

LAPORAN PENDAHULUAN MENGENAI PENDARAHAN PERIRENAL DAN METROPATI PADA GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*) DISEBABKAN MIKOTOKSIN *PENICILLIUM VIRIDICATUM*

Iwan T. Budiarmo*, Roedyanto Tjokrosapoetro, Irma Hassan,
Frans Sukardi, Tjandra Tedjakusuman** dan John F. Tuite***

ABSTRACT

Twenty four female gerbils were allotted into 4 groups and each group consisted of 6 animals. Group A was fed with standard diet used as control. Groups B, C and D were fed with diets respectively containing 2,5 %, 5 % and 10 % concentrations of dried ground cultures of *Penicillium viridicatum*. Three gerbils from each group were killed at the end of 5 and 12 week feeding period respectively. No clinical sign was observed in test groups, other than decrease of body weight. Gross lesions were observed in animals which were killed at the end of 12 week feeding period. Lesions included hydropic degeneration, hemorrhages, and necrosis of perirenal fatty tissue. The renal parenchyma showed the feature of toxicosis. Microscopic lesions of degeneration, hemorrhages, necrosis and inflammatory cells infiltration of perirenal tissue. The kidney showed focal dilatation and collapse of tubulus.

PENDAHULUAN

Penelitian mengenai penemuan metabolit bersifat racun yang dihasilkan oleh berbagai jenis cendawan sebagai sumber penyebab penyakit dan tumbuh ganda pada hewan dan manusia, membuka suatu lunbaran bidang baru dalam ilmu kedokteran. Cendawan-cendawan ini dapat mencemari berbagai macam bahan pokok makanan dan biji-bijian komoditi pertanian. Di Indonesia, penelitian mengenai mikotoksin dan mikokarsinogen belum banyak mendapat perhatian. Hal ini merupakan suatu tantangan yang sungguh-sungguh di antara para ahli kesehatan masyarakat. Penelitian yang pernah diberitakan mengenai hubungan antara pencemaran makanan oleh mikotoksin dengan kemungkinan timbulnya penyakit atau tumbuh ganda pada hati hanya terbatas pada aflatoksin saja (Pang dkk, 1972, 1974, Pang, 1977, a, 1977 b.). Padahal yang disebut mikotoksin yang dapat menimbulkan penyakit dan tumbuh ganda itu banyak sekali jenisnya. Hal ini sudah pernah dilaporkan oleh BUDIARSO (1978 a,

1978 b) sebagai suatu hasil penelitian dan penelusuran kepustakaan.

CARLTON, TUIITE dan MISLEVEC (1970) adalah kelompok peneliti yang pertama-tama melaporkan mengenai keracunan *P. viridicatum* pada mencit. Kelainan patologiknya terdiri dari perdarahan dan nekrosa dari hati. Ginjalnya mengalami degenerasi dan nekrosa pada bagian kortek. Di dalam lumen tubuli ditemukan endapan silinder protein dengan atau tanpa pigmen empedu. Laporan ini telah dituguhkan oleh hasil penelitian dari BUDIARSO dkk (1971 a, 1971 b) dan BUDIARSO (1978 b). Selain mencit, hewan-hewan percobaan lain yang peka terhadap *P. viridicatum* adalah tikus (CARLTON dan TUIITE, 1970 a), marmot dan babi (CARLTON dan TUIITE, 1970 b), domba, bebek, dan kera (BUDIARSO, 1975). Pada kesempatan ini penulis melaporkan kelainan patologi anatomik pada gerbil yang disebabkan mikotoksin *P. viridicatum*.

BAHAN DAN METODE

Biakan Cendawan: Seratus ml larutan medium dari campuran Czapek, Cora Steep dan Dexiroso dan ditempatkan ke dalam tabung Erlenmeyer yang berukuran 500 ml. Kemudian disucihanyakan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, keesokan harinya diinokulasi dengan spora dari *Penicillium viridicatum*.

* Staf peneliti, Puslit Kanker dan Pengembangan Radiologi, Badan Litbangkes, Departemen Kesehatan.

** Bagian Patologi Anatomik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

*** Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, Lafayette, Indian - U.S.A.

CORRECTION / RALAT

1. Bulletin Health Studies In Indonesia/Bulletin Penelitian Kesehatan Vol. IX No. 1 1981. Page/Halaman 15.

Notations : as printed under Abstract should be printed as a Note
Catatan : yang dicetak di bawah Abstract seharusnya sebagai catatan.

