

## **PENGARUH PAPARAN INHALASI PUPUK NANOSILIKA DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN LIMPA TIKUS WISTAR JANTAN**

Amalia Rizky Widowati<sup>1</sup>, Ika Pawitra Miranti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Pendidikan S-1 Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staf Pengajar Ilmu Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Pupuk nanosilika yang terinhalasi dapat beredar di dalam sirkulasi darah kemudian terakumulasi pada organ limpa melalui proses fagositosis, dan memicu respon inflamasi yang ditandai dengan pelebaran diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis.

**Tujuan :** Membuktikan adanya pengaruh paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat terhadap gambaran histopatologi organ limpa tikus *Wistar* jantan. **Metode penelitian :** Penelitian menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Objek penelitian yaitu tikus *Wistar* jantan yang diberikan paparan inhalasi dengan aquades untuk kelompok kontrol, dan pupuk nanosilika pada kelompok 1 (7ml/L), kelompok 2 (35ml/L), kelompok 3 (175 ml/L) untuk kelompok perlakuan sebanyak dua kali sehari selama 14 hari. Pemeriksaan histopatologi dengan pengukuran diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100 kali dan *micrometer*, diukur 5 folikel kemudian dirata-rata. **Hasil :** Rerata pelebaran diameter pulpa putih terbesar pada kelompok 1 ( $32,79 \pm 3,63 \mu\text{m}$ ), diikuti kelompok 3 ( $31,48 \pm 2,90 \mu\text{m}$ ), kelompok kontrol ( $30,30 \pm 3,71 \mu\text{m}$ ) serta kelompok 2 ( $28,76 \pm 3,92 \mu\text{m}$ ). Rerata pelebaran jarak zona marginalis terbesar pada kelompok 3 ( $11,72 \pm 0,88 \mu\text{m}$ ) diikuti kelompok 1 ( $10,90 \pm 1,93 \mu\text{m}$ ), kontrol ( $9,12 \pm 2,64$ ) serta kelompok 2 sebesar ( $8,96 \pm 1,59 \mu\text{m}$ ). Uji One Way Anova didapatkan perbedaan tidak bermakna pada pelebaran diameter pulpa putih antar kelompok ( $p = 0,356$ ) dan pada pelebaran zona marginalis antar kelompok ( $p=0,087$ ) **Kesimpulan :** Paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat tidak berpengaruh terhadap pelebaran diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis limpa tikus *Wistar* jantan

**Kata Kunci:** Nanosilika, Diameter Pulpa Putih, Jarak Zona Marginalis

### **ABSTRACT**

#### **THE EFFECT OF INHALED NANOSILICA FERTILIZER MULTILEVEL DOSE ON SPLEEN HISTOPATHOLOGY OF MALE WISTAR RAT**

**Background:** Inhalation can cause nanosilic fertilizers circulate in the blood circulation and then accumulate in the spleen by involving phagocytosis, thus triggering an inflammatory response is characterized by widening the white pulp diameter and distance of the marginal zone. **Objective:** To prove the effect of inhaled nanosilica fertilizer multilevel doses on spleen histopathology of male Wistar Rat **Methods:** This study used a Post Test Only Control Group design. The object of this research is a male Wistar rat was given inhaled aquades for control group and was given inhaled nanosilica fertilizer for group 1 (7ml/L), group 2 (35ml/L), group 3 (175 ml/L) for treatment group, twice a day for 14 days. Histopathological examination by measuring white pulp diameter and distance of the marginal zone using a light microscope with a magnification of 100x and micrometer, measured 5 follicles then averaged. **Results:** The averaged widening of the largest white

pulp diameter in group 1 (7ml / L) is  $32.79 \pm 3.63$ , followed by group 3 (175ml / L) is  $31.48 \pm 2.90$   $\mu\text{m}$ , control group is  $30.30 \pm 3.71$   $\mu\text{m}$  and group 2 (35ml / L) is  $28.76 \pm 3.92$   $\mu\text{m}$ , the averaged widening distance of the largest marginal zone in group 3 (175ml / L) is  $11.72 \pm 0.88$   $\mu\text{m}$ . followed by group 1 (7ml / L) is  $10.90 \pm 1.93$   $\mu\text{m}$ , control is  $9.12 \pm 2.64$   $\mu\text{m}$  and group 2 (35ml / L) is  $8.96 \pm 1.59$   $\mu\text{m}$ . One Way ANOVA test found no significant difference in the widening of the white pulp diameter between groups ( $p = 0.356$ ) and in the widening of the marginal zone between groups ( $p = 0.087$ ). **Conclusion:** There is no effect of multilevel doses of nanosilic fertilizer inhalation on the white pulp diameter and the distance of the marginal zone of the male Wistar rat's spleen.

