

Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* var *botrytis* L.) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Ren Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Pb Asetat Secara Oral

The effect of broccoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) extract to the microanatomy structure of liver and kidney in mice (*Mus musculus* L.) after exposure to lead acetate (*Pb*-acetate) orally

RIRIN DIYAH SETYANINGSIH, NOOR SOESANTI HANDAJANI*, MARTI HARINI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 27 Nopember 2005. Disetujui: 3 Januari 2006.

Abstract. The aims of this research were to know the effect of broccoli extract on the microanatomy structure of the liver and kidney in mice after induction of lead acetate. The broccoli contains antitoxic compounds such as sulforaphane, beta-carotene, indole, quercetin, and glutathione. The research was evaluated experimentally on Swiss mice at the age of 2 months with an average weight of 31 g. These mice were divided into five groups. A group was a placebo control that was given only with distilled water 1 ml for 30 days. The negative control group received lead acetate orally at the dose of 0.52 mg/g body weights for 15 days. Mice of groups 1, 2, and 3 received the same treatment but continued with giving broccoli extract orally in three doses: 2.1 mg; 2.8 mg, and 3.5 mg/g bw/day respectively for 15 days. Liver and kidney were removed on the 31st day. Observation of microanatomy structure was: 1) Determining the kind and damage level of hepatocyte, glomerulus and proximal tubules epithelial as the qualitative data; 2) Measuring the height of proximal tubules epithelial, glomerulus diameter, and central vein diameter as the quantitative data, which then analyzed with ANOVA. The result of this research showed that exposure to lead acetate orally caused hydrophilic degeneration, fatty swelling, and necrotic (pycnotic, karyorrhexis, and karyolysis) on hepatocyte, and proximal tubules epithelial, swelling of glomeruli. Consumption of broccoli at the dose of 3.5 mg/g bw/day could repair the damaged cells of lead acetate. Broccoli extract at the lowest dose (2.1 mg/g bw/day and 2.8 mg/g bw/day) could not repair the damaged cells of lead acetate. Consumption of broccoli extract at the dose of 3.5 mg/g bw/day was helping the cells repairmen (i.e., hepatocyte, glomerulus, and proximal tubule epithelial) in mice (*Mus musculus*. L) damaged by lead acetate.

Key words: broccoli extract, lead acetate, liver, kidney.

PENDAHULUAN

Timah hitam yang diberi simbol Pb (*Plumbum*) merupakan salah satu logam berat tertua yang telah dikenal oleh manusia. (Hariono, 1991). Keberadaan Pb di alam lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya. Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan, pembersihan dan berbagai penggunaannya dalam industri (Lu, 1995). Limbah akibat pemakaian timah hitam dalam bidang industri ternyata mempunyai dampak negatif yaitu mencemari lingkungan (udara, air, tanah, tanaman, hewan dan manusia), sehingga mempunyai potensi merusak kesehatan tanaman, hewan dan manusia. Polutan Pb di atmosfer cukup potensial untuk menimbulkan gangguan kesehatan pada mahluk hidup (Hariono, 1991; Santosa, 1995).

Pb atau senyawa asing lain yang terdapat dalam tubuh akan dimetabolisasi oleh hepar, diekskresikan oleh ren dan pembuangan juga dilakukan melalui keringat, feses, dan udara yang diekspirasikan. Jika kapasitas hepar untuk memetabolisasi senyawa

tersebut telah terlampaui, maka akan lebih banyak diangkut ke dalam sirkulasi (Katzung, 1995). Meskipun ren hanya merupakan 0,5% dari total masa tubuh tetapi ren menerima 20-25% *output* (keluaran) jantung, sebagai konsekuensinya beberapa obat atau bahan kimia dalam sistem sirkulasi akan diantarkan ke organ ren dalam jumlah tinggi (Klassen, 1985).

Usaha yang dapat dilakukan untuk mengurangi akumulasi bahan kimia (logam) berbahaya dalam organ tubuh salah satunya yaitu dengan meningkatkan sistem detoksifikasi dalam tubuh, sehingga dapat menetralkan bahan logam berbahaya yang masuk ke dalam tubuh sebelum merusak sel-sel tubuh atau mungkin menimbulkan bibit kanker. Ilmuwan dari Johns Hopkins telah menemukan kandungan sulforafan dalam brokoli dengan konsentrasi yang cukup tinggi. Diketahui bahwa sulforafan bersifat antikarsinogenik yang dapat berperan mencegah kanker (Conant, 2002).

