

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

Dewa Ayu Anggi Paramitha<sup>1</sup>, Ika Pawitra Miranti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa 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:** Penggunaan pupuk nanosilika koloid secara luas menyebabkan rumah tangga pertanian Indonesia berisiko terpapar lewat jalur semprot. Pada penelitian sebelumnya, inhalasi nanosilika dapat menyebabkan masalah organ paru dan hepar karena dapat berpindah ke sirkulasi sistemik. Untuk itu, efek toksisitas pupuk nanosilika secara inhalasi penting untuk diuji pada organ hepar pada hewan coba. **Tujuan:** Mengamati pengaruh paparan inhalasi pupuk nanosilika koloid terhadap gambaran histopatologi hepar pada tikus *Wistar* jantan. **Metode:** Penelitian menggunakan desain *Post Test Only Control Group* dengan sampel 24 tikus *Wistar* yang dibagi dalam 4 kelompok yaitu K diberi inhalasi aquades, kelompok perlakuan diberi inhalasi pupuk nanosilika dengan dosis P1 7 ml/L, P2 35 ml/L, dan P3 175 ml/L. Semua kelompok diberi inhalasi 2 kali sehari selama 14 hari. Preparat organ hepar diamati dibawah mikroskop cahaya, jumlah hepatosit degenerasi/nekrosis (sel/LP) dan derajat infiltrasi sel inflamasi porta dinyatakan dengan *modified Knodell score*.<sup>1</sup> Data dianalisis dengan uji *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*. **Hasil:** Jumlah hepatosit degenerasi/nekrosis memiliki perbedaan bermakna ( $p=0,017$ ) antara K [0,00(0,00-0,00)] dengan P1 [3,90(0,00-20,20)] dan P2 [1,70(0,80-8,20)], namun tidak bermakna pada P3 [1,30(0,00-5,60)] dan antar kelompok lainnya. Derajat infiltrasi sel inflamasi memiliki perbedaan bermakna ( $p=0,000$ ). Derajat inflamasi terberat terdapat pada kelompok P2 (23.3% berat) dan teringan pada kelompok kontrol (100% ringan). **Kesimpulan:** Paparan inhalasi pupuk nanosilika pada tikus *Wistar* jantan dapat menyebabkan degenerasi/nekrosis pada hepatosit dan infiltrasi sel inflamasi periporta yang signifikan secara statistik.

**Kata kunci:** Nanosilika, Inhalasi, Hepar, Tikus *Wistar*, Histopatologi, Dosis, Konsentrasi

### **ABSTRACT**

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

**Background:** The use of colloidal nanosilica fertilizers causes Indonesian agricultural households at risk of being exposed through spray routes. In previous studies, nanosilica inhalation can cause lung and hepatic organ problems by moving to the systemic circulation. For this reason, the toxic effect of nanosilica fertilizers by inhalation is important to be tested on liver in experimental animals. **Objective:** Observing the effect of inhaled colloidal nanosilica fertilizer to liver histopathology on male Wistar rats. **Methods:** This study used a *Post Test Only Control Group* design with a sample of 24 Wistar rats divided into 4 groups, control was given inhaled aquades, the treatment group was given inhaled nanosilica fertilizer with a dose of T1 7ml/L, T2 3 ml/L, and T3 175ml /L. All groups were given the inhalation twice a day for 14 days. Liver were taken, then the number of degeneration/necrosis of the periportal hepatocytes (cell/field) and the degree of portal inflammatory cell infiltration (*modified Knodell score*) was observed under the microscope. Data were analyzed by

Kruskall-Wallis test and continued with Mann-Whitney test. **Results:** The number of hepatocyte degeneration/necrosis has a significant difference ( $p=0.017$ ) between control [0.00(0.00-0.00)] with T1 [3.90(0.00-20.20)] and T2 [1.70(0.80-8.20)], but not significant at T3 [1.30(0.00-5.60)] and between other groups. The degree of inflammatory cell infiltration has a significant difference ( $p = 0,000$ ). The heaviest degree of inflammation was in the T2 group (23.3% severe) and the mildest in the control group (100% mild). **Conclusion:** Nanosilica fertilizer inhalation exposure in male Wistar rats can cause hepatocyte degeneration/necrosis and periportal inflammatory cell infiltration.