**Keywords:** Nanosilica, White pulp diameter, Marginal zone

## PENDAHULUAN

Nanosilika merupakan salah satu aplikasi dari nanomaterial dalam bentuk nanopartikel (<100 nm) dari silika dioksida ( $\text{SiO}_2$ ).<sup>1</sup> Nanosilika banyak digunakan dalam berbagai bidang industri seperti kosmetik, pembawa obat, bahan tambahan makanan, pernis, toner printer dan peralatan biomedik.<sup>2</sup> Pupuk nanosilika merupakan salah satu penerapan dari teknologi nanosilika dibidang pertanian yang dinilai mampu memperbaiki sifat fisika, kimia dan biologi tanah serta mampu meningkatkan produksi dan kualitas produk tanaman uji.<sup>3</sup>

Ukuran yang sangat kecil menyebabkan nanopartikel dapat masuk ke dalam tubuh melalui beberapa rute seperti peroral, intrakutan, intravena, dan inhalasi sehingga nanosilika berpotensi untuk bersifat toksik pada tubuh.<sup>4</sup> Pada paparan inhalasi, akumulasi nanosilika terlihat mengelompok pada pulpa merah limpa.<sup>5</sup>

Hal ini menunjukkan nanopartikel dapat terakumulasi pada hepar, limpa, dan paru melalui *mononuclear phagocytic system* atau dikenal dengan *reticuloendotelial system* (RES).<sup>6</sup>

Penelitian nanosilika pada saat ini lebih terfokus pada paru dan hepar, sedangkan penelitian mengenai respon imun yang ditimbulkan oleh nanosilika belum banyak diteliti.<sup>7</sup> Limpa merupakan salah satu organ RES yang berperan penting dalam sistem imun dan sensitif terhadap paparan xenobiotik.<sup>2</sup> Ditemukannya akumulasi nanosilika di limpa menunjukkan nanosilika dapat beredar di dalam sirkulasi darah, dan selanjutnya mencapai organ target yaitu limpa kemudian ditangkap oleh sistem retikuloendotelial yang melibatkan makrofag untuk proses fagositosis sehingga menimbulkan respon inflamasi.<sup>6,8</sup>

Pupuk nanosilika dalam penelitian ini berbahan dasar nanosilika jenis koloid.

Penelitian *in vitro* oleh Lee *et.al*, pada tahun 2011 menunjukkan bahwa nanosilika koloid bersifat sangat toksik terhadap makrofag dan menyebabkan apoptosis sel dibanding nanosilika mesoporus. Sebaliknya, pemberian nanosilika koloid secara *in vivo* dengan injeksi intraperitoneal oleh Lee *et.al*, pada tahun 2014, gambaran pulpa putih cenderung berdifusi satu sama lain, tidak terdapat adanya pelebaran pulpa merah dan peningkatan makrofag tidak cukup jelas meskipun terjadi sedikit peningkatan jumlah populasi limfosit B dan limfosit T. Hasil penelitian *in vivo* ini menunjukkan ketidaksesuaian dengan uji *in vitro* yang dilakukan sebelumnya.

Meskipun terdapat perbedaan, perlu dipertimbangkan bahwa sulit membandingkan data secara *in vitro* dan *in vivo* mengingat perbedaan rute pemberian, jumlah dosis, serta jenis sel yang digunakan dapat mempengaruhi hasil penelitian.<sup>2</sup>

Dengan pemanfaatan nanopartikel yang cukup banyak dan berpotensi untuk digunakan secara masif, namun sampai saat ini belum terdapat penelitian yang membahas mengenai efek paparan pupuk nanosilika terhadap kesehatan dan

pengaruhnya pada organ limpa sebagai salah satu organ RES, sehingga penting melakukan penelitian mengenai efek paparan inhalasi pada organ limpa yang terfokus pada gambaran histopatologi limpa tikus *Wistar* jantan meliputi pengukuran pada diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis limpa. Pelebaran pulpa putih menunjukkan adanya aktifitas sistem imun dan proliferasi sel pulpa putih sebagai akibat antigen asing yang masuk dan pelebaran jarak zona marginalis menunjukkan antigen merangsang sel-sel fagosit untuk berinteraksi dengan antigen sehingga dapat menyebabkan pembesaran limpa.<sup>9,10</sup>

## **METODE**

Jenis penelitian yang dipilih adalah *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design* pada hewan coba tikus *Wistar* jantan dengan jumlah sampel sebanyak 24 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3 dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus (Tabel 1).