Brokoli juga mengandung *phytochemicals* lain seperti isotiosianat, yang dapat merangsang produksi enzim dan bahan kimia antikanker. Bukti

kuat menyatakan bahwa orang-orang yang mengkonsumsi banyak buah-buahan dan sayur-mayur dapat mengurangi resiko kanker 20% sampai 50% jika dibandingkan dengan mereka yang mengkonsumsi dalam jumlah yang lebih sedikit (Apriadji, 2001).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2004 sampai dengan Januari 2005. Tempat penelitian di Laboratorium Unit II Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta, Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta, dan Balai Besar Hewan Veteriner (BPHVet), Wates.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, pisau, corong, blender, labu gojok, gelas ukur, gelas beker, pipet ukur, kertas saring, rotary evaporator dan oven, kandang mencit lengkap dengan tempat makan dan minum, Spet, timbangan digital, gelas ukur, timbangan elektrik, dissecting kit, gelas benda, gelas penutup, cawan petri, kaki tiga dan bunsen, oven, staining kit, holder, mikrotom, hot plate, mikroskop cahaya dan kamera yang menggunakan film negatif (kamera biasa).

Bahan yang digunakan, mencit (*Mus musculus* L.) galur Swiss sebanyak 20 mencit dengan umur 2 bulan dan berat badan rata-rata 30 gr, Pb asetat (anorganik), bunga *B. oleracea* var *Botrytis* L, etanol 70%, chloroform, formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%), toluol, xilol, Meyer's albumin, canada balsam, parafin, pewarna HE (Hematoxylin-Eosin), akuades, pellet BR II Coomfeed, air ledeng.

Cara kerja

Persiapan hewan percobaan. Mencit (*Mus musculus* L) galur Swiss yang diperoleh dari UPHP UGM sebanyak 20 mencit ditimbang dan diadaptasikan terlebih dahulu di dalam kandang selama 7 hari. Hewan uji diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

Pembuatan ekstrak. Bunga *B. oleracea* var *Botrytis* L. diperoleh dari Pasar Gede Solo. Bunga dibersihkan dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 60°C sampai kering. Setelah kering bunga dipotong kecil-kecil kemudian digiling dengan menggunakan blender sampai diperoleh serbuk halus kemudian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 24 jam. Filtrat ditampung sampai diperoleh tetesan terakhir yang tidak berwarna dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60^o-70^oC hingga diperoleh ekstrak kasar.

Pembuatan larutan dan penentuan dosis. Larutan dibuat dengan mencampurkan antara bahan ekstrak *B. oleracea* var *botrytis* L. dengan akuades dengan volume 1 ml. Pb asetat ditimbang sesuai dosis kemudian dilarutkan dalam akuades 1 ml.

Dosis pemberian Pb sesuai pendapat Darmono (1995), yang menyatakan bahwa Pb dengan dosis 3,5 mg/hari pada manusia dapat menimbulkan efek toksik dalam beberapa bulan. Pada penelitian ini digunakan Pb anorganik yaitu Pb asetat dosis 4 mg/hari untuk menimbulkan efek toksik dalam beberapa minggu. Dosis pada manusia tersebut kemudian dikonversikan pada mencit dengan tabel konversi menurut Laurence dan Bacharach (1964) dalam Donatus (1999). Dosis terapi brokoli mengacu pada percobaan yang telah dilakukan oleh Jed *et al.* (1997) di *John Hopkins University* pada tikus putih strain SD yaitu berkisar 300 - 500 mg. Dosis yang diberikan yaitu, Pb asetat: 0,52 mg/g bb; ekstrak *Brassica oleracea* var *Botrytis*: 2,1 mg/g bb; 2,8 mg/g bb; dan 3,5 mg/g bb

Perlakuan terhadap hewan percobaan. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok (Tabel 1).

Tabel 1. Pengelompokan perlakuan hewan percobaan.

| Kelompok | Perlakuan |
|--------------------|--|
| 1. Kontrol plasebo | Pelarut akuades selama 30 hari |
| 2. Kontrol negatif | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari |
| 3. Perlakuan 1 | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 2,1 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |
| 4. Perlakuan 2 | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 2,8 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |
| 5. Perlakuan 3 | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 3,5 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |

Pembuatan preparat histologis. Pengambilan sampel organ hepar dan ren dilakukan pada hari ke 31. Pembuatan preparat histologis menggunakan metode parafin (Suntoro, 1983) dan pewarnaan menggunakan metode Harris Hematoxylin-Eosin.