**Keywords:** Nanosilica, Inhalation, Liver, Wistar Rat, Histopathology, Dose, Concentration

## PENDAHULUAN

Pupuk Nanosilika merupakan salah satu produk nanoteknologi baru di Indonesia yang sudah dijual secara bebas dan digunakan oleh petani Indonesia. Penggunaan pupuk silika menjadi signifikan dan berpotensi akan digunakan secara luas oleh petani Indonesia karena silika merupakan unsur hara yang sangat penting dalam mencegah kerobohan tanaman, khususnya tanaman golongan *Gramineae* (padi, jagung, tebu). Partikel berukuran nano meningkatkan efektivitas penyerapan unsur silika tanaman dengan masuk secara langsung ke dalam stomata pada daun dan dapat diserap dengan mudah oleh membran sel - sel daun dengan teknik penyemprotan sederhana.<sup>2</sup> Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) Indonesia, sampai tahun 2015, dari total 13 juta hektar lahan pertanian di Indonesia, sekitar 9,4 juta hektar berupa tanaman padi dan 2,2 juta hektar merupakan tanaman jagung atau sekitar 89,2% dari total lahan pertanian di Indonesia. Jumlah produksi

padi dan jagung juga terus meningkat, yaitu 84,8 juta ton pada 2010 dan meningkat hingga menjadi 95 juta ton pada tahun 2015.<sup>3,4</sup> Apabila penggunaan pupuk nanosilika koloid (NSK) ini terus mengalami peningkatan, sekitar 25,8 juta rumah tangga pertanian Indonesia berisiko sangat besar terkena paparan pupuk nanosilika koloid ini.<sup>4</sup> Menurut *Workplace Safety and Health Institute, Fatality Occupational Injury Rates* per 100.000 pekerja bidang agrikultural dinyatakan meningkat secara signifikan pada tahun 2010-2014 dari 24 menjadi 27,5 khususnya di wilayah Asia Tenggara.<sup>5</sup>

Penelitian *in vitro* menunjukkan nanosilika dapat dengan mudah masuk ke dalam jaringan, menembus membran sel, DNA, dan mitokondria sehingga bersifat sitotoksik.<sup>6-9</sup> Nanopartikel dapat mengganggu aktivitas sel lewat mekanisme stress oksidatif yaitu produksi berlebihan *reactive oxygen species* (ROS) dan pengaktifan gen pro-inflamasi pada sel.<sup>7,10,11</sup> Percobaan *in vivo* menunjukkan

bahwa inhalasi nanosilika amorf tidak hanya berefek di organ paru, namun juga pada hepar, ginjal, otak, testis, jantung, dan limpa melalui sistem sirkulasi darah.<sup>8</sup> Hal ini memungkinkan dengan mekanisme translokasi ekstrapulmoner nanopartikel dari alveolus masuk ke dalam pembuluh darah.<sup>12,13</sup> Selanjutnya, beberapa studi hepatotoksitas, menyatakan bahwa hepar merupakan salah satu organ target utama biodistribusi nanomaterial pada tubuh.<sup>8,14</sup>

Mengingat produk pupuk nanosilika koloid ini sudah dipasarkan di masyarakat, efek toksisitas pupuk nanosilika koloid (NSK) secara inhalasi pada organ hepar menjadi penting untuk diuji secara *in vivo* yaitu dengan menggunakan tikus *Wistar* sebagai hewan coba untuk keamanan penggunaan ke depannya.

## METODE PENELITIAN

### Sampel dan Perlakuan

Penelitian ini menggunakan bentuk penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post-Test Only Control Group Design* yang menggunakan 24 ekor tikus *Wistar* jantan sebagai objek penelitian. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Hewan coba terbagi menjadi 4 kelompok dengan *simple random sampling* yaitu kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 1)

dimana masing – masing kelompok berjumlah 6 ekor hewan coba dengan kriteria :

- Kriteria inklusi : (1) Tikus wistar jantan, (2) Umur 7-9 bulan, dan (3) Berat 250-300 gram
- Kriteria eksklusi : Tikus memiliki kecacatan anatomis.
- Kriteria *drop out*: Tikus mati selama aklimatisasi atau penelitian.