ABSTRACT

Untuk mengetahui penyakit-penyakit apa yang mengancam kesehatan para transmigran diselenggarakan beberapa survei morbiditas di beberapa daerah transmigrasi yang terletak di sekitar jalan raya trans – Sumatera. Penelitian ini adalah merupakan hasil salah satu survei di Propinsi Lampung.

Dari penghuni kampung-kampung Waspada, Karya Tani, Ogan Baru dan Pagar Dewa diambil darah, faeces dan dahaknya untuk diperiksa. Juga diselidiki nyamuk dan tikus serta ectoparasit yang terdapat pada tikus-tikus yang tertangkap. Seluruhnya diperiksa 273 orang. Dari 203 sampel tinja, prevalensi *Entamoeba histolytica* adalah 4%, *E. coli* 22%, *Endolimax nana* 9%, *Jodamoeba butschlii* 10%, *Gardia lamblia* 2%, *Ascaris lumbricoides* 59%, *Trichuris trichiura* 60%, dan cacing tambang 42%. Kecuali untuk cacing tambang, umur tidak mempunyai pengaruh atas prevalensi rate

Bakteria enteropathogen terdapat pada 1 orang dengan *Shigella dysenteriae*, 2 orang dengan *Shigella sonnei*, 1 orang dengan *Shigella flexneri*, 2 orang dengan *Salmonella typhi* dan 2 orang dengan *Edwardnella tarda*.

Dari 164 sampel dahak tidak ada satu yang positif akan basil tahan asam. Enam puluh anak-anak antara 0 – 9 tahun diperiksa limpanya dan hanya pada 2 anak (3%) terdapat limpa yang teraba. Dari 273 orang hanya 5 orang (1,8%) mengandung *microfilaria* dan prevalensi malaria tertinggi terdapat di Karya Tani (6,7%), kebanyakan *Plasmodium vivax*. Serologis 18% dari 171 orang mempunyai IHA antibody terhadap *E. histolytica* dan 4% terhadap *Toxoplasma gondii*; agglutinas tes terhadap *Leptospira spp* adalah 4% terhadap *Pseudomonas Pseudomallei* 2% positif.

Dengan HI tes terhadap arbovirus Grup A (*Chikungunya*) dan Grup B (*Japanese Encephalitis*) menunjukkan 73,3 – 75% dan 93,3 – 97,1% positif masing-masing. Semua golongan umur menunjukkan angka positif yang tinggi. Dengan IFA tes prevalensi antibody positif untuk scrubtyphus dan murine typhus adalah masing-masing 7,6% dan 37,1%. Scrubtyphus serologis positif terdapat paling banyak pada umur 30 tahun ke atas. Tikus yang paling banyak tertangkap adalah *Rattus rattus diardii* dan *R. exulans* dan pada 80% tikus-tikus yang tertangkap (seluruhnya 86 ekor) dijumpai *Leptotrombidium deliense*.

2. Bulletin Health Studies In Indonesia/Bulletin Penelitian Kesehatan Vol. IX No. 2 1981 Page/Halaman 24.

Dalam judul : LAPORAN PENDAHULUAN MENGENAI PENDARAHAN PERIRENAL DAN METROPATI PADA GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*) DISEBABKAN MIKOTOKSIN *PENICILIUM VIRIDICATUM*.

Harap diralat menjadi : LAPORAN PENDAHULUAN MENGENAI PERDARAHAN PERIRENAL DAN NEFROPATI PADA GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*) DISEBABKAN MIKOTOKSIN *PENICILIUM VIRIDICATUM*.

The title : LAPORAN PENDAHULUAN MENGENAI PENDARAHAN PERIRENAL DAN METROPATI PADA GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*) DISEBABKAN MIKOTOKSIN *PENICILIUM VIRIDICATUM*.

Should read : LAPORAN PENDAHULUAN MENGENAI PENDARAHAN PERIRENAL DAN NEFROPATI PADA GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*) DISEBABKAN MIKOTOKSIN *PENICILIUM VIRIDICATUM*.

Biakan ini diinokulasikan pada suhu 23°C selama 2 minggu. Misolia dan sporanya lalu dipisahkan dari cairan sodium dengan melalui kertas saring Whatman No. 1. Lalu biakan cendawan direndam dalam larutan chloroform selama 24 jam. Kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C selama 5 hari. Biakan ini lalu digiling sampai menjadi tepung halus.