Teknik pengumpulan data. Pengamatan terhadap struktur ren dan hepar dalam bentuk irisan penampang melintang untuk melihat apakah terjadi perubahan struktur mikroanatomi setelah perlakuan. Kemudian data tersebut diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan nefron tiap-tiap ulangan perlakuan, dan kerusakan sel hepar. Pengklasifikasian dilakukan menurut pendapat Thomas dan Richter (1984) serta Mitchel (dalam Gufron, 2001) (Tabel 2, 3, dan 4).

Pengambilan data kuantitatif dilakukan dengan mengukur tinggi epitel tubulus kontortus proksimal dan diameter glomerulus pada ren, serta pengukuran diameter vena sentralis hepar.

Analisis Data

Data kualitatif dianalisis dengan cara membandingkan antara kelompok perlakuan berdasarkan perbedaan kadar ekstrak yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA). Untuk mengetahui adanya

Tabel 2. Tingkat kerusakan glomerulus.

| Tingkat kerusakan | Glomerulus |
|-------------------|--|
| Normal | Normal, inti terlihat jelas, bentuk bulat |
| Ringan | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit + |
| Sedang | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++ |
| Berat | Pembesaran glomerulus +++, penyempitan ruang kapsuler +++, butir-butir eritrosit +++ |

Tabel 3. Tingkat kerusakan tubulus ren.

| Tingkat kerusakan | Tubulus kontortus proksimal | Tubulus kontortus distal |
|-------------------|--|--|
| Normal | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas. | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas |
| Ringan | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tidak jelas. | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tidak jelas. |
| Sedang | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tidak jelas. | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tidak jelas. |
| Berat | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. |

Tabel 4. Tingkat kerusakan hepatosit

| Tingkat kerusakan | Keterangan |
|-------------------|--|
| Normal | Hepar normal |
| Sangat ringan | Bengkak keruh + |
| Ringan | Bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik +, nekrosis + |
| Sedang | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++ |
| Berat | Degenerasi hidrofik +++, Degenerasi lemak +++, nekrosis +++, hiperemia |

Tabel 5. Tingkat kerusakan hepatosit paska perlakuan dengan menggunakan akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan |
|--------------------|-------------------|--|
| Kontrol plasebo | Normal | Secara umum hepatosit normal |
| Kontrol negatif | Berat | Degenerasi hidrofik +++, Degenerasi lemak +++, nekrosis +++, hiperemia |
| Perlakuan 1 | Sedang | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++ |
| Perlakuan 2 | Ringan | Bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik +, nekrosis + |
| Perlakuan 3 | Sangat ringan | Degenerasi hidrofik + |

Keterangan Tabel 2-5: _ : normal, +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang, ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang, +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang (Mitchel dalam Gufron, 2001).

beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikans 5% (*computerized*).

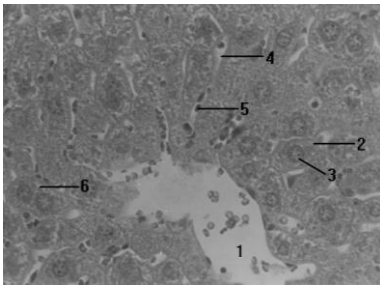
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hepar sebagai Organ Sasaran Efek Toksik Pb.

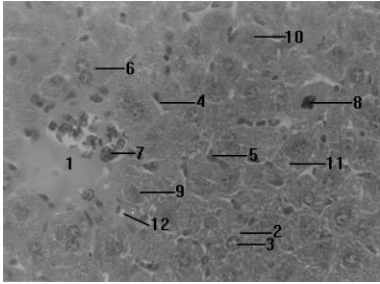
Sejumlah kecil dari Pb yang diabsorpsi lewat saluran pencernaan akan masuk ke dalam sirkulasi darah untuk kemudian didistribusikan ke berbagai organ di seluruh tubuh. Sekitar 90% Pb yang ada di sirkulasi darah berikatan dengan sel darah merah, dan sisanya berikatan dengan protein plasma (WHO, 1980; Osweiler *et al.*, 1985). Pb yang terikat pada permukaan sel darah merah akan didistribusikan dan terakumulasi di berbagai jaringan, salah satunya adalah hepar, yaitu melalui vena porta hepar. Berdasarkan pengamatan terhadap struktur mikroanatomi hepar dalam bentuk irisan penampang melintang dengan

perbesaran 400x diperoleh data kerusakan hepatosit, untuk kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakannya (Tabel 5).

