

**Pengaruh Pemaparan Karbofuran Terhadap Gambaran Diameter Pulpa Putih  
Limpa Mencit (*Mus musculus*)**

**The Influence of Carbofuran Exposure Toward White Pulp Diameter of  
Spleen of Mice (*Mus musculus*)**

**<sup>1</sup>Yohana Anggarasari, <sup>2</sup>Epy Muhammad Luqman <sup>2</sup>Bambang Poernomo,  
<sup>2</sup>Didik Handijatno**

<sup>1</sup>PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115

Tlp. 031-5992785 fax.0315993015

e-mail:epyluqman@yahoo.co.uk

**Abstract**

The aim of the research was to observed the white pulp diameter of mice spleen histopathology through carbofuran exposed. Eighteen females Balb/C strain mice (*Mus musculus*) were aged 10 weeks and average body weights 30 grams has been used. The population of mice were divided into three groups i.e. P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, and P<sub>2</sub>, each consist of six. Doses of each sample was 1 ml orally administered through gastric lavage, once a day, every morning, until day 10<sup>th</sup>. The P<sub>0</sub> was given NaCl physiologic 0,9%, while both treatment groups were P<sub>1</sub> and P<sub>2</sub> given carbofuran doses 0,0208 and 0,0417 mg/kg of body weight, respectively. All of mices were sacrificed on day 12<sup>th</sup>, and followed through necropsy to observed the spleen. After that, the spleen histopathology was carried out in hematoxylin eosin (HE) stained. The spleen histopathology observation was carried out through light microscope at 200 times of magnification. The spleen histopathology examination was done to measure the average diameter of white pulp. The white pulp average was analyzed by F test of ANOVA with SPSS 16.0 for Windows program. The result showed that there was a significantly difference between both control and treatment groups ( $p < 0,05$ ). However, carbofuran exposure reduced the white pulp diameter of spleen of mice.

**Keywords:** white pulp diameter, carbofuran

---

**Pendahuluan**

Karbofuran dikenal bersifat toksik pada mamalia dan sangat toksik atau fatal pada unggas. Aplikasi karbofuran pada lahan dan area berpotensi untuk menimbulkan intoksikasi pada manusia, ternak dan hewan liar. Penggunaan karbofuran di pulau Jawa dapat dideteksi dari residu karbofuran yang ada pada

tanah sawah, air sawah, beras, kedelai, pakan ternak, daging sapi dan serum sapi potong (Indraningsih, 2008). Karbofuran disebarkan ke jaringan tubuh melalui sistem peredaran darah dan limfe. Karbofuran yang dibawa bersama darah bertindak sebagai antigen. Tubuh memiliki kemampuan melawan berbagai jenis organisme atau toksin yang dapat

merusak jaringan organ, kemampuan ini disebut sebagai kekebalan. (Guyton, 1997).

Pemberian karbofuran secara oral terbukti merangsang ROS yang dapat menyebabkan stres oksidatif bila jumlahnya berlebihan dalam tubuh (Chew and Park, 2004; Kamboj *et al.*, 2008). Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Hal ini terjadi karena kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas (Brambilla *et al.*, 2008). Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat mengakibatkan terjadinya modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut akan mengakibatkan kerusakan-kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan-kerusakan oksidatif diantaranya kerusakan jaringan dan kematian sel (Prayitno, 2009). Efek dari ketoksikan suatu bahan dapat diamati dari seberapa banyak jumlah sel limfosit yang mati dan dengan mengamati tingkat proliferasi sel limfosit. Hal ini dapat diamati secara kuantitatif dengan mengukur rata-rata diameter pulpa putih limpa (Libriani, 2007; Miksusanti 2010).

### **Materi dan Metode Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 7 Juni 2013 sampai 1 Juli 2013 di tiga lokasi, yaitu Departemen Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Laboratorium Patologi Anatomi Gedung Diagnostic Center RSUD dr. Soetomo Surabaya, dan Departemen Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

#### **Bahan dan Materi Penelitian**

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan berupa mencit betina Balb/C umur 10 minggu, karbofuran (Furadan 3GR

Nomor MDL MFCD00041819 produksi PT. Bina Guna Kimia), NaCl fisiologis 0,9%, formalin 10%, dan kapas. Instrumen penelitian yang digunakan meliputi *disposable syringes* 5 ml, alat sonde, mikroskop cahaya Nikon H600L yang dilengkapi dengan *digital camera* DS Fi2 300 mp, peralatan bedah berupa: pinset, gunting bedah, *glove*, dan masker.