Hewan percobaan dan perlakuan. 24 ekor gerbil betina dewasa dibagi menjadi 4 kelompok. Grup A terdiri dari 6 ekor dan diberi makanan standar. Grup B, C dan D masing-masing terdiri dari 6 ekor dan diberi makanan yang dicampur dengan tepung biakan cendawan

yang mengandung kadar masing-masing 2,5 %, 5 % dan 10 %. Semua hewan percobaan ini ditempatkan dalam kandang plastik yang diberi alas serbuk gergaji. Setiap kandang diisi 2 ekor. Makanan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Kandang dibersihkan dan alas diganti seminggu sekali. Semua hewan percobaan ditimbang berat badannya sebelum percobaan dimulai dan setiap minggu selama masa percobaan.

Pemeriksaan makroskopik: Masing-masing 3 ekor gerbil dibunuh pada akhir minggu ke-5 dan ke-11 untuk pemeriksaan patologi anatomik (Tabel 1).

Table 1 Jumlah Gerbil yang diperiksa, Rata-rata berat badan, Perdarahan Perirenal dan Kelainan Tubuler Ginjal dari Gerbil yang diberi Makan Berbagai Kadar Tepung Biakan Cendawan *Penicilium viridicatum*

Grup	Jumlah Gerbil	Makanan	Berat Badan			Dibunuh		Lesi Perirenal		Lesi Ginjal	
			Minggu ke-			Minggu ke-		Minggu ke-		Minggu ke-	
			0	V	XI	V	XI	V	XI	V	XI
A	6	standar	56	65	71	3	3	0	0	0	0
B	6	2,5 % P.V.	62	63	69	3	3	0	1	0	1
C	6	5 % P.V.	58	62	62	3	3	0	1	0	2
D	6	10 % P.V	59	51	48	3	3	0	2	0	1

Pemeriksaan mikroskopik: Semua alat-alat tubuh seperti jantung, paru, hati, ginjal, limpa, lambung, usus dan pankreas dikumpulkan dan diawetkan dalam larutan formalin 10 %. Setelah matang, kemudian diproses untuk pembuatan kupe histologi menurut cara yang rutin dan diwarnai dengan hematoxylin dan eosin.

HASIL PERCOBAAN

Gejala klinik: Gerbil-gerbil dari kelompok percobaan hanya menunjukkan gejala kurang mau makan dan penurunan berat badan khususnya Grup D. (Tabel 1). Gerbil dari kelompok kontrol tidak menunjukkan gejala-gejala kelainan.

Perubahan makroskopik: Semua gerbil, baik dari kelompok kontrol maupun dari percobaan yang dibunuh pada akhir minggu ke-5 tidak nampak adanya kelainan dari semua alat-alat tubuhnya. Masing-masing 1 ekor dari

grup B dan C, dan 2 ekor dari grup D yang dibunuh pada akhir minggu ke-11 menunjukkan adanya bercak-bercak perdarahan dan nekrosa dari jaringan lemak sekitar ginjal kanan dan kiri. Di samping itu, jaringan lemak tersebut juga kelihatan mengalami degenerasi hidropik. Ketiga kapsul ginjal dari ketiga gerbil grup D yang dibunuh pada akhir minggu ke-11, tampak berbintik-bintik keputihan dan aspeknya mengkilat.

Perubahan mikroskopik: Perubahan perdarahan, nekrosa dan degenerasi jaringan sekitar ginjal yang terlihat secara makroskopik, diteguhkan oleh pemeriksaan mikroskopik. Ternyata proses peradangan ini juga ada yang menjalar sampai pada jaringan otot para-lumbar.

Perubahan dari parenchym ginjal ditemukan masing-masing 1 ekor dari grup B dan grup D, dan 2 ekor dari grup C yang dibunuh pada akhir minggu ke-11. Gambaran perubahan ginjal dari ketiga grup itu kurang lebih sama.

Perubahan ginjal ini terdiri dari degenerasi albumin bagian tubuli korteksi dan dilatasi tubuli terutama di bagian kortek. Dilatasi tubuli ini sifatnya lokal dan penyebarannya secara acak. Epitel dari tubuli yang mengalami dilatasi itu kelihatan menjadi pipih. Sedangkan tubuli normal yang terletak di sebelahnya menjadi kolaps dan atrofi, sehingga tampak seperti jaringan parenchym yang hiperseluler. Alat-alat tubuh lainnya seperti jantung, paru, hati, limpa, lambung, usus dan pankreas tidak menunjukkan perubahan.