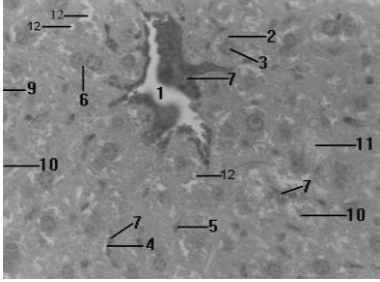
Perubahan yang terjadi pada membran sel mencerminkan gangguan pengaturan ion dan volume yang disebabkan oleh kehilangan ATP. Gangguan pada membran sel yang bersifat terus-menerus akan menimbulkan robekan pada membran sel dan membran organela. Hal ini menyebabkan Na^+ yang masuk ke dalam sel berlebih dan diikuti oleh pembengkakan mitokondria karena pergeseran ion yang terjadi pada bagian dalam sel. Mitokondria yang mengalami tekanan akan berakibat pada gangguan dalam proses fosforilasi pernafasan oksidatif dalam mitokondria (Plaa, 1986). Kegagalan dalam pengikatan energi akibat terganggunya mitokondria akan menyebabkan sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida akibatnya terjadi akumulasi lemak yang dikenal sebagai degenerasi lemak.



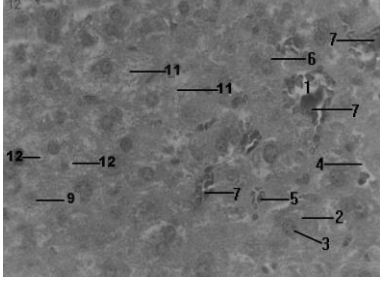
A



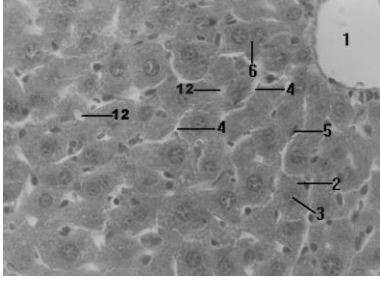
B



C

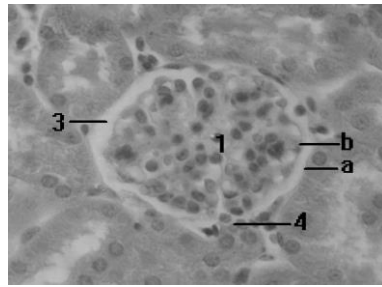


D

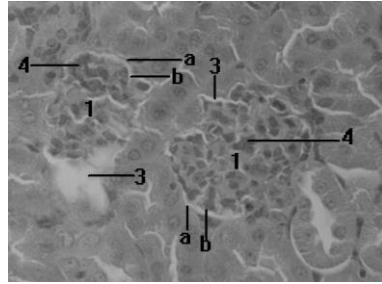


E

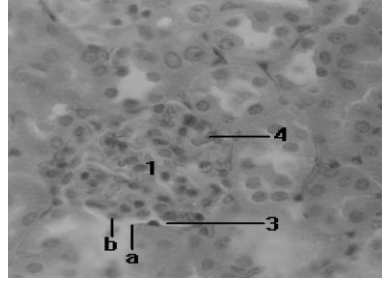
Gambar 1. Penampang melintang hepar (vena sentralis & hepatosit) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Vena sentralis, 2. Hepatosit, 3. Inti hepatosit, 4. Sinusoid, 5. Sel kupffer, 6. Hepatosit inti, 7. Butir eritrosit, 8. piknosis, 9. karioreksis, 10. kariolisis, 11. degenerasi lemak, 12. degenerasi hidrofik, Perbesaran: 400x, Pewarnaan: HE.