**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

---

*Wistar* jantan diberi pakan secara *ad libitum*, disemprotkan pupuk nanosilika yang dicampur air dengan konsentrasi 175 ml/L 2 kali sehari selama 14 hari.

---

Sebelum diberi perlakuan, seluruh tikus *wistar* diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan dikandangkan dan diberi makan standar dan minum yang sama secara *ad libitum*. Setelah itu, masing – masing kelompok tikus diberikan perlakuan sesuai dengan yang disebutkan diatas selama 14 hari. Pupuk yang digunakan adalah pupuk “DIPONE Nanosilika”. Pada hari ke-15, terminasi dilakukan dengan anastesi etil alkohol dilanjutkan dengan cara dislokasi servikal. Organ hepar kemudian diambil dan dibuat preparat dengan pengecatan HE. Preparat diamati dengan mikroskop cahaya di Laboratorium Patologi Anatomi dan dilakukan penghitungan jumlah sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis pada daerah periporta dan derajat infiltrasi sel inflamasi pada daerah porta. Data kemudian diolah dan dianalisis.

**Pengamatan Jumlah Sel Degenerasi/Nekrosis dan Derajat Infiltrasi Sel Inflamasi pada Organ Hepar**

Dari setiap tikus dibuat dua preparat jaringan hepar dan tiap preparat dibaca dalam 5 lapang pandang daerah periporta dengan perbesaran awal 100x dan dilanjutkan dengan perbesaran 400x. Penghitungan jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi dan/atau nekrosis dan derajat infiltrasi sel inflamasi dilakukan dengan perbesaran 400x. Jumlah sel degenerasi/nekrosis dinyatakan dalam sel/LP dan derajat infiltrasi sel inflamasi dinyatakan dengan sistem skoring menggunakan *modified Knodell Score*.<sup>1</sup>

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh diolah dengan program statistik dan dianalisis dengan uji normalitas *Saphiro-Wilk*. Didapatkan data terdistribusi tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji hipotesis *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Uji hipotesis dikatakan bermakna bila  $p < 0.05$ .

### **HASIL PENELITIAN**

#### **Jumlah Sel Degerasi/Nekrosis**

Pada uji normalitas didapatkan bahwa pada perlakuan P1 dan P2 nilai  $p < 0,05$ , yang berarti data terdistribusi tidak normal. Sesuai tabel 2, Nilai median tertinggi didapatkan padaa kelompok P1 yaitu 3,90 (0,00-20,20) dan nilai media terendah didapatkan pada kelompok

kontrol yaitu 0,00 (0,00-0,00). Uji hipotesis dilakukan dengan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai  $p=0,017$  yang

berarti signifikan ( $p<0,05$ ), sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

**Tabel 2.** Hasil Analisis Deskriptif Jumlah Sel Hepar Degenerasi dan Nekrosis

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median (Min-Max)	p <sup>¶</sup>
Kontrol	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	
Perlakuan 1 (7 ml)	5,77 $\pm$ 7,46	3,90 (0,00-20,20)	0,017*
Perlakuan 2 (35 ml)	2,83 $\pm$ 2,78	1,70 (0,80-8,20)	
Perlakuan 3 (175 ml)	1,93 $\pm$ 2,33	1,30 (0,00-5,60)	

Keterangan : \* Signifikan; <sup>¶</sup> Kruskal Wallis

Berdasarkan Uji Mann-Whitney pada tabel 4, ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 ( $p=0,007$ ) dan antara

kelompok kontrol dengan perlakuan 2 ( $p=0,002$ ). Sedangkan, pada kelompok lainnya tidak ditemukan perbedaan signifikan.

