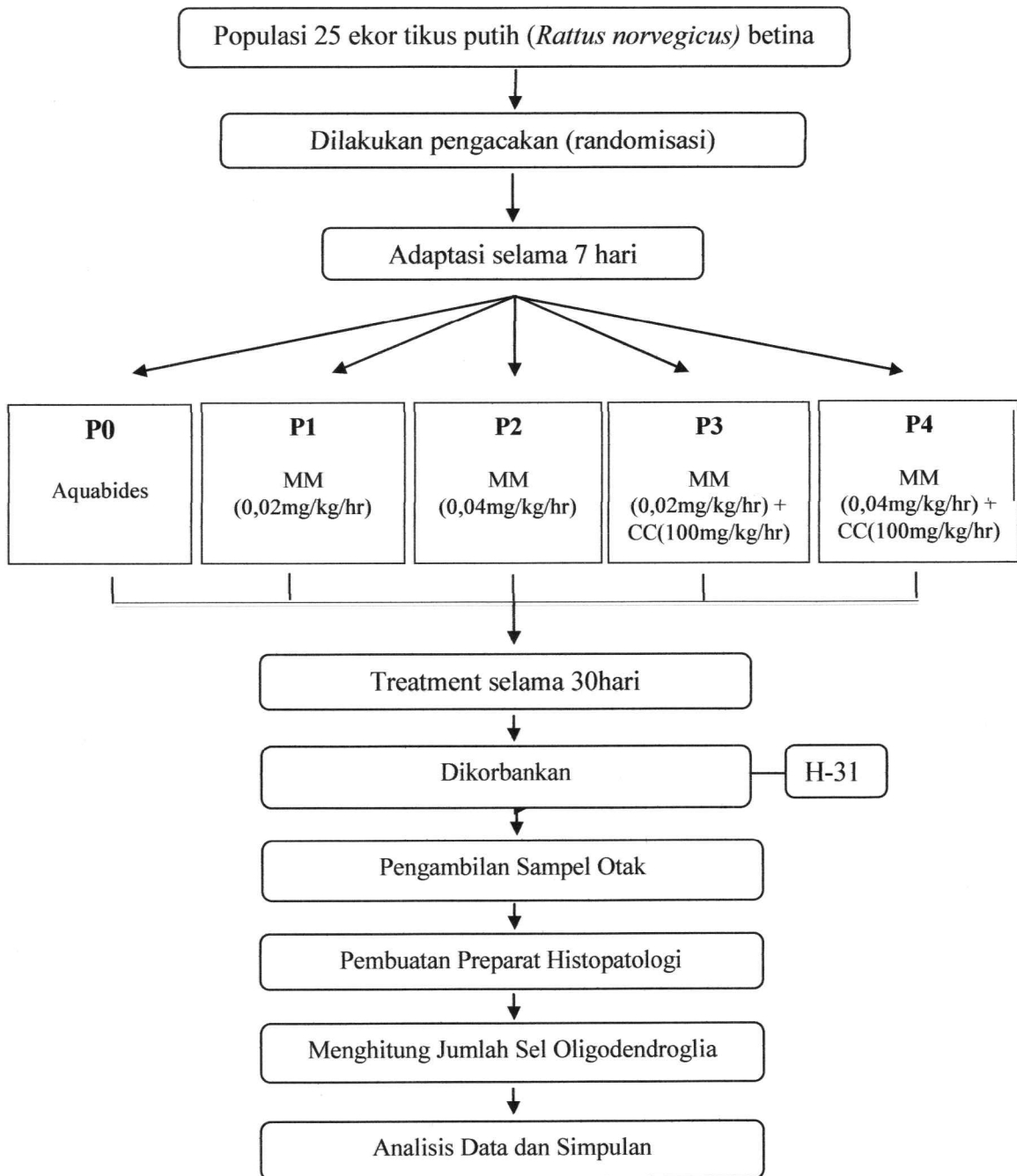
Penilaian pada otak dilakukan pengamatan secara mikroskopis terhadap sel oligodendroglia yang mengalami perbaikan. Pengamatan dilakukan 10 lapangan pandang dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

3.7 Rancangan penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam lima perlakuan dengan lima ulangan untuk masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan

menggunakan analisis varian (ANOVA). Bila terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara perlakuan maka dilanjutkan dengan BNJ 5% untuk mengetahui perlakuan yang meningkatkan jumlah sel oligodendroglia otak pada tikus (Kusriningrum, 2008).

