

## **PENGARUH PEMBERIAN MERKURI PER ORAL TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS GINJAL TIKUS WISTAR**

Andre Wiguna<sup>1</sup>, Hadi<sup>2</sup>, Siti Amarwati<sup>3</sup><sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro<sup>2</sup>Staf Pengajar Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro<sup>3</sup>Staf Pengajar Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Sudarto SH., Tembalang Semarang 50275 Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Merkuri merupakan logam berat yang sangat berbahaya, namun banyak digunakan dalam kehidupan manusia. Merkuri terdapat dalam bentuk elemental, inorganik, dan organik. Kasus keracunan merkuri sudah lama ditemukan. Paparan merkuri merusak banyak organ, termasuk ginjal. Ginjal, khususnya tubulus proksimal, merupakan tempat utama akumulasi merkuri klorida (jenis merkuri inorganik).

**Tujuan :** Mengetahui pengaruh pemberian merkuri klorida per oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

**Metode :** Penelitian eksperimental *post test only control group design* selama 14 hari dengan sampel 27 ekor tikus *Wistar* jantan dibagi secara acak menjadi kelompok kontrol (tidak diberi merkuri klorida), perlakuan 10 mg/kgBB, dan perlakuan 20 mg/kgBB. Tiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Pada hari ke-15 dilakukan terminasi, ginjal diambil, preparat diproses, dicat dengan Hematoksin-Eosin, dan diamati dengan perbesaran 400 kali. Dinilai derajat kerusakan tubulus proksimal: normal, ringan (dilatasi tubulus), sedang (degenerasi albuminosa), dan berat (nekrosis sel tubulus).

**Hasil :** Normal, kerusakan ringan, kerusakan sedang, dan kerusakan berat berturut-turut: kontrol: 0, 33,3%, 66,7%, 0 ; perlakuan 10 mg/kgBB: 0, 0, 33,3%, 66,7% ; perlakuan 20 mg/kgBB: 0, 0, 0, 100%. Rerata derajat kerusakan histopatologi semakin meningkat dari kontrol sampai perlakuan 20 mg/kgBB. Analisis statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan perbedaan bermakna ( $p < 0,001$ ) dilanjutkan uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan bermakna antara kontrol dengan perlakuan 10 mg/kgBB ( $p = 0,002$ ) dan kontrol dengan perlakuan 20 mg/kgBB ( $p < 0,001$ ). Perlakuan 10 mg/kgBB dengan perlakuan 20 mg/kgBB terdapat perbedaan yang tidak bermakna ( $p = 0,065$ ).

**Simpulan :** Pemberian merkuri klorida per oral berpengaruh menyebabkan perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

**Kata Kunci :** merkuri klorida, gambaran histopatologi ginjal..

### **ABSTRACT**

#### **THE EFFECT OF ORAL ADMINISTRATION OF MERCURY ON HISTOPATHOLOGICAL APPEARANCE OF WISTAR RAT'S KIDNEY**

**Background :** Mercury is a harmful heavy metal compound, but commonly used in human life. Mercury consists of elemental, inorganic, and organic. Mercury poisoning cases have long been found. Exposure to mercury damage many organs, including the kidney. Kidney, especially proximal tubule, is the main accumulation site of mercuric chloride (kind of inorganic mercury).

**Aim :** To know the effect of mercuric chloride oral administration on Wistar rat kidney's histopathological appearance.

**Methods :** Experimental study with post test only control group design for 14 days, used 27 male Wistar rats, divided randomly into: control (given no mercuric chloride), 10 mg/kgBW mercuric chloride, and 20 mg/kgBW mercuric chloride. Each group consists of 9 rats. On 15<sup>th</sup> day, rats were terminated, kidneys were harvested, samples were processed, stained with Hematoksilin-Eosin, and examined on 400 times magnification. Proximal tubule destruction degree: normal, mild (tubule dilatation), moderate (parenchym degeneration), and severe (tubule cell necrosis).