Pemilihan sampel penelitian sesuai dengan metode *simple random sampling* dengan memperhatikan umur tikus 7-9

bulan, dan berat badan tikus 250-300 gram.

Sebelum dilakukan perlakuan, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian pakan dan minum standar secara *ad libitum*. Perlakuan penyemprotan pupuk

nanosilika dilakukan setiap dua kali sehari selama 14 hari dengan selang waktu kurang lebih 12 jam. Pupuk nanosilika yang digunakan dalam penelitian ini adalah pupuk “DIPONE Nanosilika” yang diproduksi oleh CV. Dipon Indonesia.

**Tabel 1.** Pembagian kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

| Kelompok | Perlakuan                                                                                                                                                                                                          |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| K        | Kelompok kontrol. Tikus <i>Wistar</i> jantan diberi pakan standar secara <i>ad libitum</i> , disemprotkan akuades 2 kali sehari selama 14 hari untuk menghasilkan stres yang sama dengan 3 kelompok perlakuan lain |
| P1       | Kelompok perlakuan 1. Tikus <i>Wistar</i> jantan diberi pakan secara <i>ad libitum</i> , disemprotkan pupuk nanosilika yang dicampur air dengan konsentrasi 7 ml/L 2 kali sehari selama 14 hari.                   |
| P2       | Kelompok perlakuan 2. Tikus <i>Wistar</i> jantan diberi pakan secara <i>ad libitum</i> , disemprotkan pupuk nanosilika yang dicampur air dengan konsentrasi 35 ml/L 2 kali sehari selama 14 hari.                  |
| P3       | Kelompok perlakuan 3. Tikus <i>Wistar</i> jantan diberi pakan secara <i>ad libitum</i> , disemprotkan pupuk nanosilika yang dicampur air dengan konsentrasi 175 ml/L 2 kali sehari selama 14 hari.                 |

Terminasi dilakukan pada hari ke-15 penelitian dengan menggunakan anestesi *ethyl alcohol* dan dilanjutkan dekapitasi kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan organ limpa tikus *Wistar* jantan serta dilakukan pembuatan preparat histologi dengan metode blok parafin dan pengecatan Hematoxylin Eosin (HE). Penelitian dilanjutkan dengan pembacaan preparat

histologi dan dilakukan analisis data pada 5 preparat pada setiap kelompok sesuai kriteria WHO.

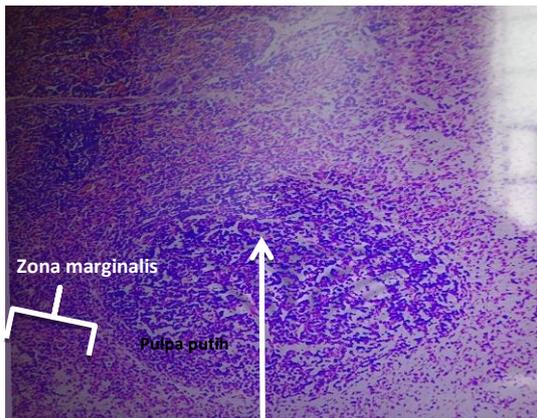
### **Pengamatan Pelebaran Diameter Pulpa Putih dan Jarak Zona Marginalis pada Organ Limpa**

Data penelitian diperoleh dari hasil pemeriksaan histopatologi organ limpa tikus *Wistar* jantan dengan mikroskop cahaya medan terang pada perbesaran 100 kali

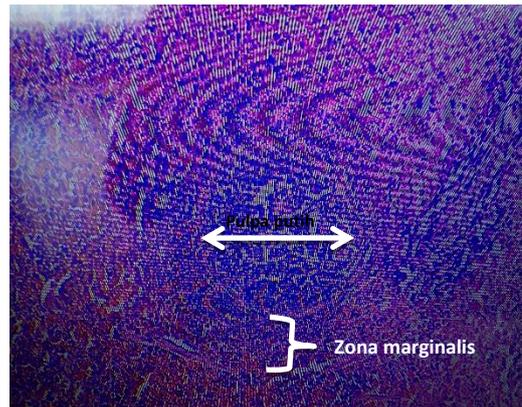
(Gambar 1). Kemudian dilakukan pengukuran diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis pada masing – masing preparat dalam setiap kelompok dengan

menggunakan *micrometer* diukur pada 5 folikel kemudian diambil rata-rata dari hasil pengukuran.