3.8 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.8 Kerangka operasional penelitian.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

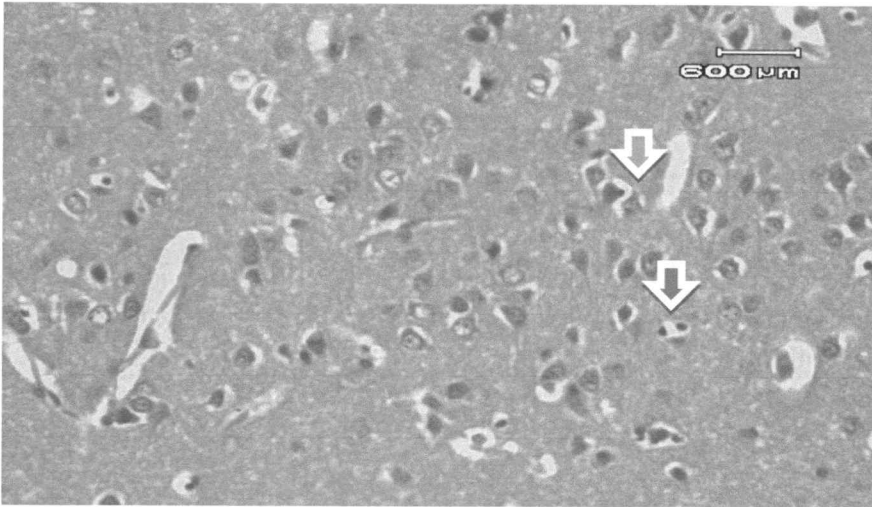
Penelitian ini telah dilakukan dengan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dalam lima perlakuan (P0, P1, P2, P3, P4). Hasil penelitian diukur berdasarkan perubahan mikroskopis dari sel otak terutama menghitung jumlah sel oligodendroglia. Berdasarkan data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANAVA diperoleh F (Hitung) =24.159, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata diantara perlakuan terhadap sel oligodendroglia. Kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ dengan signifikansi 5%.

Hasil rerata dan simpangan baku jumlah sel oligodendroglia dapat dilihat pada Tabel 4.1

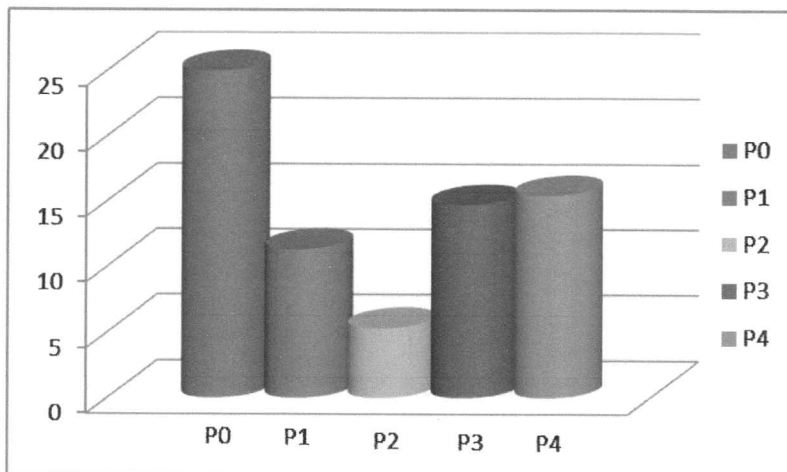
Tabel 4.1. Hasil rerata dan simpangan baku jumlah sel oligodendroglia.

Perlakuan	Jumlah sel oligodendroglia ($X \pm SD$)
P0	24,92 ^c ± 4,84
P1	11,28 ^b ± 3,57
P2	5,32 ^a ± 0,74
P3	14,7 ^b ± 3,21
P4	15,42 ^b ± 2,73

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 4.2. Gambaran mikroskopis korteks *cerebrum* tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tanda panah kuning menunjukkan sel oligodendrosit yang nekrosis. Tanda panah merah menunjukkan sel oligodendroglia yang normal. Pewarnaan H.E.400x



Gambar 4.3. Diagram perbandingan rata-rata sel oligodendroglia antara perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4.

Pada perlakuan P1 (Metilmerkuri 0,02 mg/kg BB) dan P3 (Metilmerkuri 0,02 mg/kg BB + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada perlakuan P3 jumlah sel oligodendroglia mengalami nekrosis menurun dibandingkan kelompok perlakuan P1. Hal yang sama juga

terjadi pada perlakuan P2(Metilmerkuri 0,04 mg/kg BB),dan P4(Metilmerkuri 0,04 mg/kg BB + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg BB) yang memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel oligodendroglia pada P4 lebih banyak dibandingkan P2.