**Results :** Normal, mild destruction, moderate destruction, and severe destruction on: control: 0, 33,3%, 66,7%, 0 ; 10 mg/kgBW group: 0, 0, 33,3%, 66,7% ; 20 mg/kgBW group: 0, 0, 0, 100%. Destruction degree average was increased from control to 20 mg/kgBW group. Statistical analysis with Kruskal-Wallis test showed significant difference ( $p < 0.001$ ) followed by Mann-Whitney test showed significant difference between control with 10 mg/kgBW group ( $p = 0.002$ ) and control with 20 mg/kgBW group ( $p < 0.001$ ). There was insignificant difference between 10 mg/kgBW and 20 mg/kgBW group ( $p = 0.065$ ).

**Conclusion :** Mercuric chloride oral administration caused changes on Wistar rat kidney's histopathological appearance.

**Keywords :** mercuric chloride, kidney's histopathology appearance.

## PENDAHULUAN

Merkuri merupakan logam berat yang sangat berbahaya. Keracunan merkuri menyebabkan banyak efek merugikan pada makhluk hidup, termasuk manusia. Sayangnya manusia dapat terpapar merkuri secara mudah dan tidak disadari. Hal itu dikarenakan merkuri terdapat dalam hal-hal yang dekat dengan kehidupan manusia.<sup>1</sup>

Di alam, merkuri terdapat dalam 3 bentuk yang berbeda dalam sifat, kegunaan, dan toksisitasnya. Ketiga bentuk itu adalah merkuri elemental, merkuri inorganik, dan merkuri organik. Merkuri elemental berwarna abu-abu dan berwujud cair pada suhu 25<sup>0</sup>C. Merkuri inorganik terbentuk apabila merkuri terkombinasi dengan unsur lain, seperti sulfur atau oksigen untuk membentuk senyawa atau garam yang larut dalam air. Pada suhu 25<sup>0</sup>C berwujud padat dengan bentuk bubuk atau kristal. Merkuri organik terbentuk apabila merkuri terkombinasi dengan karbon.<sup>2</sup>

Paparan merkuri menyebabkan kerusakan pada berbagai bagian tubuh. Paparan merkuri elemental menyebabkan kerusakan terutama pada susunan syaraf pusat. Merkuri inorganik digunakan dalam hal-hal yang sering ditemui dalam kehidupan manusia, paparan merkuri inorganik menyebabkan kerusakan terutama pada ginjal. Merkuri organik merupakan merkuri yang dapat masuk ke dalam rantai makanan. Merkuri jenis ini merupakan penyebab kasus keracunan merkuri di Minamata, Prefektur Kumamoto, Jepang. Pada tahun 1953-1960

dilaporkan terdapat 53.612 korban. Gejalanya antara lain kelumpuhan di kaki dan lutut, dan kelumpuhan bicara yang sulit dikembalikan ke keadaan semula.<sup>3</sup>

Ginjal merupakan salah satu organ yang fungsinya sangat vital dalam hidup manusia. Dalam kaitannya dengan merkuri, ginjal merupakan tempat utama akumulasi merkuri klorida (jenis merkuri inorganik) sehingga dapat mengganggu fungsi fisiologisnya.<sup>4</sup> Bagian ginjal yang paling mengalami kerusakan adalah tubulus proksimal.<sup>5</sup> Perubahan yang terjadi pada tikus dalam penelitian ini kemungkinan besar juga dapat ditemukan pada manusia yang keracunan merkuri klorida sehingga sangat bermanfaat bagi ilmu kedokteran forensik ketika menemui kasus keracunan merkuri klorida dalam menentukan sebab kematian. Oleh karena itu, perlu diketahui pengaruh pemberian merkuri klorida per oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