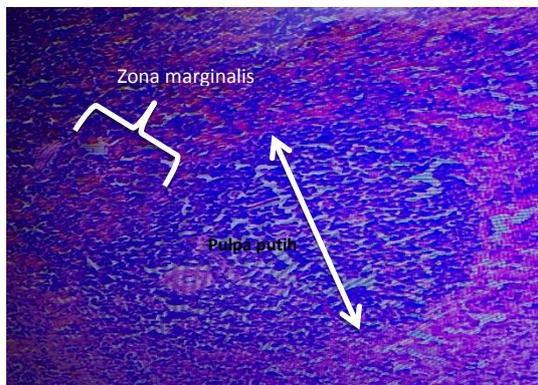
### Hasil Pengamatan Histopatologi Organ Limpa



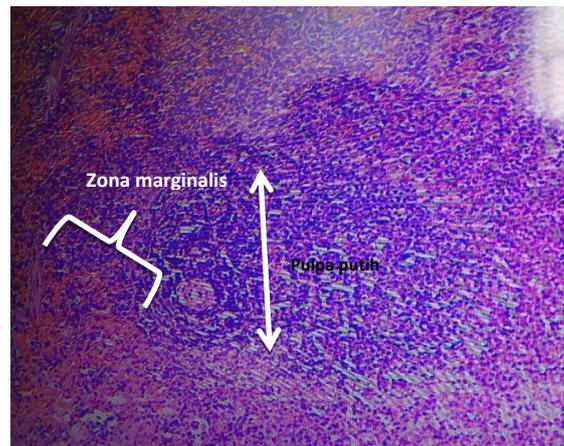
Kelompok Kontrol



Kelompok Perlakuan 1 (7 ml/L)



Perlakuan 35 ml/L



Perlakuan 175ml/L

**Gambar 1.** Hasil pemeriksaan histopatologi Organ Limpa Tikus *Wistar* Jantan.

Dilihat pada kelompok Kontrol, yang dipapar dengan aquades dan pada paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat dengan dosis 7ml/L, 35 ml/L, dan 175 ml/L. Pelebaran diameter pulpa

putih diukur pada 5 folikel berbentuk bulat, serta jarak zona marginalis diukur dari tepi luar folikel pulpa putih sampai perbatasan dengan pulpa merah.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh diolah dengan program statistik dan dianalisis dengan uji normalitas *Saphiro-Wilk*. Didapatkan data terdistribusi normal sehingga dilanjutkan

dengan uji *One Way ANOVA*. Uji hipotesis dikatakan bermakna bila  $p < 0,05$ .

**HASIL**

**Pelebaran Diameter Pulpa Putih Organ Limpa Tikus *Wistar Jantan***

**Tabel 2.** Hasil Analisis Deskriptif Pelebaran Diameter Pulpa Putih Organ Limpa Tikus *Wistar Jantan* pada kelompok Kontrol, Perlakuan 1 (7ml/L), Perlakuan 2 (35ml/L), Perlakuan 3 (175ml/L).

| Kelompok              | Diameter Pulpa Putih (µm) |    |    |    |    | Mean ± SD |            |
|-----------------------|---------------------------|----|----|----|----|-----------|------------|
|                       | 1                         | 2  | 3  | 4  | 5  |           |            |
| Kontrol               | 1                         | 30 | 21 | 35 | 30 | 21        |            |
|                       | 2                         | 40 | 37 | 30 | 35 | 30        |            |
|                       | 3                         | 22 | 32 | 22 | 33 | 32        | 30,30±3,71 |
|                       | 4                         | 32 | 34 | 42 | 35 | 40        |            |
|                       | 5                         | 25 | 30 | 25 | 40 | 33        |            |
| Perlakuan 1 (7 ml/L)  | 1                         | 28 | 31 | 28 | 29 | 29        |            |
|                       | 2                         | 46 | 38 | 29 | 30 | 36        |            |
|                       | 3                         | 49 | 35 | 30 | 35 | 38        | 32,79±3,63 |
|                       | 4                         | 31 | 30 | 39 | 30 | 21        |            |
|                       | 5                         | 35 | 30 | 38 | 25 | 30        |            |
| Perlakuan 2 (35 ml/L) | 1                         | 26 | 30 | 25 | 30 | 30        |            |
|                       | 2                         | 23 | 23 | 40 | 36 | 38        |            |
|                       | 3                         | 33 | 40 | 38 | 26 | 30        | 28,76±3,92 |
|                       | 4                         | 28 | 19 | 34 | 25 | 25        |            |
|                       | 5                         | 24 | 29 | 15 | 21 | 31        |            |
| Perlakuan 3 (175ml/L) | 1                         | 30 | 32 | 38 | 28 | 32        |            |
|                       | 2                         | 33 | 45 | 34 | 34 | 34        |            |
|                       | 3                         | 32 | 30 | 32 | 30 | 32        | 31,48±2,90 |
|                       | 4                         | 30 | 18 | 30 | 35 | 37        |            |
|                       | 5                         | 28 | 32 | 30 | 19 | 32        |            |