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Gambaran histopatologi *cerebrum* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar methilmerkuri menunjukkan adanya perbaikan sel oligodendroglia. Dari hasil analisis dengan menggunakan ANAVA yang kemudian dilanjutkan dengan uji BNP 5% untuk menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Dari hasil penelitian tingkat toksisitas merkuri di dalam tubuh organisme tergantung pada banyaknya zat tersebut dalam tubuh, tempat masuknya zat serta jangka waktu kontak antara merkuri dengan organ yang rentan terhadap merkuri sehingga semakin seringnya kontak dengan merkuri dapat menyebabkan efek toksik yang semakin tinggi (Ulum, 2005). Pada perlakuan kontrol, P1 (Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb), dan P2 (Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb) menunjukkan hasil yang signifikan. Hal ini terlihat dari sel oligodendroglia yang mengalami nekrosis dengan bertambahnya dosis Metilmerkuri yang diberikan.

Merkuri menghasilkan efek racun yang akut dan kronis pada sel oligodendroglia. Hasil riset membuktikan bahwa dalam waktu 24 jam paparan merkuri bisa menginduksi kematian sel oligodendroglia pada dosis rendah dengan kematian sel sekitar 50% (Issa *et al.*, 2003). Astrosit, oligodendroglia, sel Schwann, dan mikroglia merupakan sel yang aktif, bukan komponen tambahan dalam system saraf dan berfungsi dalam kerusakan yang neurotoksik (Ashner and Kimelberg, 1996; Ashner *et al.*, 1999). Merkuri organik adalah jenis merkuri yang sangat beracun dan merupakan bentuk yang paling sering menyebabkan

keracunan. Metilmerkuri terdapat dalam tubuh dalam bentuk kompleks yang larut dalam air. Metilmerkuri hampir terabsorpsi secara sempurna (95%-100%) pada saluran pencernaan manusia, dan 90% dikeluarkan melalui feses. Metilmerkuri dapat dengan mudah melintasi sawar darah otak dengan cara berikatan dengan L-cystein, yang menyerupai senyawa methionin (Patrick *et al.*, 2002). *Reactive Oxygen Spesies* akan terbentuk terus menerus ketika terjadi proses metabolisme oksidatif, dan terdiri dari molekul anorganik seperti, anion superoksida (O_2^-), Hidrogen peroksida (H_2O_2), Radikal hidroksil (-OH) dan organik molekul lainnya seperti radikal alkoxy dan peroxy (Nascimento *et al.*, 2008).

Pada perlakuan P1 ((Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb) dan P3 (Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb)+ Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg bb) memperlihatkan perbedaan yang nyata, begitu pula dengan P2 (Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb) dan P4 (Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb+Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg bb). Hal ini memperlihatkan dengan pemberian Cytidine diphosphocholine mampu memperbaiki sel oligodendroglia dari keracunan metilmerkuri tetapi tidak kembali seperti normal.

Merkuri yang terakumulasi dalam otak akan mengalami transformasi menjadi merkuri inorganik dan akan berikatan kuat dengan makromolekul yang mengandung gugus sulfhidril. Metilmerkuri dapat mengikat berbagai macam berat molekul yang mengandung gugus thiol seperti glutathion, cystein, dan albumin. Ikatan dan disosiasi kompleks merkuri-thiol diduga mengontrol pergerakan merkuri (Patrick, 2002).