#### **Persiapan Hewan Coba**

Mencit (*Mus musculus*) diambil secara acak dan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan (P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, dan P<sub>2</sub>). Masing-masing kelompok menggunakan enam kali ulangan. Kemudian dilakukan adaptasi lingkungan selama tujuh hari guna mengurangi stres dan dapat menyesuaikan kondisi lingkungan penelitian (Rahmawati, 2012).

#### **Perlakuan**

Mencit (*Mus musculus*) diambil secara acak dan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan (P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, dan P<sub>2</sub>). Kelompok kontrol (P<sub>0</sub>) diberi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 1 ml per ekor. Kelompok perlakuan 1 (P<sub>1</sub>) dipapar karbofuran dengan dosis 0,0208 mg/kg BB, kelompok perlakuan 2 (P<sub>2</sub>) dipapar karbofuran dengan dosis 0,0417 mg/kg BB. Furadan 3GR dengan dosis yang telah ditentukan, dilarutkan ke dalam 1 ml NaCl fisiologis 0,9% untuk setiap ekor sampel. Perlakuan diberikan per oral menggunakan sonde selama 10 hari pada jam yang sama.

Setelah perlakuan terhadap hewan coba sudah dipenuhi, maka dilakukan prosedur euthanasia. Euthanasia mencit dilakukan pada hari ke-12. Limpa yang telah diambil dimasukkan ke dalam pot obat yang telah berisi formalin 10%, kemudian dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosyn* (HE).

**Pemeriksaan Preparat Histopatologi**

Pemeriksaan preparat histopatologi limpa mencit dimaksudkan untuk menghitung rata-rata diameter pulpa putih. Data yang didapat merupakan data kuantitatif yang diperoleh dengan cara menghitung diameter pulpa putih limpa. Diameter pulpa putih dihitung dengan menjumlahkan diameter maksimum transversal dengan diameter maksimum tegak lurus kemudian dibagi dua (Rayhan *et al.*, 2008).

**Rancangan Percobaan dan Analisis Data**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data diameter pulpa putih yang diperoleh, dianalisis dengan menggunakan uji F dalam ANOVA. Apabila terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) maka uji dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan program *SPSS 16.0 for Windows*.

**Hasil dan Pembahasan**

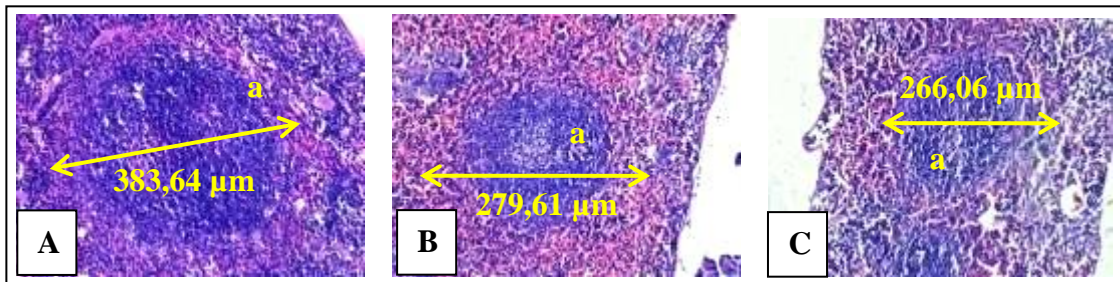
Hasil analisis statistik dengan uji F ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata (*significant*) antara perlakuan terhadap hasil pengamatan diameter ( $p < 0,05$ ).

Tabel 1. Hasil analisis statistik

Perlakuan	Rerata diameter pulpa putih ( $\mu\text{m}$ ) $\pm$ SD
P <sub>0</sub> (kontrol)	364,16 $\pm$ 40,200 <sup>a</sup>
P <sub>1</sub> (dosis 0,0208 mg/kg BB)	286,43 $\pm$ 35,277 <sup>b</sup>
P <sub>2</sub> (dosis 0,0417 mg/kg BB)	274,66 $\pm$ 48,344 <sup>b</sup>

Keterangan: superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata (*significant*) ( $p < 0,05$ ).

Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan uji BNT. Hasil analisis uji BNT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), baik dengan kelompok P<sub>1</sub> maupun dengan kelompok P<sub>2</sub>. Hasil analisis uji BNT antara kelompok P<sub>1</sub> dengan P<sub>2</sub> tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ). Perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol (P<sub>0</sub>) dengan kelompok perlakuan (P<sub>1</sub> dan P<sub>2</sub>) menunjukkan bahwa terjadi penyusutan diameter pulpa putih limpa secara signifikan akibat pemaparan karbofuran.



Gambaran diameter pulpa putih

Gambar 1. Limpa mencit yang dipapar karbofuran (perbesaran 200 kali). Keterangan: (A) kelompok P<sub>0</sub>, (B) kelompok P<sub>1</sub>, (C) kelompok P<sub>2</sub>, dan (a) arteri

centralis.