Berdasarkan data pada Tabel 2, rerata tertinggi pelebaran diameter pulpa

putih organ limpa tikus *Wistar jantan* dibanding kontrol terdapat pada kelompok

perlakuan 1 (7 ml/L) yaitu sebesar  $32,79 \pm 3,63 \mu\text{m}$ , kemudian pelebaran terbesar kedua terdapat pada kelompok perlakuan 3 (175 ml/L) yaitu sebesar  $31,48 \pm 2,90 \mu\text{m}$ , sedangkan rerata terendah dari pelebaran diameter pulpa putih terdapat pada kelompok yang diberikan perlakuan secara inhalasi pupuk nanosilika dengan konsentrasi 35 ml/L yaitu sebesar  $28,76 \pm 3,92 \mu\text{m}$ .

Hasil uji *One Way* ANOVA didapatkan  $p = 0,356$  sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan tidak bermakna antar pelebaran diameter pulpa putih pada populasi penelitian antar kelompok.

**Pelebaran Jarak Zona Marginalis Organ Limpa Tikus *Wistar* Jantan**

**Tabel 3.** Hasil Analisis Pelebaran Jarak Zona Marginalis Organ Limpa Tikus *Wistar* Jantan pada kelompok Kontrol, Perlakuan 1 (7ml/L), Perlakuan 2 (35ml/L), Perlakuan 3 (175ml/L)

| Kelompok              | Jarak Zona Marginalis ( $\mu\text{m}$ ) |    |    |    |    | Mean $\pm$ SD    |
|-----------------------|-----------------------------------------|----|----|----|----|------------------|
|                       | 1                                       | 2  | 3  | 4  | 5  |                  |
| Kontrol               | 1                                       | 12 | 8  | 12 | 10 | 9,12 $\pm$ 2,64  |
|                       | 2                                       | 10 | 6  | 8  | 5  |                  |
|                       | 3                                       | 13 | 12 | 16 | 10 |                  |
|                       | 4                                       | 5  | 4  | 5  | 5  |                  |
|                       | 5                                       | 9  | 10 | 10 | 7  |                  |
| Perlakuan 1 (7 ml/L)  | 1                                       | 9  | 9  | 12 | 18 | 10,90 $\pm$ 1,93 |
|                       | 2                                       | 9  | 12 | 9  | 10 |                  |
|                       | 3                                       | 20 | 9  | 15 | 12 |                  |
|                       | 4                                       | 12 | 7  | 10 | 4  |                  |
|                       | 5                                       | 12 | 10 | 12 | 8  |                  |
| Perlakuan 2 (35 ml/L) | 1                                       | 8  | 6  | 5  | 8  | 8,96 $\pm$ 1,59  |
|                       | 2                                       | 5  | 8  | 10 | 11 |                  |
|                       | 3                                       | 11 | 10 | 14 | 9  |                  |
|                       | 4                                       | 8  | 13 | 8  | 10 |                  |
|                       | 5                                       | 5  | 10 | 8  | 9  |                  |
| Perlakuan 3 (175ml/L) | 1                                       | 12 | 9  | 16 | 12 | 11,72 $\pm$ 0,88 |
|                       | 2                                       | 12 | 18 | 10 | 14 |                  |

|   |    |    |    |    |    |
|---|----|----|----|----|----|
| 3 | 10 | 12 | 12 | 10 | 10 |
| 4 | 12 | 12 | 12 | 13 | 11 |
| 5 | 12 | 12 | 8  | 10 | 12 |

Berdasarkan data pada Tabel 3, rerata tertinggi pelebaran jarak zona marginalis organ limpa tikus Wistar jantan terdapat pada kelompok perlakuan 3 yang diberikan paparan secara inhalasi dengan konsentrasi 175 ml/L yaitu sebesar  $11,72 \pm 0,88 \mu\text{m}$ , kemudian pelebaran jarak zona marginalis terbesar kedua terdapat pada kelompok 1 (7ml/L) yaitu sebesar  $10,90 \pm 1,93 \mu\text{m}$ . Sedangkan rerata terendah jarak zona marginalis terdapat pada kelompok 2 (35 ml/L) yaitu sebesar  $8,96 \pm 1,59 \mu\text{m}$ .