**Tabel 3.** Hasil Analisis Mann-Whitney Jumlah Degenerasi/Nekrosis

Kelompok	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kontrol	P=0,007*	p=0,002*	p=0,059
Perlakuan 1 (7 ml)	-	p=0,688	p=0,191
Perlakuan 2 (35 ml)		-	p=0,467

Keterangan : \* Hasil uji *Mann-Whitney* signifikan dengan nilai  $p<0,05$

**Derajat Infiltrasi Sel Inflamasi**

Data pada variabel infiltrasi sel inflamasi porta didapatkan dalam bentuk skala ordinal. Oleh karena itu, pada uji statistik deskriptif tidak diperlukan uji normalitas. Sesuai tabel 4, pada kelompok kontrol ditemukan inflamasi ringan dengan

persentase 100%. Sedangkan pada kelompok perlakuan 1, ditemukan dominan mengalami inflamasi ringan yaitu sebanyak 53.3%. Pada kelompok perlakuan 2 (P2), dominan mengalami inflamasi sedang yaitu sebanyak 40%. Pada kelompok perlakuan 3 (P3), dominan

mengalami inflamasi ringan yaitu sebanyak 63.3% .Inflamasi berat hanya ditemukan pada kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu sebanyak 23.3%. Pada uji *Kruskal Wallis* ditemukan hasil perbedaan yang signifikan hingga dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* yang dapat dilihat pada tabel 5,

ditemukan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 ( $p=0,000$ ), kelompok kontrol dengan perlakuan 2 ( $p=0,000$ ), kelompok kontrol dengan perlakuan 3 ( $p=0,000$ ), dan kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3 ( $p=0,016$ ). Sedangkan, perbedaan kelompok lainnya memiliki hasil yang tidak signifikan.

**Tabel 4.** Hasil Distribusi Frekuensi Derajat Infiltrasi Sel Inflamasi Porta

Kelompok		Derajat Inflamasi				Jumlah	p <sup>¶</sup>
		Tak Ada Sel Inflamasi	Ringan	Sedang	Berat		
Kontrol	n	0	30	0	0	30	0,000*
	%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	
Perlakuan 1 (7ml)	n	0	16	14	0	30	
	%	0.0%	53.3%	46.7%	0.0%	100.0%	
Perlakuan 2 (35ml)	n	1	10	12	7	30	
	%	3.3%	33.3%	40.0%	23.3%	100.0%	
Perlakuan 3 (175ml)	n	0	19	11	0	30	
	%	0.0%	63.3%	36.7%	0.0%	100.0%	
Total	n	1	75	37	7	120	
	%	0.8%	62.5%	30.8%	5.8%	100.0%	

Keterangan : \* Signifikan; ¶ *Kruskal Wallis*

**Tabel 5.** Hasil Analisis Mann-Whitney Derajat Infiltrasi Sel Inflamasi

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kontrol	-	P=0,000*	p=0,000*	p=0,000*
Perlakuan 1 (7 ml)		-	p=0,061	p=0,436
Perlakuan 2 (35 ml)			-	p=0,016*
Perlakuan 3 (175 ml)				-

Keterangan : \* Hasil uji Mann-Whitney signifikan dengan nilai  $p<0,05$



## DISKUSI

Secara makroskopis ditemukan nodul multipel pada beberapa organ hepar kelompok perlakuan. Pada kelompok P1 (7 ml/L), nodul ditemukan pada seluruh organ hepar sampel (6 hepar). Sedangkan, pada kelompok P2 (35 ml/L) dan P3 (175 ml/L), nodul hanya ditemukan pada 2 dari 6 organ hepar sampel. Pada pengamatan secara mikroskopis ditemukan fibrosis fokal dengan septa tampak jelas melingkar berbentuk nodular, hal ini mengindikasikan bahwa terjadi sirosis pada organ hepar.<sup>15</sup> Pada penelitian sebelumnya, nanosilika (70 nm dengan dosis 10 atau 30 mg/kg) yang diinjeksikan intravena 2 kali seminggu selama 4 minggu menyebabkan fibrosis hepar pada tikus BALB/c jantan. Lewat jalur lain, nanosilika (110 nm 10, 25, 50 mg/kg) yang diinjeksikan intraperitoneal pada tikus ICR betina 2 kali seminggu selama 6 minggu menyebabkan fibrosis dan akumulasi kolagen mengelilingi lesi berbentuk nodular.<sup>16</sup> Namun, belum ada penelitian yang menyebutkan bahwa nanosilika lewat jalur inhalasi dapat menyebabkan fibrosis ataupun lesi nodular pada organ hepar. Hal ini dikarenakan pada jalur intravena, intraperitoneal, dan oral, nanosilika dapat masuk lebih cepat ke sistem sirkulasi sistemik. Berbeda dengan jalur inhalasi, nanosilika harus melewati