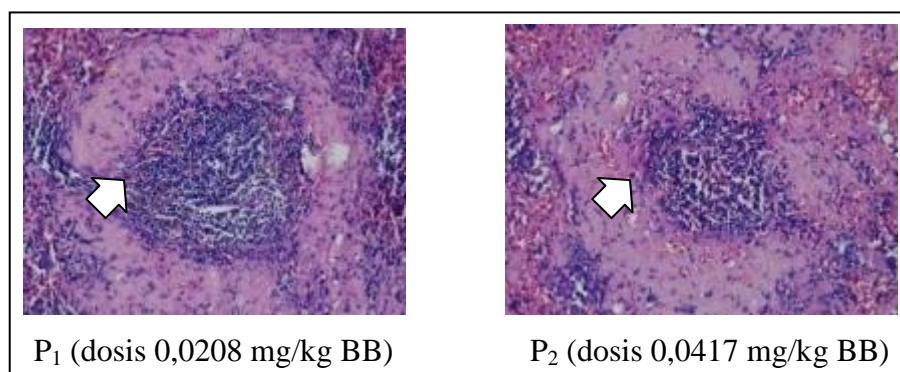
Penyusutan diameter pulpa putih limpa yang terjadi akibat pemaparan karbofuran membuktikan bahwa kadar ROS yang berlebihan, bekerja menimbulkan stres oksidatif yang akan menyerang

sistem membran sel-sel limfosit melalui mekanisme peroksidasi lipid yang akan meningkatkan kadar MDA. Balaban *et al.*, (1987) mengatakan, limfosit sebagai sel imun cenderung sensitif terhadap

ketidakseimbangan oksidan-antioksidan dalam tubuh karena struktur membran plasma sel limfosit banyak mengandung asam lemak tidak jenuh yang mudah teroksidasi. Peroksidasi lipid akan mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi membran. Pengukuran tingkat peroksidasi lipid dapat diukur menggunakan produk akhirnya, yaitu MDA yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh yang bersifat toksik terhadap sel (Powers and Jackson, 2008). Karbofuran memicu generasi ROS intrinsik yang dapat meningkatkan kadar MDA sehingga menyebabkan sel mengalami nekrosis (Luqman, 2012). Meningkatnya kadar MDA menyebabkan sel limfosit mengalami nekrosis sehingga jumlah sel limfosit dalam pulpa putih akan berkurang dan diameter pulpa putih akan menyusut. Libriani (2007) dan Miksusanti (2010) menyebutkan bahwa efek dari ketoksikan suatu bahan dapat diamati dari seberapa banyak jumlah sel limfosit yang mati dan dengan mengamati tingkat proliferasi sel limfosit. Hal ini dapat diamati secara

kuantitatif dengan mengukur rata-rata diameter pulpa putih limpa (Libriani, 2007; Miksusanti 2010).

Penurunan respon imun seluler dan humoral terjadi pada mencit yang dipapar karbofuran (Jumbriah, 2006). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jeon *et al.*, (2001), karbofuran dapat menekan proliferasi sel T, yang mungkin dapat dikaitkan dengan penekanan produksi IL-2 dan respon terhadap IL-2. Karbofuran juga menekan produksi IFN- $\gamma$  dari sel T, namun tidak menekan produksi IL-4, yang mungkin berkontribusi terhadap supresi *T-cell-mediated immune response*. Apoptosis limfosit dapat dicetuskan oleh tidak adanya IL-2 atau dengan dilepaskannya glukokortikoid, granzymes, ataupun TNF- $\alpha$  dan FasL. Terhambatnya kerja IL-2 yang berperan dalam proliferasi sel limfosit T, B, dan pematangan sel B menjadi sel plasma, menyebabkan jumlah sel limfosit T dan sel limfosit B pada pulpa putih mengalami penurunan sehingga berpengaruh terhadap diameter pulpa putih yang ikut mengecil (Oberholzer *et al.*, 2001; Susilowati, 2010).



Gambar 2. Fibrosis pada pulpa merah (perbesaran 200 kali). Anak panah menunjukkan area pulpa merah yang mengalami fibrosis.

Pada beberapa gambaran histopatologi limpa mencit kelompok P<sub>1</sub> dan P<sub>2</sub> yang ditemukan adanya fibrosis pada area pulpa merah. Fibrosis parenkim dapat terjadi sebagai suatu proses perbaikan setelah peradangan.