Hasil uji *One Way ANOVA* diperoleh  $p = 0,087$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tidak signifikan antar pelebaran jarak zona marginalis pada populasi penelitian antar kelompok.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh Paparan Inhalasi Pupuk Nanosilika terhadap Pelebaran Diameter Pulpa Putih dan Jarak Zona Marginalis Organ Limpa Tikus Wistar Jantan

Berdasarkan analisis hasil statistik

dari data pelebaran diameter pulpa putih dan pelebaran jarak zona marginalis pada organ limpa tikus *Wistar* jantan yang diberikan paparan secara inhalasi pupuk nanosilika pada kelompok 1 (7ml/L) kelompok 2 (35ml/L), kelompok 3 (175ml/L), ditemukan perbedaan tidak bermakna pada seluruh kelompok. Hal ini sejalan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lee *et.al* tahun 2013, pada penelitiannya yang bertujuan untuk mengetahui perubahan struktur pori nanopartikel dapat berpengaruh terhadap respon biologi akibat reaktivitasnya, menyatakan bahwa pemberian nanosilika koloid secara *in vivo* pada injeksi intraperitoneal selama 4 minggu (5 hari/minggu), gambaran pulpa putih cenderung berdifusi satu sama lain, tidak terdapat adanya pelebaran pulpa merah dan peningkatan makrofag tidak cukup jelas apabila dibanding dengan nanosilika mesoporus dengan luas permukaan yang lebih besar menimbulkan kerusakan terhadap fungsi sistem imun dan menyebabkan disregulasi dari limpa.<sup>2</sup> Nanosilika koloid merupakan jenis

nanosilika yang terkandung di dalam pupuk yang diteliti dalam penelitian ini.

Sifat fisikokimia nanosilika koloid yang berperan terhadap kemampuan toksiknya adalah luas permukaan nanopartikel.<sup>11</sup> Permukaan nanopartikel yang lebih luas menyebabkan peningkatan reaktifitas dan ROS serta terjadi peningkatan reaksi oksidasi dan kerusakan DNA.<sup>11</sup> Sehingga nanosilika koloid dengan luas permukaan yang lebih rendah karena tidak memiliki pori, toksisitasnya cenderung lebih rendah, dibanding dengan nanopartikel dengan luas permukaan yang lebih tinggi terhadap sistem imun.<sup>2,12</sup>

Selain itu, nanosilika koloid memiliki bentuk bulat pempat dan terdispersi di dalam air. Seringkali partikel tetap pada kondisi terdispersi namun terdapat kemungkinan terjadi agregasi sehingga terpisah dari air.<sup>12</sup> Diketahui bahwa semakin kecil partikel, ikatan interpartikel akan semakin kuat dan menghasilkan agregasi yang berlanjut menjadi aglomerasi.<sup>13</sup> Aglomerasi menyebabkan luas permukaan efektif untuk berinteraksi dengan reseptor menjadi berkurang sehingga mengurangi toksisitas dari nanosilika koloid tersebut. Selain itu, aglomerasi menyebabkan ukuran

nanopartikel semakin besar.<sup>12,14</sup>

Meningkatnya ukuran nanopartikel, kemampuan fagositosis dari makrofag zona marginalis akan semakin meningkat sampai ukuran tertentu yang dapat dicapai makrofag sehingga mekanisme *clearance* nanopartikel pada limpa dapat tercapai.<sup>11,15</sup>

### **Pengaruh konsentrasi 7, 35, 175 ml/L terhadap Pelebaran Jarak Zona Marginalis Organ Limpa Tikus *Wistar Jantan***

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa pemberian pupuk nanosilika secara inhalasi antar konsentrasi yaitu 7, 35, 175 ml terdapat perbedaan tidak bermakna.

Pengaruh konsentrasi dapat mempengaruhi toksisitas dari nanosilika, dimana konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya aglomerasi pada nanosilika sehingga makrofag cenderung mudah untuk memfagositosis nanopartikel yang beraglomerasi dibanding dengan nanopartikel yang tidak beraglomerasi yang dinilai mudah lolos dari mekanisme pertahanan.<sup>11</sup>

Hal ini dapat ditunjukkan pada kelompok konsentrasi 175 ml/L yang memiliki pelebaran jarak zona marginalis

lebih tinggi ( $11,72\pm 0,88$ ) dibanding kelompok 7 ml/L ( $10,90\pm 1,93$ ), 35 ml/L ( $8,96\pm 1,59$ ). Akibat semakin besar konsentrasi, nanopartikel semakin mudah mengalami aglomerasi sehingga makrofag lebih mudah untuk melakukan fagositosis sampai batas ukuran tertentu, sehingga apabila makrofag memakan partikel yang lebih kecil atau lebih besar dari kemampuannya maka efektifitas fagositosis akan turun. Apabila makrofag tidak dapat mencerna secara baik, maka makrofag yang hidup ataupun yang mati akan menstimulasi makrofag yang lain untuk membantu.<sup>11</sup> Selain itu apabila aglomerasi mencapai ukuran lebih dari 200 nm, partikel akan cenderung teretensi pada pulpa merah dan akan didegradasi perlahan oleh makrofag, sehingga mekanisme *clearance* menjadi lebih lambat.<sup>15</sup> Hal ini menyebabkan terjadi peningkatan sel-sel fagosit yang ditunjukkan dengan pelebaran jarak zona marginalis.<sup>16</sup>