paru dan bertranslokasi terlebih dahulu sebelum dapat masuk ke sistem sirkulasi sistemik.

### Jumlah Sel Degenerasi/Nekrosis

Pada hasil analisis statistik dari data jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis di daerah periporta ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2), yaitu terdapat peningkatan jumlah sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Parveen (2012), yang meneliti tentang efek instilasi intranasal partikel nanosilika ukuran 10 nm dan 80 nm pada Tikus *Wistar* dengan konsentrasi 150 µg/ 50 µl selama 90 hari dan pada pengamatan histopatologi ditemukan degenerasi dan nekrosis hepatosit dengan pembesaran sel dengan sitoplasma penuh vakuola terang serta berbusa, juga gangguan struktural trabekular lobulus hepar.<sup>8</sup>

Kerusakan sel hepar berupa degenerasi dan nekrosis ini dapat terjadi lewat mekanisme interaksi nanosilika dengan sel hepatosit dan sel kupffer pada organ hepar yang keduanya dapat menginduksi stress oksidatif, dan mengaktifkan respon pro-inflamasi dan

pada akhirnya menyebabkan kerusakan DNA sel, kematian sel hepar (apoptosis dan nekrosis), juga fibrosis hepar pada beberapa kasus.<sup>16</sup> Stress oksidatif pada hepar disebabkan oleh produksi ROS berlebihan pada hepar yang dihasilkan dari jalur direk maupun tidak langsung pada sel. Mekanisme produksi ROS secara tidak langsung disebabkan karena nanopartikel dapat memberikan dan menerima elektron dari molekul intraseluler maupun ekstraseluler, seperti H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>, yang akhirnya akan menghasilkan ROS abiotik secara spontan. Sedangkan stress oksidatif tidak langsung dapat dihasilkan melalui 2 jalur, yaitu jalur mitokondria dan NADPH oksidase. Pada jalur mitokondria, kebocoran elektron dari rantai respirasi dapat ditangkap oleh oksigen pada permukaan reaktif nanosilika dan menghasilkan radikal ROS dan mengaktifkan jalur JNK dan p53 pada sel yang dapat berakhir dengan penurunan potensial membran mitokondria, kerusakan mitokondria, dan apoptosis sel. Sedangkan aktivasi NADPH oksidase akan menginduksi NLRP3 dan sekresi IL-1 $\beta$  menjadi mekanisme dasar stress oksidatif lewat jalur NADPH oksidase.<sup>16</sup>

Perbedaan yang tidak signifikan didapatkan pada uji statistik antara kelompok kontrol (K) dengan perlakuan 3 (P3), kelompok perlakuan 1 (P1) dengan