Neuroprotektan Cytidine diphosphocholine tersusun atas Ribose, Pyrophosphate, Cytosine, dan Choline. Ketika Cytidine diphosphocholine diberikan secara oral, akan dihidrolisasi di usus halus dan akan diabsorpsi dalam bentuk Cytidine dan Choline. Setelah diabsorpsi Cytidine dan choline akan didistribusikan ke seluruh tubuh dan melewati *Blood brain barrier* menuju system saraf pusat (Arenth *et al.*, 2011). Gluthation adalah salah satu antioksidan endogenous utama pada sistem pertahanan otak yang dapat menyingkirkan *Reactive Oxygen Spesies* dan proses peroksida lipid. Peningkatan gluthation memiliki kontribusi terhadap neuroproteksi dari proses peroksidasi lipid. Choline yang dibebaskan dari Cytidine diphosphocholine dapat dimetabolisme menjadi gluthation melalui *AdoMetpathway* (Adibhatla *et al.*, 2002). Gluthation berfungsi sebagai antioksidan pembawa merkuri. Gluthation memiliki peranan spesifik dalam melindungi tubuh dari keracunan Metilmerkuri. Gluthation secara spesifik berikatan dengan Metilmerkuri membentuk sebuah kompleks yang mencegah merkuri dari ikatan protein selular lain yang dapat menyebabkan kerusakan enzim dan jaringan (Patrick, 2002). Citicoline meningkatkan zat kimia otak yang disebut fosfatidilkolin. Zat kimia fosfatidilkolin penting untuk fungsi otak. Citicoline mengurangi kerusakan jaringan otak ketika otak terluka. Cytidine diphosphocholine yang berfungsi untuk memperbaiki membran sel oligodendroglia yang rusak akibat keracunan metilmerkuri.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada pemberian merkuri dosis 0,02 mg/kg/bb/hari dan cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari terjadi perbaikan sel oligodendroglia
2. Pada pemberian merkuri dosis 0,04 mg/kg/bb/hari dan cytidine diphosphocholine 100 mg/kg/bb/hari terjadi perbaikan sel oligodendroglia

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang manfaat Cytidine diphosphocholine sebagai pencegah kerusakan sel oligodendroglia akibat keracunan Metilmerkuri dalam berbagai rentang dosis untuk mendapatkan dosis yang optimal.

RINGKASAN

RINGKASAN

Desy Rahmawati. **Gambaran histopatologi sel oligodendroglia setelah pemberian cytidine diphosphocholine pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan metilmerkuri.** Di bawah bimbingan Dr. Widjiati, drh., M.Si selaku pembimbing pertama serta Dr. M. Zainal Arifin, drh., M.S, selaku pembimbing kedua.

Metilmerkuri merupakan agen yang sangat neurotoksik, dan merupakan pencemar lingkungan paling banyak, yang dapat menimbulkan gangguan syaraf pusat, target organ utama adalah otak. Metilmerkuri juga menyebabkan gangguan perkembangan pada manusia dan hewan. Metilmerkuri banyak yang mempunyai sifat berbahaya bagi kesehatan makhluk hidup. Beberapa data pada manusia maupun hewan menunjukkan bahwa Metilmerkuri segera diserap melalui saluran cerna. Sekitar 80% merkuri yang terserap dalam tubuh akan menuju sistem sistemik dan sampai ke otak menyebabkan neurotoksikan. Jika terserap usus, merkuri dapat dioksidasi dalam tubuh membentuk senyawa organik.

Neuroprotektan Cytidine diphosphocholine terbukti mampu melindungi kerusakan otak akibat *traumatic brain injury*, dan *cerebral ischemia* yang menunjukkan kasil pemulihan neurologis yang baik. Secara signifikan Cytidine diphosphocholine sebagai neuroprotektan sehingga menghambat kerusakan sel. Pemberian Cytidine diphosphocholine nyata meningkatkan panjang dan tilitik cabang dendrit, meningkatkan luas permukaan keseluruhan yang ditempati oleh neuron, yang mengarah ke peningkatan efisiensi pengolahan informasi sensorik.

Mekanisme aktivitas dapat menjelaskan sebagian besar fungsi neurorestoratif Cytidine diphosphocholine.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian Cytidine diphosphocholine berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel oligodendroglia tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Metilmerkuri. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 25 ekor tikus putih betina yang dibagi secara acak menjadi lima perlakuan dengan lima ulangan tiap perlakuan. Perlakuan meliputi kontrol P0 diberikan 0,5 ml aquabides, P1 diberikan Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb, P2 diberikan Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb, P3 diberikan Metilmerkuri 0,02 mg/kg bb + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg bb, P4 diberikan Metilmerkuri 0,04 mg/kg bb + Cytidine diphosphocholine 100 mg/kg bb. Perlakuan diberikan peroral menggunakan jarum sonde selama 30 hari. Analisis data menggunakan ujia Anova lalu dilanjutkan dengan uji BNJ 5%. Hasil analisis statistik pada kelima perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap peningkatan sel oligodendroglia *cerebrum* tikus putih ($p < 0,05$).

Merkuri menghasilkan efek racun yang akut dan kronis pada sel oligodendroglia. Hasil riset membuktikan bahwa dalam waktu 24 jam paparan merkuri bisa menginduksi kematian sel oligodendroglia pada dosis rendah dengan kematian sel sekitar 50%. Merkuri yang terakumulasi dalam otak akan mengalami transformasi menjadi merkuri inorganik dan akan berikatan kuat dengan

makromolekul yang mengandung gugus sulfhidril. Metilmerkuri dapat mengikat berbagai macam berat molekul yang mengandung gugus thiol seperti glutathion, cystein, dan albumin. Ikatan dan disosiasi kompleks merkuri-thiol diduga mengontrol pergerakan merkuri (Patrick, 2002).