## **METODE**

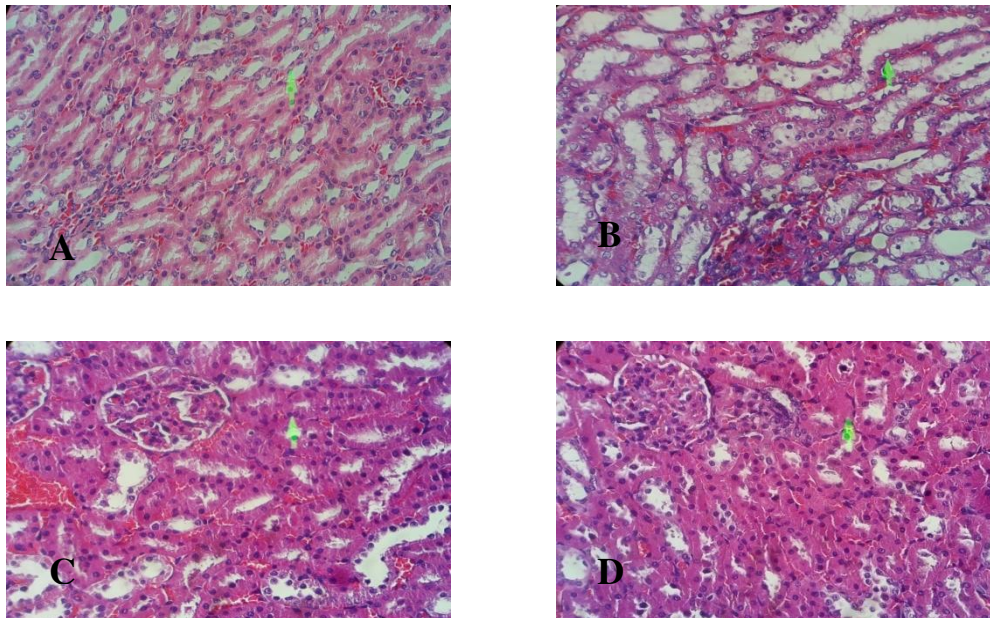
Penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Sampel penelitian 27 ekor tikus *Wistar* jantan yang diperoleh dari *Animal Care* Universitas Negeri Semarang. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian merkuri klorida per oral dengan berbagai dosis. Variabel terikat adalah gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

Tikus diadaptasikan selama 7 hari serta diberi ransum pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Secara acak tikus tersebut dibagi ke dalam 3 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus, yang masing-masing kelompok dikandangan tersendiri sebagai berikut: kelompok kontrol atau K (diberi aquades murni yang tidak mengandung merkuri klorida), kelompok perlakuan 1 atau P1 (diberi larutan merkuri klorida dengan dosis 10 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan 2 atau P2 (diberi larutan merkuri klorida dengan dosis 20 mg/kgBB).

Setelah 14 hari, dilakukan euthanasi pada tikus dengan teknik anestesi overdosis menggunakan eter. Setelah tikus mati, organ ginjal diambil, dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin, lalu dilakukan pemeriksaan gambaran histopatologi dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapangan pandang. Pengamatan dilakukan sebanyak 2 kali. Data primer yang dikumpulkan adalah derajat kerusakan tubulus proksimal ginjal dengan penggolongan: normal, kerusakan ringan (ditemukan dilatasi tubulus), kerusakan sedang (ditemukan degenerasi albuminosa), dan kerusakan berat (ditemukan nekrosis sel tubulus).

**HASIL**

Gambar 1 menunjukkan kelainan gambaran histopatologi yang ditemukan pada pengamatan mikroskopis masing-masing kelompok.



**Gambar 1.** Gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar* dengan pengecatan HE, pembesaran 400 kali. Panah hijau: A. Sel tubulus normal. B. Dilatasi tubulus. C. Degenerasi albuminosa. D. Nekrosis sel tubulus

Tabel 1 memperlihatkan rerata, standar deviasi, dan median derajat kerusakan histopatologi ginjal tikus *Wistar* yang diperoleh dari pengamatan mikroskopik pada lima lapangan pandang yang berbeda terhadap seluruh kelompok.