perlakuan 2 (P2) dan 3 (P3), juga antara perlakuan 2 (P2) dengan perlakuan 3 (P3). Walaupun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan secara statistik, namun terdapat perbedaan nilai dimana antara perlakuan 1, 2 dan 3 ditemukan penurunan jumlah sel degenerasi dan nekrosis dengan kenaikan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Cao (2016), dimana pada tikus *Wistar* yang dipapar nanosilika lewat jalur instilasi intratrakeal berbagai konsentrasi, ditemukan degenerasi sel vakuoler pada semua kelompok perlakuan namun apoptosis hepatosit hanya ditemukan pada konsentrasi terendah.<sup>17</sup> Hal ini mungkin disebabkan karena pada konsentrasi tinggi, kemungkinan tumbukan partikel semakin tinggi sehingga menyebabkan peluang nanosilika untuk mengalami agregasi dan aglomerasi semakin besar.<sup>12</sup> Nanopartikel yang beragregasi akan membentuk materi yang lebih besar dan akan merubah kecenderungan deposisi di saluran pernapasan, dimana partikel yang lebih besar dari 100 nm akan cenderung terdeposisi di daerah nasofaring dan laring dan tidak sampai ke alveolus paru untuk bertranslokasi sesuai dengan gambar 5.<sup>12</sup> Semakin besar ukuran nanopartikel karena agregasi juga akan meningkatkan efektivitas fagositosis oleh makrofag paru



sampai ukuran tertentu yang masih dapat diatasi oleh makrofag. Hal ini menyebabkan peningkatan *clearance* nanopartikel, dan menurunnya translokasi menuju sirkulasi sistemik. Berdasarkan dua teori ini, ada kemungkinan bahwa nanosilika dengan konsentrasi yang tinggi akan lebih sedikit sampai ke sirkulasi sistemik dibandingkan dengan konsentrasi yang rendah, sehingga ada perbedaan jumlah nanosilika yang sampai ke organ hepar. Hal ini yang mungkin mendasari penurunan jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis seiring dengan peningkatan konsentrasi.

### Derajat Infiltrasi Sel Inflamasi

Hasil pengamatan histopatologis hepar didapatkan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan pada nilai derajat infiltrasi sel inflamasi pada periporta pada tikus yang diberi inhalasi pupuk nanosilika dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan derajat sel inflamasi ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, tikus *Wistar* yang diinduksi dengan nanosilika ukuran 20 nm lewat instilasi faringeal selama 28 hari mengalami perubahan gambaran histopatologis hepar yaitu degenerasi vakuolar, infiltrasi sel inflamasi pada periporta, dan gangguan struktural hepar.<sup>17</sup>

Inflamasi pada hepar karena induksi nanopartikel dapat terjadi melalui 2 mekanisme, yaitu lewat jalur stress oksidatif dan sel kupffer. Inflamasi karena stress oksidatif diperantarai oleh jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan *nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B) dan akan menghasilkan respon pro-inflamasi yaitu sekresi sitokin dan kemokin. Beberapa jalur pro-inflamasi yang diinduksi antara lain jalur MAPK (JNK, ERK, p38 MAPK) yang menginduksi pelepasan TNF- $\alpha$ , dan jalur NF- $\kappa$ B yang juga dapat menginduksi pelepasan TNF- $\alpha$  dan IL-6. Sel kupffer dapat mengaktifkan faktor transkripsi yang responsif terhadap stress oksidatif seperti NF- $\kappa$ B, dan akhirnya akan mensekresikan faktor inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, dan TNF- $\alpha$ . Atau sel kupffer juga dapat menginduksi inflamasi pada hepar lewat jalur NADPH oksidase berupa pengaktifan NLRP3 yang kemudian akan menginduksi *apoptosis-associated speck-like protein containing C-terminal caspase recruitment domain* (ASC), dan *caspase-1*. Lalu *caspase-1* akan menginduksi pembelahan prekursor IL-1 $\beta$  menjadi tipe IL-1 $\beta$  yang matur dan berperan dalam respon inflamasi lokal maupun sistemik.<sup>16,18-20</sup>