DISKUSI

Penelitian mengenai keracunan berbagai jenis hewan percobaan yang disebabkan oleh mikotoksin *P. viridicatum* sudah banyak dilaporkan (BUDIARSO dkk., 1969, 1970, 1971 a, 1971 b, 1976; BUDIARSO, 1975, 1978 b, CARLTON dkk., 1968, 1970, CARLTON and TUITE, 1970 a, 1970 b, KROGH dan HASSELAGER, 1969, FRIIS dkk., 1969, KROGH, 1970) dan ternyata kepekaan reaksinya bervariasi. Dari sekian banyak jenis hewan yang pernah dicoba, ternyata mencit adalah hewan percobaan yang paling peka. Pada mencit secara konsisten ditemukan kerusakan pada hatinya dan juga seringkali disertai perubahan pada ginjalnya.

Perubahan makroskopik dan mikroskopik dari gerbil pada penelitian ini yang paling nyata adalah pendarahan dan nekrosa daripada jaringan sekitar ginjal dengan disertai degenerasi dan dilatasi tubuli ginjal. Perubahan patologi-anatomik yang akhir-akhir ini mirip seperti dari kelainan ginjal yang pernah dilaporkan pada mencit (BUDIARSO dkk., 1970, 1971, CARLTON dkk., 1968, 1970), pada tikus (CARLTON dan TUITE, 1970 a, KROGH dan HASSELAGER, 1979), pada marmot (CARLTON dan TUITE, 1970 a) dan pada babi, (CARLTON dan TUITE, 1970 a, KROGH dan HASSELAGER, 1969, ELLING dan MOLLER, 1973), sekalipun perubahan makroskopiknya pada gerbil yang paling menonjol adalah pendarahan

dan nekrosa jaringan perirenal. Variasi dari kelainan gambar patologi anatomik ini tidak terlalu mengherankan, karena mungkin sekali jenis strain *P. viridicatum* yang dipakai, cara proses pembiakan cendawan, dan macam jenis hewan percobaan adalah berlainan atau heterogen, sehingga tidaklah mustahil bahwa respon yang bervariasi tersebut dipengaruhi oleh satu atau lebih faktor-faktor atau oleh kombinasi dari faktor-faktor yang terdapat dalam percobaan tersebut.

Di samping perbedaan gambar patologi-anatomik daripada mencit, gerbil ini ternyata jauh resisten. Karena pada mencit yang diberi makanan 10 % *P. viridicatum* akan mengalami derajat mortalitas lebih dari 50 % dalam jangka waktu 3 minggu. Sedangkan gerbil pada penelitian ini tidak ada yang mati setelah diberi makan *P. viridicatum* dengan kadar yang sama selama 11 minggu.

Mikotoksin lain, seperti aflatoxin dan citrinin telah dilaporkan sebagai bahan yang bersifat nefrotoksik (KINOSITA dan SHIKATA, 1964, NEWBERNE dkk, 1964), akan tetapi keracunan mikotoksin pada penelitian gerbil dapat dibedakan dari aflatoxicosis atau keracunan citrinin. Karena pada yang akhir ini tidak ditemukan pendarahan dan nekrosa pada jaringan perirenal. Di samping itu, mikotoksin dari strain *P. viridicatum* yang digunakan dalam penelitian ini belum diketahui apa zatnya. Mikotoksinnya terkandung di dalam mycelia dan sporanya dan bukan di dalam media biakannya (BUDIARSO dkk., 1969). Juga pada pemeriksaan analisa secara kromatografi, bahwa biakan *P. viridicatum* tidak mengandung aflatoxin (MISLIVEC dkk. 1968).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Dr.D.T. Denis, Ketua U.S. Naval Medical Research Unit, Detachment-2, Jakarta, yang telah menyumbangkan hewan gerbil yang digunakan untuk penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

1. Budiarmo, I.T., Carlton, W. W. and Tuite, J.: Hepatorenal damage in mice induced by *Penicillium viridicatum* cultures, mycelia, and chloroform extracts. Fed. Proc. 28 : 304. (1969).
2. Budiarmo, I.T., Carlton, W.W and Tuite J.: Phototoxic syndrome induced in mice by rice cultures of *Penicillium viridicatum* and exposure to sunlight. Path, Vet. 7 : 531-546 (1970).