Hal yang sama juga ditunjukkan pada pelebaran jarak zona marginalis pada konsentrasi 7 ml/L yang dapat dikarenakan nanopartikel tidak mudah mengalami aglomerasi sehingga efek toksiknya lebih tinggi dibanding yang mengalami aglomerasi serta ukuran yang terlalu kecil,

efektifitas makrofag untuk memfagosit menjadi turun.<sup>11</sup>

### **Pengaruh Konsentrasi 7, 35, 175 ml/L terhadap pelebaran diameter pulpa putih tikus *Wistar* jantan**

Berdasarkan data yang didapatkan, rerata diameter pulpa putih tertinggi pada konsentrasi 7 ml/L ( $32,79\pm 3,63$ ) dan dibanding pada kelompok 35 ml ( $28,76\pm 3,92$ ) dan 175 ml ( $31,48\pm 2,90$ ).

Pelebaran pulpa putih terjadi pada kelompok konsentrasi 7 ml/L ( $32,79\pm 3,63$ ). Pada konsentrasi tersebut, nanopartikel tidak mudah mengalami aglomerasi sehingga efek toksiknya menjadi lebih tinggi. Menurut Lee. *et all* tahun 2011, toksisitas dari nanosilika terhadap makrofag menyebabkan apoptosis sel kemudian memunculkan sitokin proinflamasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 yang berperan penting dalam proses inflamasi.<sup>17</sup> Sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-12, IL-6 merupakan sinyal yang dibutuhkan untuk diferensiasi sel T *naïve* dalam mekanisme respon imun adaptif.<sup>18</sup>

Selain itu, pelebaran pulpa putih juga didapatkan pada konsentrasi 175 ml/L ( $31,48\pm 2,90$ ). Nanosilika dengan konsentrasi besar dapat menyebabkan

aglomerasi dan ukuran partikel menjadi lebih besar, ditambah dengan aliran darah yang melambat sewaktu memasuki pulpa putih, menyebabkan terjadinya peningkatan presistensi antigen sehingga memfasilitasi interaksi antara makrofag dan limfosit terhadap antigen.<sup>15</sup> Seperti yang telah disebutkan sebelumnya bahwa makrofag zona marginalis akan menangkap nanopartikel berukuran 15 nm sampai 200 nm, sedangkan partikel lebih besar akan teretensi di pulpa merah dan *clearance* menjadi lebih lambat.<sup>15</sup> Diketahui, akumulasi dari nanopartikel di dalam makrofag menyebabkan makrofag secara aktif mensekresi sitokin proinflamatori IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  yang dapat menyebabkan respon inflamasi akut dan masuk kedalam mekanisme respon imun adaptif.<sup>19</sup>

Sistem imun adaptif sendiri terjadi pada pulpa putih. Pelebaran pulpa putih menunjukkan bahwa terjadi aktivitas sistem imun dan proliferasi sel pada pulpa putih oleh karena antigen.<sup>9</sup> Antigen yang dimaksud dalam penelitian ini adalah nanosilika.

Pada paparan inhalasi nanosilika dengan konsentrasi 35 ml/L pelebaran zona marginalis dan pelebaran diameter pulpa

putih dinilai lebih rendah dibanding dengan 2 konsentrasi yang lain. Hal ini dimungkinkan pada konsentrasi tersebut terjadi aglomerasi yang mempermudah *uptake* makrofag sesuai dengan kemampuan makrofag zona marginalis yaitu 15 nm – 200 nm, sehingga mekanisme *clearance* dapat diselesaikan dengan cepat.<sup>15</sup>

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat tidak berpengaruh terhadap pelebaran diameter pulpa putih dan jarak zona marginalis organ limpa tikus *Wistar* jantan.