Pada distribusi data variabel derajat infiltrasi sel inflamasi pada periporta

ditemukan bahwa pada perlakuan 2 (P2) terjadi peningkatan derajat inflamasi yang paling berat dibandingkan dua kelompok perlakuan lainnya. Peningkatan derajat inflamasi konsentrasi ini dapat dijelaskan dengan interaksi antara faktor konsentrasi dengan deposisi di saluran napas, kemampuan fagosit sel kupffer hepar dan *clearance* pada organ hepar. Seperti yang dijelaskan sebelumnya, pada konsentrasi yang tinggi, kemungkinan partikel beragregasi akan semakin tinggi dan menyebabkan nanopartikel membentuk materi yang berukuran lebih besar.<sup>12,21</sup> Aglomerasi akan meningkatkan ukuran hidrodinamik partikel, menurunkan difusi, membatasi ekstravasasi dan mengurangi luas permukaan efektif untuk berinteraksi dengan reseptor sehingga dapat mengurangi toksisitas dari nanosilika koloid tersebut. Agregasi dan aglomerasi menyebabkan rendahnya translokasi nanopartikel dari paru ke sirkulasi sistemik sehingga nanopartikel yang sampai ke organ hepar pada perlakuan 3 (P3) lebih sedikit dibanding 2 perlakuan lainnya yang memiliki konsentrasi lebih rendah, hal ini menyebabkan respon inflamasi yang lebih ringan pada kelompok perlakuan 3 dibanding kelompok perlakuan 2.

Menariknya semakin meningkatnya ukuran nanopartikel, kemampuan

fagositosis dari makrofag akan semakin meningkat sampai ukuran tertentu kurang lebih 15 nm sampai kurang dari 200 nm yang dapat dicapai makrofag sehingga mekanisme *clearance* nanopartikel dapat tercapai.<sup>9</sup> Namun pada ukuran partikel yang lebih dari 200 nm saat beragregasi maka kemampuan makrofag akan menurun dan menyebabkan penurunan *clearance*. Partikel yang berukuran lebih besar akan meningkatkan fungsi fagositosis oleh sel kupffer, hal ini akan meningkatkan respon inflamasi dan memperlambat *clearance* dari tubuh.<sup>19</sup> Menurut Zhang (2016), *Clearance* nanopartikel yang terdeposisi dalam hepar dapat terjadi melalui 2 jalur, yaitu lewat *mononuclear phagocyt system* (MPS)/ sistem retikuloendotelial (untuk partikel lebih besar yang diuptake oleh sel kupffer) dengan kecepatan *clearance* berkisar >3 hari dan sistem hepatobilier (untuk partikel yang lebih kecil dan diuptake oleh hepatosit) dengan kecepatan *clearance* <30 menit.<sup>18,22</sup> Sehingga *clearance* partikel yang lebih besar akan terjadi melalui sistem retikuloendotelial dan membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan partikel yang berukuran kecil. Sehingga kemungkinan pada kelompok perlakuan 2 (35 ml/L) ukuran partikel nanosilika yang beragregasi terlalu besar untuk diatasi oleh

makrofag hepar sehingga menyebabkan respon inflamasi yang paling berat.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pada penelitian ini terbukti terdapat pengaruh paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat terhadap gambaran histopatologi organ hepar tikus *Wistar* jantan, yaitu terjadinya peningkatan jumlah sel yang mengalami degenerasi/ nekrosis dan derajat infiltrasi sel inflamasi yang lebih berat pada daerah porta organ hepar.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu uji fungsi organ hepar (ALT, AST, dan ALP) dengan paparan inhalasi pupuk nanosilika untuk mengetahui apakah terdapat perubahan fungsi organ hepar sejalan dengan perubahan gambaran histopatologi organ hepar.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*. Oktober 2007;47(4):598–607.
2. Agus Subagio, Erma Prihastanti, Ngadiwiyana. Penelitian dan Pengembangan Proses Produksi Pupuk “Nanochisil” untuk Meningkatkan Produktivitas Tanaman Pangan Guna Mendukung Program Ketahanan Pangan Nasional. Universitas Diponegoro; 2017.
3. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (Indonesia). Statistik pertanian = Agricultural statistics, 2014. 2014.
4. Badan Pusat Statistik [Internet]. [dikutip 23 Maret 2018]. Tersedia pada: <https://www.bps.go.id/site/resultTab>
5. Päivi Hämäläinen, Jukka Takala, Tan Boon Kiat. Global Estimates of Occupational Accidents and Work-related Illnesses 2017. *Workplace Safety and Health Institute*. September 2017;8.
6. Napierska D, Thomassen LC, Lison D, Martens JA, Hoet PH. The nanosilica hazard: another variable entity. *Particle and fibre toxicology*. 2010;7(1):39.
7. Gwinn MR, Vallyathan V. Nanoparticles: Health Effects-Pros and Cons. *Environmental Health Perspectives* [Internet]. 2006 [dikutip 28 Februari 2018]; Tersedia pada: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1764161/>