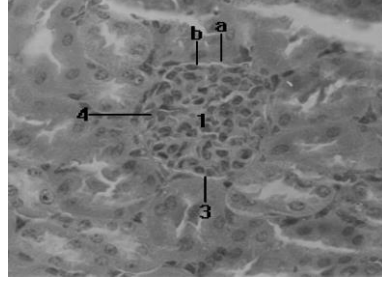
A



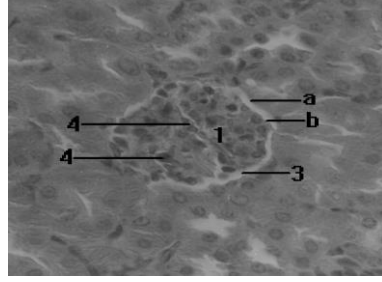
B



C

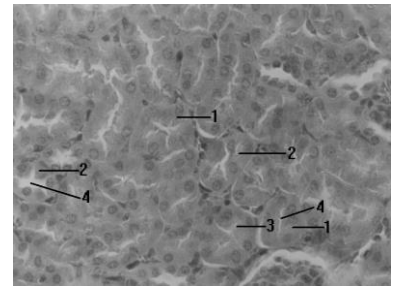


D

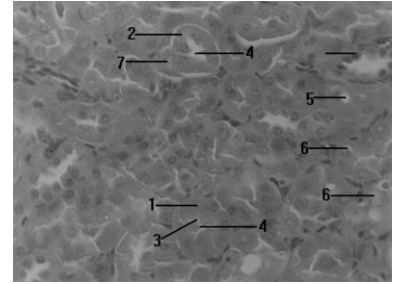


E

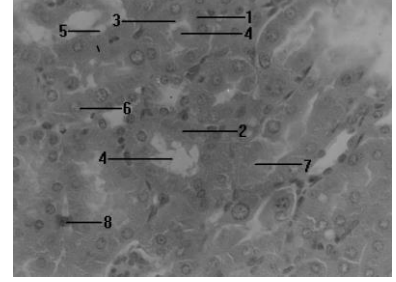
Gambar 10. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Glomerulus, 2. Kapsula Bowman: a. Lapis parietal, b. Lapis visceral, 3. Ruang Bowman, 4. Butir-butir eritrosit. Perbesaran: 400x. Pewarnaan: HE.



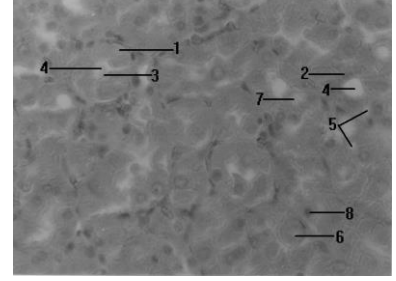
A



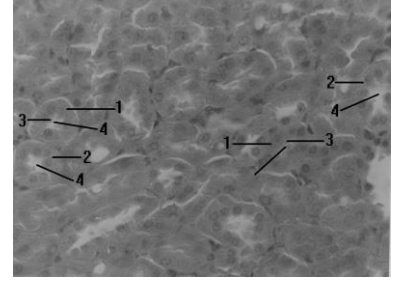
B



C



D



E

Gambar 15. Penampang melintang korteks ren (tubulus) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Tubulus kontortus distal, 2. Tubulus kontortus proximal, 3. Brush border, 4. Lumen, 5. Degenerasi hidrofik, 6. Bengkak keruh, 7. Karioreksis, 8. Piknosis, Perbesaran: 400x, Pewarnaan: HE.

Degenerasi lemak bersifat *reversible*, merupakan awal terjadinya nekrosis. Nekrosis merupakan perubahan morfologi atau struktur sel yang sifatnya *irreversible*. Menurut Himawan (1996), penyebab nekrosis ialah rusaknya susunan enzim di dalam sel. Timbal mampu menghambat aktivitas enzim seperti pada retikulum endoplasma dan mitokondria. Hal ini menyebabkan reaksi metabolisme sel dapat terhambat dan lama kelamaan sel akan mengalami kematian. Inti yang mengalami piknosis dan kariolisis merupakan tahap awal dari nekrosis.

Degenerasi sel dan nekrosis menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel, karena sel yang tidak mampu kembali ke keadaan semula menyebabkan terbentuknya ruang kosong sehingga sinusoid melebar. Pelebaran pembuluh darah dalam hal ini vena sentralis merupakan gangguan sirkulasi yang disebut hiperemia. Hiperemia diduga terjadi karena adanya penyumbatan dalam suatu pembuluh sehingga aliran darah terhambat akibatnya vena sentralis melebar. Hiperemia dapat berlanjut menjadi hemoragi yaitu pecahnya pembuluh darah sehingga darah keluar dari pembuluh dan menyebar ke jaringan di sekitarnya. Pada pengamatan struktur mikroanatomi hepar ditunjukkan oleh adanya butir-butir eritrosit pada vena sentralis dan sinusoid (Gambar 5-8). Untuk membuktikan adanya pelebaran diameter vena sentralis maka dilakukan pengukuran (Tabel 6).