3. ----- Investigation of some cultural conditions on toxigenicity of *Penicillium viridicatum*. Toxicol. Appl. Pharm. 20 : 194 - 205 (1971 a).
4. -----: Investigation of dose, age, and duration of administration on the hepatorenal damage induced in mice by cultural products of *Penicillium viridicatum*. Toxicol. Appl. Pharm. 20 : 357 - 379 (1971 b).
5. Budiarso, I.T., Damhuri, A., Hernomoadi dan Rumawas, W. Mikotoksikosis pada ayam kutuk disebabkan oleh *Penicillium viridicatum*. Hemera Zoa. 69 : 22-28 (1976).
6. Budiarso, I.T.: Aplastic anemia in animals induced by *Penicillium virididatum* cultures and mycelia. Paper presented at the Third Meeting of the Asian-Pacific Division of the International Society of Haematology, Jakarta, 8 - 12 June, 1975.
7. Budiarso, I.T. Mikotoksikosis dan mikokarsinogenesis pada hewan dan manusia. Medika No. 9, th. 4, 377 - 383 (1978 a).
8. -----: Percobaan penyakit hati menahun pada mencit yang disebabkan mikotoksin *Penicillium viridicatum*. Kumpulan Naskah Ilmiah Simposium Nasional Penyakit Hati Menahun. Ed. Pang, R.T.L., Sjafoellah Noer, H. dan Sulaiman, H. A. Hal. 87 - 93 (1978 b).
9. Carlton, W.W. and Tuite, J. : Mycotoxicosis induced in guinea pigs and rats by corn cultures of *Penicillium viridicatum*. Toxicol. Appl. Pharm. 16, 345 - 361 (1970a).
10. -----: Nephropathy and edema syndrome induced in miniature swine by corn cultures of *Penicillium viridicatum*. Path. Vet. 7: 68 - 80 (1970 b).
11. Carlton, W.W., Tuite, J. and Mislivec, P. Investigations of the toxic effects in mice of certain species of *Penicillium*. Toxicol. Appl. Pharm. 13 : 372 - 387 (1968).
12. -----: Pathology of the toxicosis produced in mice by cultures of *Penicillium viridicatum*. Proc. 1st U.S. - Japan Conf on Toxic Microorganisms, Honolulu, Hawaii, Hal. 94 (1970).
13. Elling, F. and Moller, T.: Mycotoxic nephropathy in pigs. Bull. World Health Organ. 49 : 411 - 418 (1973).
14. Friis, P., Hasselager, E. and Krogh, P. Isolation of citrinin and oxalic acid from *Penicillium viridicatum* Westling and their nephrotoxicity in rats and pigs. Acta Path. Microbiol. Scand. 77 : 559 - 560 (1969).
15. Krogh, P. and Hasselager S. Studies on fungal nephrotoxicity. Hal. 198 - 214. Year book, Royal Vet. and Agri. College. Copenhagen, Denmark (1968).
16. Krogh, P., Hasselager, L. and Friis, P.: Studies on fungal nephrotoxicity. Acta. Pathol. Scand. 78 : 401 - 413 (1970).
17. Kurosita, R. and Shikata, T. On toxic moldy rice. In Wogan, G.N., Mycotoxins in Foodstuffs. pp. 111-132, MIT. Press Cambridge, Mass. (1964).
18. Mislivec, P., Hunter, J.H., and Tuite, J.: Assay for aflatoxin production by the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. Appl. Microbiol. 16 : 1053 - 1055 (1968).
19. Newberne, P.M., Carlton, W.W. and Wogan, G.N.. Hepatoma in rats and hepatorenal injury in duckling fed peanut meal or *Aspergillus flavus* extract. Path. Vet. 1 : 105 - 132 (1964).
20. Pang, R.T.L. Poerwokoesoemo, S.K. and Karyadi, D.: Aflatoxin and primary cancer of liver in man. A study on 9 cases. Paper presented at the 4th Asian Pacific Congress of Gastroenterology. 5-12 February 1972.
21. Pang, R.T.L., Musaini and Karyadi, D.: Aflatoxin and primary hepatic cancer in Indonesia. Paper presented at the 5th. World Congress of Gastroenterology. Mexico 13 - 14 October 1974.
22. Pang, R.T.L. : Aflatoxin dalam epidemiologi karsinoma hati primer. Kertas kerja yang dibacakan pada Simposium Nasional Kanker Saiuran Makanan, Jakarta, 24 - 26 Nopember 1977
23. Pang, R.T.L. : The role of aflatoxin in primary liver cancer. Paper presented at the 3rd Asian Cancer Conference, September 26 - 30, 1977; Manila, Philippines.