8. Parveen A, Rizvi SHM, Gupta A, Singh R, Ahmad I, Mahdi F, dkk. NMR-based metabonomics study of sub-acute hepatotoxicity induced by silica nanoparticles in rats after intranasal exposure. *Cell Mol Biol*. 2012;58(1):196–203.
9. Kadir LD. Nano-sized silica particles: Cytotoxicity and cytokine responses in lung cell models involving differentiated THP-1 cells [Master's Thesis]. 2016.
10. Murugadoss S, Lison D, Godderis L, Van Den Brule S, Mast J, Brassinne F, dkk. Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Archives of Toxicology*. September 2017;91(9):2967–3010.
11. Yu Y, Li Y, Wang W, Jin M, Du Z, Li Y, dkk. Acute Toxicity of Amorphous Silica Nanoparticles in Intravenously Exposed ICR Mice. Xu B, editor. *PLoS ONE*. 12 April 2013;8(4):e61346.
12. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. Desember 2007;2(4):MR17–71.
13. Stone V, Miller MR, Clift MJD, Elder A, Mills NL, Møller P, dkk. Nanomaterials Versus Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge. *Environmental Health Perspectives* [Internet]. 10 Oktober 2017 [dikutip 15 Maret 2018];125(10). Tersedia pada:  
<http://ehp.niehs.nih.gov/EHP424>
14. An SSA, Lee J-A, Kim M-K, Paek H-J, Kim Y-R, Kim M-K, dkk. Tissue distribution and excretion kinetics of orally administered silica nanoparticles in rats. *International Journal of Nanomedicine*. Desember 2014;251.
15. Kim MY, Cho MY, Baik SK, Park HJ, Jeon HK, Im CK, dkk. Histological subclassification of cirrhosis using the Laennec fibrosis scoring system correlates with clinical stage and grade of portal hypertension. *Journal of Hepatology*. November 2011;55(5):1004–9.
16. Yan B, Zhou H, Gardea-Torresdey JL, editor. *Bioactivity of Engineered Nanoparticles* [Internet]. Singapore: Springer Singapore; 2017 [dikutip 14 Maret 2018]. (Nanomedicine and Nanotoxicology). Tersedia pada:  
<http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-5864-6>
17. Cao W, Zhou Y, Niu Y, Zhu X, Song Y, Guo R. Quantitative Analysis of Hepatic Toxicity in Rats Induced by

- Inhalable Silica Nanoparticles Using Acoustic Radiation Force Imaging: Analysis of Hepatic Toxicity Using Acoustic Radiation Force Impulse Imaging. *Journal of Ultrasound in Medicine*. September 2017;36(9):1829–39.
18. Zhang Y-N, Poon W, Tavares AJ, McGilvray ID, Chan WCW. Nanoparticle–liver interactions: Cellular uptake and hepatobiliary elimination. *Journal of Controlled Release*. Oktober 2016;240:332–48.
19. Yang M, Jing L, Wang J, Yu Y, Cao L, Zhang L, dkk. Macrophages participate in local and systemic inflammation induced by amorphous silica nanoparticles through intratracheal instillation. *International Journal of Nanomedicine*. November 2016;Volume 11:6217–28.
20. Sun J, Chen, Xue. Kupffer cell-mediated hepatic injury induced by silica nanoparticles in vitro and in vivo. *International Journal of Nanomedicine*. Maret 2013;1129.
21. Fruijtier-Pölloth C. The toxicological mode of action and the safety of synthetic amorphous silica—A nanostructured material. *Toxicology*. April 2012;294(2–3):61–79.
22. Johanson G, Carlander U. Uptake and biodistribution of nanoparticles-A Review. The Swedish Chemicals Agency. 2016;