Tabel 6. Rata-rata diameter vena sentralis hepar mencit setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/bb/hari mencit dan 3 variasi dosis bokoli secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata diameter vena sentralis \pm SD (μ m) |
|--------------------|---|
| Kontrol plasebo | - ,9195 \pm 1.287 ^a |
| Kontrol negatif | - ,7380 \pm 2.596 ^c |
| Perlakuan 1 | - ,8120 \pm 2.993 ^b |
| Perlakuan 2 | - ,8134 \pm 1.701 ^b |
| Perlakuan 3 | - ,8949 \pm 1.355 ^a |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Analisis data untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak brokoli terhadap struktur mikroanatomi hepar setelah pemberian Pb asetat secara oral menunjukkan perbedaan pada data kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif pada perlakuan 3, hepatosit masih menunjukkan kerusakan, meski pada tingkat sangat ringan, sedang secara kuantitatif diameter vena sentralisnya tidak menunjukkan beda nyata dengan kontrol plasebo, hepatositnya tersusun normal dan tidak mengalami kerusakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa brokoli mempunyai efek memperbaiki kerusakan. Hal ini juga terlihat pada kontrol negatif dan perlakuan 1, secara kuantitatif perlakuan 1 identik dengan perlakuan 2, tetapi tingkat kerusakan hepatosit pada perlakuan 1 tergolong tingkat sedang. Kelompok perlakuan 2

secara kualitatif menunjukkan tingkat kerusakan ringan.

Ren sebagai organ sasaran efek toksik Pb.

Menurut Stine dan Brown (1996), induksi toksikan dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan pada ren, hal ini terjadi karena beberapa faktor: (i) Aliran darah yang menuju ke ren cukup besar (25% dari *out put* jantung) sehingga darah yang mengandung toksikan kemudian dikirim ke ren dalam jumlah besar. (ii) Toksikan yang tidak direabsorpsi akan tetap tertinggal sebagai filtrat dengan konsentrasi yang meningkat. (iii) Apabila toksikan tereabsorpsi kemungkinan akan tetap tertinggal dalam sel-sel tubulus.

Glomerulus

Glomerus menjalankan fungsinya sebagai tempat filtrasi zat-zat dari sistem peredaran darah. Glomerulus merupakan suatu jaringan yang berasal dari arteriol afferen, suatu cabang dari arteri ren. Kapiler glomerulus mempunyai pori-pori yang besar (70 nm), beberapa zat dengan bobot molekul di bawah 60.000 dapat disaring masuk dalam kapsula Bowman. Darah memasuki glomerulus bertekanan sekitar 60 mmHg dan diatur oleh sel khusus dari arteriol afferen yang disebut sel juxtaglomerular. Tekanan tersebut mendorong cairan darah keluar dari pori-pori melalui membran dasar dan melewati arteriol afferen untuk difiltrasi di antara podosit (sel penyusun lapisan visceral simpai Bowman) (Junquiera *et al.*, 1998; Burkitt, 1995).

Berdasarkan pengamatan struktur mikroanatomi glomerulus pada masing-masing kelompok perlakuan diperoleh data kerusakan glomerulus yang meliputi pembengkakan glomerulus, penyempitan ruang kapsuler dan keberadaan butir-butir eritrosit yang kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan tersebut (Tabel 7).

Tabel 7. Tingkat kerusakan glomerulus setelah pemberian akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan |
|--------------------|-------------------|--|
| Kontrol plasebo | Normal | Normal, inti terlihat jelas, bentuk membulat |
| Kontrol negatif | Sedang | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++. |
| Perlakuan 1 | Sedang | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++. |
| Perlakuan 2 | Ringan | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit +. |
| Perlakuan 3 | Normal | Normal, inti terlihat jelas, bentuk membulat |

Keterangan: _ : normal, +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang, ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang, +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang (Mitchel dalam Gufron, 2001).

Untuk membuktikan pengaruh dari tiap perlakuan (Pb asetat dan brokoli) terhadap diameter glomerulus dilakukan pengukuran (Tabel 8).