**Tabel 1.** Rerata, standar deviasi, dan median derajat kerusakan histopatologi

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median	Minimum	Maksimum
Kontrol	1,67 $\pm$ 0,50	2	1	2
Perlakuan 1	2,67 $\pm$ 0,50	3	2	3
Perlakuan 2	3,00 $\pm$ 0,00	3	3	3

Keterangan: Kontrol = tanpa diberi merkuri klorida

Perlakuan 1 = diberi merkuri klorida dengan dosis 10 mg/kgBB

Perlakuan 2 = diberi merkuri klorida dengan dosis 20 mg/kgBB

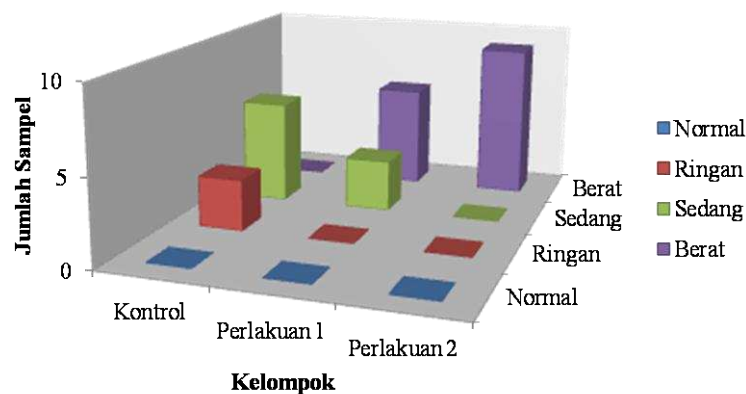
Berdasarkan tabel 1, rerata terendah derajat kerusakan histopatologi ginjal tikus *Wistar* terdapat pada kelompok kontrol (1,67) dan rerata tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 2 (3,00), dimana terdapat peningkatan rerata dari kelompok kontrol sampai kelompok perlakuan 2. Nilai median derajat kerusakan histopatologi ginjal tikus *Wistar* menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol memiliki nilai median paling rendah. Kelompok perlakuan 1 memiliki nilai median lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Kelompok perlakuan 2 memiliki nilai median yang sama dengan kelompok perlakuan 1, namun masih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

Tabel 2 dan gambar 2 memperlihatkan distribusi frekuensi data kerusakan histopatologi yang diperoleh dari pengamatan seluruh kelompok penelitian pada 5 lapangan pandang.

**Tabel 2.** Distribusi frekuensi derajat kerusakan histopatologi

Derajat	Kelompok		
	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
Normal	0	0	0
Ringan	3 (33,3%)	0	0
Sedang	6 (66,7%)	3 (33,3%)	0
Berat	0	6 (66,7%)	9 (100%)
Total	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)

**Gambar 2 .** Grafik distribusi frekuensi derajat kerusakan histopatologi



Berdasarkan tabel 2 dan gambar 2, gambaran histopatologi normal tidak ditemukan pada seluruh kelompok penelitian. Pada kelompok kontrol didapatkan kerusakan derajat ringan dan sedang. Pada kelompok perlakuan 1 didapatkan kerusakan derajat sedang dan berat. Pada kelompok perlakuan 2 didapatkan hanya kerusakan derajat berat.

Data derajat kerusakan histopatologi ginjal tikus *Wistar* diuji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan didapatkan  $p < 0,05$  sehingga distribusi data tidak normal. Dilakukan *test of homogeneity of variances* didapatkan  $p < 0,001$  sehingga data tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Oleh karena itu, analisis data dilanjutkan dengan uji hipotesis non parametrik *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai  $p < 0,001$  yang berarti terdapat perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna secara statistik ( $p < 0,05$ ) di antara kelompok penelitian. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui secara pasti kelompok-kelompok yang memiliki beda bermakna. Hasil uji *Mann-Whitney* disajikan pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji *Mann-Whitney*

	<b>Perlakuan 1</b>	<b>Perlakuan 2</b>
Kontrol	0,002*	<0,001*
Perlakuan 1	-	0,065
Perlakuan 2	-	-