Fibrosis dapat disebabkan oleh berbagai bahan kimia dan dapat menyebabkan pembentukan sarcoma. Fibrosis parenkim terlokalisasi di daerah pulpa merah (Suttie, 2006). Fibrosis parenkim ditandai dengan adanya fibroblas dan kolagen yang menggantikan struktur normal pulpa

merah. Sinusoid lenyap, dan sel-sel darah merah jarang ditemui pada daerah fibrosis (Goodman *et al.*, 1984).

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pemaparan karbofuran dengan dosis 0,0208 mg/kg BB dan 0,0417 mg/kg BB dapat mengurangi diameter pulpa putih limpa mencit (*Mus musculus*).

### Daftar Pustaka

- Balaban, E.P., T.R. Simon and E.P. Frenkel. 1987. Toxicity of Indium-111 on the Radiolabeled Lymphocyte. *J. Nucl. Med.* 28: 229-233.
- Brambilla, D., C. Mancuso, M.R. Scuderi, P. Bosco, G. Cantarella, L. Lempereur, G.D. Benedetto, S. Pezzino and R. Benardini. 2008. The Role of Antioxidant Supplement in Immune System, Neoplastic, and Neurodegenerative Disorders: a Point of View for an Assessment of the Risk/Benefit Profile. *Nutr. J.* 7: 29-38.
- Chew, B.P. and J.S. Park. 2004. Carotenoid Action on the Immune Response. *J. Nutr.* 134: 257-261.
- Guyton, A.C. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. ECG. Jakarta.
- Goodman, D.G., J.M. Ward and W.D. Reichardt. 1984. Splenic Fibrosis and Sarcomas in F344 Rats Fed Diets Containing Aniline Hydrochloride, p-chloroaniline, Azobenzene, o-toluidine Hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C Red no.9. *JNCI* 73: 265-273.
- Indraningsih. 2008. Pengaruh Penggunaan Insektisida Karbamat terhadap Kesehatan Ternak dan Produknya. *Wartazoa.* 18 (2): 101-114.
- Jeon, S.D, Jong-Seok L. and Chang-Ku M. 2001. Carbofuran Suppresses T-cell-mediated Immune Responses by the Suppression of T-cell Responsiveness, the Differential Inhibition of Cytokine Production, and NO Production in Macrophages. *Toxicol. Letter.* 19: 143-155.
- Jumbriah. 2006. Bioremediasi Tanah Tercemar Diazinon secara *ex situ* dengan Menggunakan Kompos Limbah Media Jamur (*Spent Mushroom Compos*) [Tesis]. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Kamboj, S.S., Kumar, A. Kamboj and R. Sandhir. 2008. Mitochondrial Oxidative Stress and Dysfunction in Rat Brain Induced by Carbofuran Exposure. *Cell Mol. Neurobiol.* 28: 961-969.
- Libriani, R. 2007. Kajian Immunopatologi Sistem Limforetikuler Mencit (*Mus musculus*) pada Persembuhan Luka Operasi dengan Pemberian Minyak Obat Luka Rantau [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Luqman, E.M. 2012. Pengaruh Paparan Insektisida Karbofuran terhadap Aktivitas ROS, Ekspresi P53 dan Caspase 3 dan Kematian Sel Neuron Korteks Serebrum Embrional Mencit (*Mus musculus*) [Disertasi]. Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga.
- Miksusanti. 2010. Proliferasi Sel Limfosit secara In Vitro. Oleh Minyak Atsiri Temu Kunci dan Film Edibel Anti Bakteri. *Jurnal Penelitian Sains.* 10: 6-7.
- Oberholzer, C, A. Oberholzer, M. Clare-salzler, and L.L. Moldawer. 2001. Apoptosis in Sepsis: a New Target for therapeutic Exploration. *The FASEB J.* 15: 879-92.

- Powers, S.K and M. Jackson. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanism and Impact on Muscle Force Production. *Physiol. Rev.* 88: 1243-1276.
- Prayitno, J. 2009. Efek Pemberian Tablet *Effervescent* Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L*) dan Sambiloto (*Andrograpis paniculata* [Burm.f.] Ness) terhadap Fungsi Hati pada Tikus yang Dibebani Glukosa [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahmawati, R. 2012. Efek Pemberian Insektisida Karbofuran terhadap Bobot dan Panjang Fetus Mencit [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Rayhan, K.A., S. Ara, S. Kishwara, M. Begum, S. Shahriah, and G.N. Begum. 2008. Histological Study of Human Spleen. *Bangladesh J. Anat.* 6 (2): 71-6.
- Susilowati. 2010. Berat Limpa dan Gambaran Diameter Pulpa Putih pada Ayam Broiler yang terpapar Heat Stress Kronis [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suttie, A.W. 2006. Histopathology of the Spleen. *Toxicol. Pathol.* 34 (5): 466-503.