Tabel 8. Rata-rata diameter glomerulus setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli secara oral.

| Kelompok Perlakuan | Rata-rata diameter glomerulus ± SD (µm) |
|--------------------|---|
| Kontrol plasebo | 20,875 ± 0.750 ^a |
| Kontrol negatif | 25,187 ± 0.826 ^b |
| Perlakuan 1 | 24,000 ± 1.594 ^b |
| Perlakuan 2 | 22,125 ± 0.854 ^a |
| Perlakuan 3 | 20,562 ± 1.328 ^a |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Peningkatan diameter glomerulus terjadi akibat adanya interaksi antara Pb dan pembuluh darah sehingga mengakibatkan adanya vasodilatasi pembuluh darah. Vasodilatasi ini menyebabkan membesarnya anyaman kapiler glomerulus, sehingga diameternya bertambah (Shurlan, 1999).

Pembengkakan pada glomerulus akan mengakibatkan aliran darah menjadi terganggu, sehingga sel darah merah dapat terjebak dalam kapiler darah. Sirkulasi darah menjadi tidak lancar karena gangguan pada kapiler darah, darah akan terkumpul dalam kapiler dan menyebabkan tekanan dinding kapiler naik. Jika hal ini terus berlangsung dinding kapiler akan pecah, sehingga sel-sel darah seperti eritrosit akan memasuki jaringan. Menurut Himawan keadaan ini disebut dengan hiperemia yaitu suatu keadaan di daerah tertentu terdapat darah yang berlebihan pada pembuluh darah.

Tingkat kerusakan glomerulus secara kualitatif hampir sama dengan perubahan diameternya untuk masing-masing kelompok perlakuan. Perbedaan yang terlihat hanya pada kelompok 2. Pada tingkat kerusakan ringan (kelompok 2) hanya dibedakan banyak sedikitnya butir eritrosit dengan tingkat kerusakan sedang yang terjadi pada kontrol negatif dan perlakuan .

Tubulus kontortus proksimal

Timbal difiltrasi oleh glomerulus dan dapat direabsorpsi oleh sel epitel tubulus. Hal ini menyebabkan sel tubulus kontortus proksimalis paling banyak mengalami kerusakan. Husein dan Trihono (1996) menyebutkan bahwa kerusakan oleh Pb mengenai hampir semua struktur subseluler seperti membran plasma mitokondria, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel (pembentukan *intranuclear inclusions body*). *Intranuclear inclusions body* merupakan kompleks protein sulfidril-timbal yang terbentuk oleh mekanisme proteksi. Menurut Darmono (1995), dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk dapat mengeliminasi *intranuclear inclusions body*.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap struktur mikroanatomi ren (tubulus) dalam bentuk irisan penampang melintang, diperoleh data kerusakan pada sel tubulus proksimal dan distal, untuk

kemudian diklasifikasikan tingkat kerusakannya (Tabel 9).

Tabel 9. Tingkat kerusakan tubulus kontortus proksimal ren setelah pemberian akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan |
|--------------------|-------------------|--|
| Kontrol plasebo | Normal | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas. |
| Kontrol negatif | Berat | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. |
| Perlakuan 1 | Berat | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. |
| Perlakuan 2 | Berat | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis. |
| Perlakuan 3 | Normal | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas. |

Keterangan: +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang; ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang; +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang.

Untuk mengetahui dampak kerusakan pada sel epitel tubulus terhadap tinggi epitel tubulus tersebut, maka dilakukan pengukuran terhadap tinggi epitel tubulus kontortus proksimal (Tabel 10).

Tabel 10. Rata-rata tinggi epitel tubulus proksimalis setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/g bb/hari mencit dan 3 variasi dosis brokoli secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata tinggi epitel tubulus proksimalis ± SD (µm) |
|--------------------|---|
| Kontrol plasebo | 5,250 ± 0.289 ^a |
| Kontrol negatif | 6,375 ± 0.144 ^b |
| Perlakuan 1 | 5,500 ± 0.204 ^a |
| Perlakuan 2 | 5,375 ± 0.323 ^a |
| Perlakuan 3 | 5,312 ± 0.125 ^a |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Tinggi epitel tubulus kontortus proksimalis untuk kontrol plasebo, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 setelah dianalisis dengan uji DMRT pada taraf signifikansi 5% tidak menunjukkan beda nyata dengan kata lain identik. Beda nyata hanya ditunjukkan oleh kontrol negatif, terbukti bahwa pemberian Pb asetat sangat mempengaruhi tinggi epitel tubulus proksimalis.