Keterangan: \* ada perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Dari tabel 3 dapat dilihat adanya perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna secara statistik ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 ( $p = 0,002$ ) dan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 ( $p < 0,001$ ). Sedangkan antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 didapatkan nilai  $p = 0,065$  sehingga terdapat perbedaan gambaran histopatologi yang tidak bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Ginjal merupakan salah satu organ vital yang berfungsi membuang zat-zat beracun atau yang sudah tidak lagi digunakan oleh tubuh sehingga ginjal sering terkena paparan zat-zat nefrotoksik. Pada kasus-kasus nefrotoksik, tubulus proksimal merupakan bagian yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan. Hal itu disebabkan epitelnya yang lemah dan mudah bocor sehingga aliran bahan nefrotoksik dapat dengan mudah menuju

tubulus proksimal dan terakumulasi di dalamnya. Bagian ini juga merupakan pusat transpor segmental tubuler pada logam berat, anion, dan kation organik. Faktor akumulasi, toksisitas, dan reaksi zat nefrotoksik juga berperan dalam terjadinya kerusakan tubulus proksimal ginjal.<sup>6,7</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan merkuri klorida menyebabkan kelainan gambaran histopatologi ginjal, terutama pada bagian tubulus proksimal. Kelainan itu bervariasi dari yang ringan sampai yang berat. Kelainan paling ringan adalah dilatasi tubulus. Pada tahap berikutnya dapat terjadi degenerasi. Proses degenerasi yang terjadi pada penelitian ini adalah proses degenerasi albuminosa berupa pembengkakan sel tubulus dan penyempitan atau bahkan penutupan lumen tubulus. Kelainan paling parah yang terjadi adalah nekrosis sel tubulus. Nekrosis bersifat ireversibel. Ditandai dengan inti sel yang menjadi piknotik (inti sel menyusut, batas tidak teratur, dan berwarna gelap), karioreksis (inti hancur membentuk fragmen-fragmen), dan akhirnya kariolisis (inti hilang).<sup>8-10</sup>

Berdasarkan temuan penelitian dalam analisis deskriptif, pada kelompok kontrol (tidak diberi merkuri klorida) ditemukan kerusakan derajat ringan dan sedang, kelompok perlakuan 1 (diberi merkuri klorida dosis 10 mg/kgBB) ditemukan kerusakan derajat sedang dan berat, dan kelompok perlakuan 2 (diberi merkuri klorida dosis 20 mg/kgBB) ditemukan hanya kerusakan derajat berat. Pada kelompok kontrol justru didapatkan kerusakan, kemungkinan disebabkan ginjal tikus kelompok kontrol sudah memiliki kelainan sebelumnya atau akibat bias dari degenerasi albuminosa karena degenerasi ini normal terjadi pada jaringan *post mortem*.<sup>10</sup> Rerata derajat kerusakan histopatologi semakin meningkat dari kelompok kontrol sampai kelompok perlakuan 2. Temuan penelitian ini sesuai dengan teori dosis-respon dan memperkuat hasil penelitian pada jurnal yang sudah ada sebelumnya, misalnya pada penelitian oleh Debasree Ghosh, dkk pada tahun 2012 yang berjudul “*Histopathological Effects and Bioaccumulation of Mercury in The Kidney of An Indian Major Carp, Labeo rohita (Hamilton)*” dimana merkuri klorida diberikan selama 30 hari dengan dosis bertingkat, didapatkan kesimpulan semakin besar dosis merkuri klorida yang diberikan, maka semakin banyak merkuri klorida yang tertimbun dan semakin parah kerusakan histopatologi ginjal yang terjadi.<sup>4</sup>

Berdasarkan analisis analitik, hasil pengamatan mikroskopis ginjal tikus *Wistar* dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Berdasarkan uji statistik yang lebih lanjut (uji *Mann-Whitney*), didapatkan perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2. Hal ini mendukung temuan penelitian dalam analisis deskriptif. Namun, antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 menunjukkan perbedaan gambaran histopatologi yang tidak bermakna. Hal ini bertentangan dengan temuan penelitian dalam analisis deskriptif. Perbedaan gambaran histopatologi yang tidak bermakna antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 ini kemungkinan disebabkan jumlah sampel penelitian yang sedikit atau penggolongan derajat kerusakan histopatologi yang terlalu detail.