Neuroprotektan Cytidine diphosphocholine tersusun atas ribose, pyrophosphate, cytosine, dan choline. Ketika Cytidine diphosphocholine diberikan secara per oral, akan dihidrolisasi di usus halus dan akan diabsorpsi dalam bentuk Cytidine dan choline. Setelah diabsorpsi Cytidine dan choline akan didistribusikan ke seluruh tubuh dan melewati sawar darah otak menuju syaraf pusat. Dengan demikian pemberian Cytidine diphosphocholine dapat meningkatkan jumlah sel oligodendroglia cerebrum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar metilmerkuri.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Adibhatla R.M, Hatcher J.F and Dempsey R.J. 2002. Citicoline: Neuroprotective Mechanisme in Cerebral Ischemia. *J. Neurochem.*, 80: 12-23.
- Alfian, Z. 2006. Merkuri: Antara Efek dan Penggunaannya bagi Kesehatan Manusia dan Lingkungan. USU Repository. Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Arenth P.M, Russel.K.C, Ricker J.H, and Zafonte R.D. 2011. CDP-Choline as biological Supplement During Neurorecovery: A focused Review. *Am. Acad. Phy. Med. And Rehab.* 3: S123-S131.
- Ashner M, Allen J.W, Kimelberg HK, Lopachin RM, and Streit WJ. 1999. Glial cells in neurotoxicity development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 39: 151-73.
- Ashner M, Allen J.W, and Kimelberg HK. 1996. The role of glia in neurotoxicity. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Baskaya MK, Dogan A, Rao AM, and Dempsey RJ.2000. Neuroprotective Effects of Citicoline On Brain Edema and Blod-Brain Barrier Breakdown After Traumatic Brain Injury. *J Neurosurg*; 92: 448-452.
- Budiono, A. 2003. Pengaruh Pencemaran Merkuri terhadap Biota Air. Makalah Pengantar Filsafah Sains. IPB. Bandung.
- Corwin. EJ. 2001. Buku Saku Patofisiologi. Pendit UB, penerjemah, Endah P, editor. Jakarta: EGB, terjemahan dari: Handbook of Pathophysiology.
- Conant Richard, MAc, CN, and Alexander G. 2004. *Altern Med Rev*;9 (1).
- Darmono. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran. Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. Universitas Indonesia. Jakarta. 149-152.
- D'Orlando, K. J. and Sandage, B. W. Jr. 1995. Citicoline (CDP-choline) : mechanism of actin and effects in ischemic brain injury. *Neurol. Res.* 17 (4) : 281-284.
- Fawcett, D. W. 2002. Buku Ajar Histologi. Alih Bahasa Oleh Jan Tambayong. Edisi 12. EGC. Jakarta.
- Flanagan, R. J. 1995. Basic Analytical Toxicology. WHO. Geneva.
- Franco J.L, Posser T, Dunkley P.R, Dickson P.W, Mattos J.J, Martins R, Bairy A.C.D, Marques M.R, Dafre A.L, and Farina M. 2009. Methylmercury Neurotoxicity is Associated with inhibition of the Antioxidant Enzyme Gluthathione Peroxidase. *Free Rad. Biol. Med*: 47: 449-457.