### **Saran**

Perlu dilakukan uji karakterisasi dari nanosilika yang terkandung didalam produk guna mengetahui karakteristik sifat fisikokimia yang berhubungan dengan toksisitas dari nanosilika terkait. Selain itu perlu dilakukan penghitungan jumlah sel limfosit dan sel makrofag untuk mengetahui aktivitas proliferasi dan fagositosis dari limpa sebagai akibat dari paparan inhalasi pupuk nanosilika yang terkait dengan fungsi limpa sebagai sistem imunitas tubuh serta perlu dilakukan

pengukuran Immunoglobulin serum (IgG dan IgM) untuk mengetahui respon imun sistemik yang timbul akibat paparan dari nanosilika terhadap sistem imunitas tubuh.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Murugadoss S, Lison D, Godderis L, Van Den Brule S, Mast J, Brassinne F, et al. Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch Toxicol.* 2017;91(9):2967–3010.
2. Lee S, Kim MS, Lee D, Kwon TK, Khang D, Yun HS, et al. The comparative immunotoxicity of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica nanoparticles in mice. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:147–58.
3. Yuliani K, Siswoyo E, Amaliah DA. Pengaruh kombinasi silika dan kitosan berbasis nanoteknologi sebagai bahan dasar pembuatan pupuk nano slow release terhadap penyerapan unsur hara oleh tanamandalam meningkatkan hasil pertanian di indonesia. Available from: <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php>
4. An SSA, Kim Y-R, Lee S-Y, Lee EJ, Park SH, Seong N-W, et al. Toxicity of colloidal silica nanoparticles administered orally for 90 days in rats. *Int J Nanomedicine.* 2014;2014(2):67.
5. Guttenberg M, Bezerra L, Neu-Baker NM, del Pilar Sosa Idelchik M, Elder A, Oberdörster G, et al. Biodistribution of inhaled metal oxide nanoparticles mimicking occupational exposure: a preliminary investigation using enhanced darkfield microscopy. *J Biophotonics.* 2016 Oct;9(10):987–93.
6. Lee JA, Kim MK, Paek HJ, Kim YR, Kim MK, Lee JK, et al. Tissue distribution and excretion kinetics of orally administered silica nanoparticles in rats. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:251–60.
7. An SSA, Kim C-S, Nguyen H-D, Ignacio RM, Kim J-H, Cho H-C, et al. Immunotoxicity of silicone dioxide nanoparticles with different size and electrostatic charge. *Int J Nanomedicine.* 2014;195.
8. Yang M, Jing L, Wang J, Yu Y, Cao L, Zhang L, et al. Macrophages participate in local and systemic inflammation induced by amorphous silica nanoparticles through intratracheal instillation. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:6217–28.
9. Irawan B, Prasetyo A, Yazid N. Gambaran Histopatologik Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi

- Karsinogenesis Kolon dan Induksi Karsinogenesis Kolon plus Diet *Amorphophallus Onchopyllus*. e-prints Undip. 2006;
10. Iszamriach R, Nofariyandi A. Paparan Ultraviolet C Meningkatkan Diameter Pulpa Alba Limpa dan Indeks Mitotik Epidermis Kulit Mencit Ultraviolet C Exposure Increases the White Pulp Diameter of Spleen and Epidermal Mitotic Index of Mice Skin. *J Kedokt Brawijaya*. 2014;28(1):17–21.
  11. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007;2(4):MR17-MR71.
  12. Fruijtier-pölloth C. The toxicological mode of action and the safety of synthetic amorphous silica — A nanostructured material. *Toxicology*. 2012;294(2–3):61–79.
  13. Monteiro-riviere NA. Nanotoxicology Characterization, Dosing and Health Effects. *Occupational Medicine*. New York: Informa Healthcare; 2007. 21-25 p.
  14. Kadir LD. Nano-sized silica particles : Cytotoxicity and cytokine responses in lung cell models involving differentiated THP-1 cells Department of Air Pollution and Noise Division of Environmental Medicine Norwegian Institute of Public Health. 2016.
  15. Cataldi M, Vigliotti C, Mosca T, Cammarota MR, Capone D. Emerging role of the spleen in the pharmacokinetics of monoclonal antibodies, nanoparticles and exosomes. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6).
  16. Prasetyo YW. Pengaruh Pemberian Diet Selulosa Terhadap Gambaran Histopatologik Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi Karsinogenesis Kolon. *Fak Kedokt Univ Diponegoro Semarang*. 2005;
  17. Lee S, Yun HS, Kim SH. The comparative effects of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica on inflammation and apoptosis. *Biomaterials*. 2011;32(35):9434–43.
  18. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology Functions and Disorders of the Immune System*. Fifth edit. Elsevier B.V.; 2016. 52 p.
  19. Luo Y-H, Chang LW, Lin P. Metal-Based Nanoparticles and the Immune System: Activation, Inflammation, and Potential Applications. *Biomed Res Int*. 2015;1–12.