Hal-hal lain yang dapat mempengaruhi adalah faktor stres tikus *Wistar*, pengaruh zat atau penyakit lain, dan faktor internal lain seperti daya tahan dan kerentanan tikus *Wistar*. Kelemahan yang ada dalam penelitian ini adalah degenerasi albuminosa menjadi faktor bias. Selain itu, sampel kelompok kontrol yang tampak sehat, namun ternyata kondisi ginjalnya kurang baik sehingga pada pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya kelainan gambaran histopatologi. Bias yang mungkin terjadi pada pengamatan gambaran histopatologi dapat dihilangkan dengan pengamatan oleh dokter spesialis patologi anatomi pada masing-masing preparat di 5 lapangan pandang berbeda yang dianggap telah mewakili gambaran keseluruhan. Pengamatan dilakukan sebanyak 2 kali.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Pemberian merkuri klorida per oral berpengaruh menyebabkan perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

### **Saran**

Perlu dilakukan penelitian pembandingan dengan dosis yang sama. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih bervariasi dan jangka waktu yang berbeda. Pemeliharaan tikus *Wistar* perlu lebih diperhatikan. Perlu dilakukan regulasi lebih lanjut mengenai pembatasan penggunaan merkuri dalam kehidupan manusia.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Haleem NYA, El-Aasar HM, Zaki SM, Sabry SM, El-Zainy AW. Concomittant protective and therapeutic role of verapamil in chronic mercury induced nephrotoxicity in the adult rat: histological, morphometric and ultrastructural study. Arch Med Sci [Internet]. 2015 [cited 2015 Nov 23]; 11(1):199-209. Available from: PubMed.
2. The Centers for Disease Control and Prevention. Mercury. United States: The Centers for Disease Control and Prevention; 2009.
3. United Nations Environment Programme. Mercury\_time to act. Geneva: Division of Technology, Industry, and Economics UNEP; 2013.p.1-44
4. Ghosh D, Mandal DK. Histopathological effects and bioaccumulation of mercury in the kidney of an indian major corp, *Labeo rohita* (Hamilton). Bull Environ Contam Toxicol [Internet]. 2012 [cited 2015 Dec 1]; 89(3):479-83. Available from: SpringerLink.
5. Branco V, Ramos P, Canario J, Lu J, Holmgren A, Carvalho C. Biomarkers of adverse response to mercury: histopathology versus thioredoxin reductase activity. Journal of Biomedicine and Biotechnology [Internet]. 2012 [cited 2015 Dec 1]; 2012:1-10. Available from: Hindawi Publishing Corporation
6. Goldstein R.S, Schnellmann R.G. Toxic response of the kidney. In: Klaaseen C.D, Amdur M.O, Doull J, editors. Cassaret and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 5<sup>th</sup> ed. USA: McGraw-Hill; 1996.p.426-8,435.
7. Putra P.B. Pengaruh pemberian dekstrometorfan dosis bertingkat per oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar* [dissertation]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2010.
8. Tubulointerstitial diseases [homepage on the Internet]. c2009 [updated 2009 Jan 30; cited 2016 Jan 21]. Available from: [http://www.kidney pathology.com/English\\_version/Tubulointerstitial\\_diseases.html](http://www.kidney pathology.com/English_version/Tubulointerstitial_diseases.html).
9. Suhita N.L.P.R, Sudira I.W, Winaya I.B.O. Histopatologi ginjal tikus putih akibat pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) peroral. Buletin Veteriner Udayana [Internet]. 2013 [cited 2016 Jan 22]; 5(2):71-8. Available from: <http://ojs.unud.ac.id/index.php/buletinvet/article/view/5741/4347>.
10. Tim Pengajar Patologi Anatomi. 2011. Pedoman Kuliah Mahasiswa Patologi Anatomi 2. Semarang: FK UNDIP.