- Huang C.F, Liu S.H, Hsu C.J, and Shiau SY.L. 2011. Neurotoxocological Effects Of Low-Dose Methylmercury and Mercury Chloride In developing Offspring Mice. *J. Tox. Let* 201: 196-204
- Issa. Y, Watts D.C, Duxburry A.J, Brunton P.A, Watson P.B, and Waters C.M. 2003. Mercuric chloride: toxicity and apoptosis in human oligodendroglial cell line MO3.13. *Biomaterial* 24: 981-987.
- Jones L, Bunnell J and Stilman J. 2007. A 30 year follow up of residual effect on New Zealand school dental nurses, from occupational mercury exposure. *J. Hum. Exp. Toxicol.* 26 : 367-374.
- Junqueira, C. L and Carneiro J. 2007. *Histology dasar teks dan atlas*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Kusumawati. D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University press. Yogyakarta.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lesoon, T, L. Roland and Anthony. 1995. *Buku Ajar Histologi Kedokteran*. Ed 5. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia EGC. Jakarta.
- Mackert J. 1997. Mercury exposure from dental amalgam filling : absorbed dose and the potential for acverse health effect. *Rev. Oral. Biol. Mol.* 8 (4) : 410-436.
- Nascimento M.L.J, Oliveira M.R.K, Lopez C.E.M, Macchi M.B, Maues L.A.L, Pinheiro N.C.M, Silveira L.C.L, and Herculano M.A. 2008. Methylmercury Neurotoxicity and Antioxidant Defenses. *Indian J Med Res* 128: 373-382.
- Nofiani, R.G. 2004. Bakteri Resisten Merkuri Spektrum Sempit dari Daerah Bekas Penambangann Emas Tanpa Izin (PETI) Mandor, Kalimantan Barat. *Jurnal Nature Indonesia*.
- Ozay R, Bekar A, Kocaeli H, Karl N, Filiz G, and Ulus H. 2007. Citi coline Improves Functional Recovery, Promotes Nerve Regeneration, and Reduces Post-operative Scarring After Peripheral Nerve Surgery in Rats. *Surg. Neurol.* 68 : 615-622.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toxicologi Logam Berat*. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 43-53. 94-114.
- Patrick. 2002. Mercury Toxicity and Antioxidants: part I: Role of Gluthathione and Alpha-lipoic Acid in the treatment of Mercury Toxicity. *J. Altern. Med. Rev;* 7(6): 456-471.

- Priyanto. 2010. Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, Dan Penilaian Risiko. Depok: Leskonfi.
- Purba, J. S. 2008. Efek Terapi Citicoline Terhadap Perbaikan Struktur Membran Sel Otak Pada Penderita Stroke. Departemen Neurologi, RSUPNC/FKUI. Jakarta. 21 : 4.
- Qureshi Iand Endres J.R.2010. Citicoline: A Novel Therapeutic Agent with Neuroprotective, Neuromodulatory, and Neuroregenerative Properties.Nat. Med. J. 2(6):11-23.
- Sadler, T. W., 2000, Embriologi Kedokteran. Terjemahan : Irwan S, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Setyorini. D. 2003. *Mewaspadaai Bahaya Merkuri Di Sumber Air Kita*. Lembaga Kajian Ekologi dan Konservasi Lahan Basah. Ecoton, Gresik.
- Sjarkawi, J. A. 2002. Pengaruh Paparan Merkuri Terhadap Tingkat Kecerdasan Anak (IQ) di Wilayah Pantai Kenjeran Surabaya. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 8-17.
- Sugianto, P. 2011. Pemakaian neuroprotektan Sebagai Terapi Keracunan Merkuri Dalam Memperbaiki Kerusakan Membran Sel Neuron dan Menurunkan Apoptosis Pada Sel Otak [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Syamsudin, U. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 781-799.
- Ulum, R. 2005. Pengaruh Pemberian Merkuriklorida (HgCl₂) Terhadap Gambaran Histopatologi Otak Mencit (*Mus musculus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Xu.Z., Yang J., Yu J., Yin Z., Sun W and Li J. 2007. Effect of BSO, GSH, Vit-C and DMPS on the nephrotoxicity of mercury. J Toxicol. Indust. Health. 25: 403-410.
- Yanuar. 2004. Toksisitas Merkuri di Sekitar kita. Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia, Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan dosis metilmerkuri dan Cytidine diphosphocholine

a. Perhitungan dosis metilmerkuri

Dosis metilmerkuri yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan dosis berdasarkan model penelitian oleh Huang *et al.*, 2011 yang meneliti efek keracunan metilmerkuri. Dosis yang digunakan oleh Huang *et al.*, merupakan dosis konversi, berdasarkan jumlah paparan metilmerkuri pada tubuh manusia setiap harinya di daerah yang terkontaminasi oleh metilmerkuri. Adapun perhitungan penentuan dosis adalah sebagai berikut:

1. Dosis 0,02 mg/kg bb

$$0,02 \text{ mg/kg} = 0,02 \text{ mg}/1000\text{g}$$

$$0,02 \text{ mg}/1000\text{g} = 0,002 \text{ mg}/100\text{g}$$

Jadi dosis yang diberikan untuk tikus dengan berat 100g adalah 0,002 mg

2. Dosis 0,04 mg/kg bb

$$0,04 \text{ mg/kg} = 0,04 \text{ mg}/1000\text{g}$$

$$0,04 \text{ mg}/1000\text{g} = 0,004 \text{ mg}/100\text{g}$$

Jadi dosis yang diberikan untuk tikus dengan berat 100g adalah 0,004 mg

b. Perhitungan dosis Cytidine diphosphocholine

Dosis Cytidine diphosphocholine yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Baskaya *et al.*, 2000. Dalam hasil penelitiannya dosis Cytidine diphosphocholine 100mg/ =kg bb merupakan dosis efektif yang telah mampu mengurangi *cerebral oedema* dan *rupture blood*

brain barrier akibat cedera traumatik otak. Adapun perhitungan dosisnya adalah sebagai berikut:

$$100\text{mg/kg} = 100 \text{ mg}/1000\text{g}$$

$$100 \text{ mg}/1000\text{g} = 10 \text{ mg}/100\text{g}$$

Jadi dosis yang diberikan untuk tikus dengan berat 100g adalah 10mg/100g bb.

Lampiran 2. Hasil Analisis Data**Means****Case Processing Summary**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
nilai * perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report

perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
P0	24.9200	5	4.84014
P1	11.2800	5	3.57939
P2	5.3200	5	.74632
P3	14.7000	5	3.21559
P4	15.4200	5	2.37213
Total	14.3280	25	7.16133

Oneway**ONEWAY Descriptives**

Nilai	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	5	24.9200	4.84014	2.16458	18.9102	30.9298
P1	5	11.2800	3.57939	1.60075	6.8356	15.7244
P2	5	5.3200	.74632	.33377	4.3933	6.2467
P3	5	14.7000	3.21559	1.43805	10.7073	18.6927
P4	5	15.4200	2.37213	1.06085	12.4746	18.3654
Total	25	14.3280	7.16133	1.43227	11.3719	17.2841

ONEWAY Descriptives

Nilai

	Minimum	Maximum
P0	18.20	30.20
P1	7.70	17.30
P2	4.30	6.10
P3	10.80	18.50
P4	12.60	18.30
Total	4.30	30.20

ONEWAY ANOVA

Nilai

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	1019.778	4	254.945	24.159	.000
Within Groups	211.052	20	10.553		
Total	1230.830	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance
P0	P1	13.64000*	2.05452	.000
	P2	19.60000*	2.05452	.000
	P3	10.22000*	2.05452	.001
	P4	9.50000*	2.05452	.001
P1	P0	-13.64000*	2.05452	.000
	P2	5.96000	2.05452	.060
	P3	-3.42000	2.05452	.476
	P4	-4.14000	2.05452	.295

P2	P0	-19.60000*	2.05452	.000
	P1	-5.96000	2.05452	.060
	— P3	-9.38000*	2.05452	.002
	P4	-10.10000*	2.05452	.001
P3	P0	-10.22000*	2.05452	.001
	P1	3.42000	2.05452	.476
	— P2	9.38000*	2.05452	.002
	P4	-.72000	2.05452	.996
4.00	P0	-9.50000*	2.05452	.001
	P1	4.14000	2.05452	.295
	— P2	10.10000*	2.05452	.001
	P3	.72000	2.05452	.996

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

nilai

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	7.4921	19.7879
	P2	13.4521	25.7479
	— P3	4.0721	16.3679
	P4	3.3521	15.6479

P1	P0	-19.7879	-7.4921
	P2	-.1879	12.1079
	P3	-9.5679	2.7279
	P4	-10.2879	2.0079
P2	P0	-25.7479	-13.4521
	P1	-12.1079	.1879
	P3	-15.5279	-3.2321
	P4	-16.2479	-3.9521
P3	P0	-16.3679	-4.0721
	P1	-2.7279	9.5679
	P2	3.2321	15.5279
	P4	-6.8679	5.4279
P4	P0	-15.6479	-3.3521
	P1	-2.0079	10.2879
	P2	3.9521	16.2479
	P3	-5.4279	6.8679

Homogeneous Subsets

Nilai

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P2	5	5.3200		
P1	5	11.2800	11.2800	
P3	5		14.7000	
P4	5		15.4200	
P0	5			24.9200
Significance		.060	.295	1.000

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

Lampiran 3. Pembuatan sediaan histopatologi organ otak

Proses pembuatan preparat histopatologi otak dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Fiksasi dan pencucian

Tujuan : untuk mencegah terjadinya degenerasi post mortem, mematikan bakteri, meningkatkan afinitas jaringan terhadap berbagai zat warna, membuat jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk semula dan mudah dipotong meningkatkan indeks refraksi komponen jaringan.

Reagen : formalin 100%

Cara kerja : setelah hewan percobaan mati, segera dilakukan nekropsi, lalu organ otak diambil dan dimasukkan dalam formalin 10% selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air kran.

2. Dehidrasi dan clearing

Tujuan : untuk menarik air dalam jaringan dan membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Reagen : alkohol 70%, 80%, 96%, alkohol absolute I,II, dan III, xylol I dan II.

Cara kerja : organ otak yang telah dicuci dengan air kran selama 30menit, kemudian dimasukkan ke reagen urutan alcohol 70%, 80%, 96%, alkohol absolute I,II, dan III, xylol I dan II, masing-masing selama 30 menit.

3. Infiltrasi

Tujuan : untuk menginfiltrasi dengan parafin. Parafin akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : parafin I dan II

Cara kerja : jaringan dimasukkan ke dalam parafin I dan II yang mencair kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 80°C

4. Pembuatan blok parafin

Tujuan : untuk memudahkan pemotongan jaringan

Reagen : parafin cair

Cara kerja : beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lengketnya parafin dan cetakan, kemudian otak yang telah dipotong dimasukkan dengan pinset dan ditunggu hingga parafin membeku.

5. Pengirisan dan mikrotom

Tujuan : agar jaringan mudah dipotong

Cara kerja: blok parafin yang berisi potongan jaringan diletakkan pada holder mikrotom lalu holder tersebut dieratkan pada mikrotom kemudian dilakukan pemotongan dengan ketebalan 4-6 mikron setelah itu dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 60°C sampai jaringan mengembang dengan baik. Hasil potongan diletakkan pada gelas objek yang sebelumnya diolesi dengan albumin selanjutnya dikeringkan di atas hot plate dengan suhu 60°C.

6. Pewarnaan

Tujuan : untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Pada tahapan ini digunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

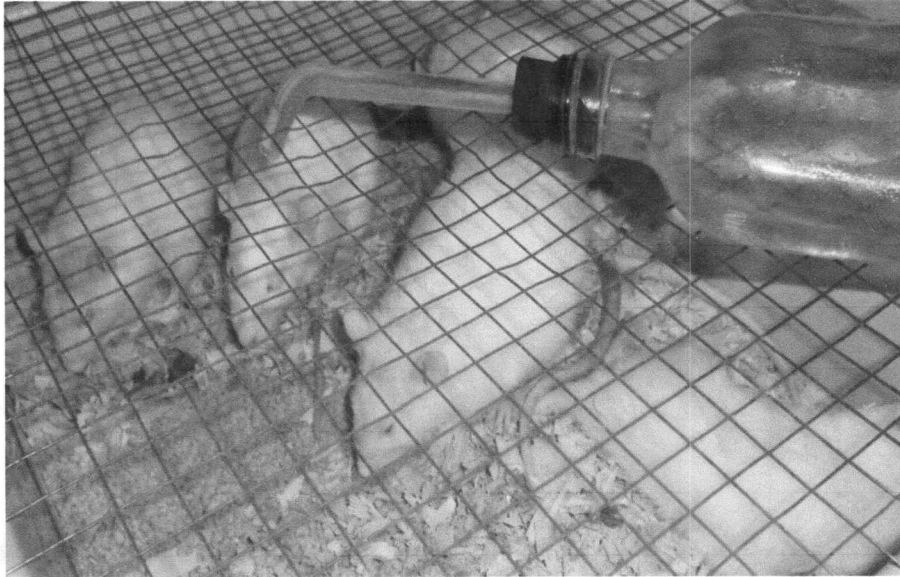
Cara kerja : pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan metode Harris, yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam xylol I selama 3 menit dalam tempat khusus, xylol II, alcohol absolute I dan II, alcohol 96%, 80%, 70%, air kran masing-masing selama 1 menit, zat warna selama 5-10 menit, air kran selama 2-5 menit, acid alcohol sebanyak 3-10 celupan, air kran sebanyak 4-7 celupan, amoniak sebanyak 6 celupan, aquadest secukupnya, zat warna eosin selama 15 menit, aquades selama 1-2 menit, alcohol 70% dan 80% selama 1-2 menit, kemudian diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa-sisa warna.

7. Penutupan dengan cover glass

Tujuan : mengawetkan sediaan secara permanen

Cara kerja : jaringan yang telah diwarnai pada objek glass dan ditutup dengan cover glass, yang sebelumnya ditetesi dengan Canada Balsam yang merupakan perekat transparan.

Lampiran 4. Dokumentasi kegiatan



Gambar 1. Tikus putih (Dokumentasi Pribadi)