Kecenderungan perubahan epitel tubulus kontortus proksimalis dengan menggunakan Pb asetat terjadi akibat adanya degenerasi sel penyusun tubulus tersebut yang berupa pembengkakan sel-sel epitel karena tidak

berfungsinya pompa Na^+/K^+ . Menurut Himawan (1996) kenaikan konsentrasi Na^+ di dalam sel menyebabkan influks air yang berlebihan dan sel-sel membengkak, pembengkakan kemungkinan terjadi di mitokondria dan retikulum endoplasma.

Hasil analisis data kualitatif berbeda dengan data kuantitatif. Pada penampang melintang tubulus ren bagian korteks, tingkat kerusakan berat ditunjukkan oleh kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan kontrol negatif. Sedangkan kelompok perlakuan 3 menunjukkan struktur normal sama halnya dengan kontrol plasebo. Data kualitatif diperoleh dengan mengklasifikasikan kerusakan-kerusakan yang terjadi pada sel-sel tubulus baik proksimal maupun distal.

Pengaruh ekstrak brokoli pada proses regenerasi hepatosit dan ren

Proses perbaikan struktur jaringan setelah keadaan patologi dapat dikarakterisasi melalui dua mekanisme yaitu perbaikan bagian yang rusak (*regeneration*) atau penggantian dengan jaringan yang baru (*repair*) (Minckler *et al.*, 1971).

Regenerasi hepatosit dan sel epitel tubulus proksimalis terlihat pada kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak brokoli dengan dosis paling tinggi, di duga proses regenerasi tersebut dibantu oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak brokoli. Sayuran kelompok kubis-kubisan (Cruciferae), terutama brokoli mengandung beberapa senyawa, diantaranya glukobrasisin (glukosinolat indol). Glukobrasisin merupakan glukosinolat indol yang banyak ditemukan dalam familia Brassicaceae. Glukobrasisin mengalami hidrolisis bertahap secara kimiawi dan enzimatis (enzim *myrosinase*) menghasilkan senyawa indol dan lebih lanjut dapat meningkatkan aktivitas enzim oksidase fungsi campur atau sitokrom P-450, tergantung monoksigenase, glutathion S-transferase atau epoksi hidrolase (Nugroho, 2002).

Kelompok sitokrom P-450 sebagian besar merupakan enzim yang terlibat dalam proses detoksifikasi. Enzim ini terdapat pada selaput retikulum endoplasma agranular (REA). Senyawa-senyawa yang berbahaya dan bersifat racun dapat diubah menjadi tidak berbahaya. Perubahan atau proses detoksifikasi ini berlangsung sebagian besar di hepar, tetapi juga dapat terjadi di intestinum, ren, pulmo dan kulit. Kadar sitokrom P-450 paling tinggi pada hepar terdapat di daerah sentrolobular, sedang pada ren terdapat di tubulus proksimalis (Lu, 1995). Sitoplasma podosit (sel penyusun lapisan viseral simpai Bowman) mengandung REA, dimungkinkan pada selaputnya terdapat enzim sitokrom P-450.

Proses detoksifikasi pertama terjadi pada organ hepar. Enzim fase I yang di produksi oleh hepar, berperan di dalam perubahan prokarsinogen yang masuk ke dalam tubuh menjadi senyawa karsinogen yang dapat merusak sel, dan juga mengubah senyawa tertentu yang stabil secara kimia menjadi metabolit yang reaktif secara kimia. Reaksi ini biasanya dikatalisis oleh sistem monoksigenase

yang bergantung pada sitokrom P-450. Enzim fase II yang juga dihasilkan oleh hepar berfungsi mendetoksifikasi senyawa yang dihasilkan pada fase I dan mengangkutnya keluar sel. Apabila proses yang terjadi pada fase I berhasil tetapi pada fase II tidak, hal ini akan mengakibatkan peningkatan potensial karsinogen di dalam sel (Conant, 2002; Lu, 1995).

Mekanisme utama kemopreventif kerusakan sel oleh senyawa-senyawa yang terkandung dalam brokoli dijelaskan melalui dua cara penurunan karsinogenitas yang dilakukan oleh kedua enzim tersebut yaitu memblok aktivitas pembentukan metabolit karsinogen dan meningkatkan detoksifikasi karsinogen. Senyawa isotiosianat diketahui mampu berperan pada langkah pertama dan kedua. Paul Talalay, farmakologis dari John Hopkins menegaskan bahwa sulforafan yang terdapat pada brokoli diketahui mampu meningkatkan produksi enzim fase II di dalam hepar (Yulianto, 2003)

Bahan-bahan karsinogen dan senyawa toksik lainnya yang tereliminasi oleh hepar akan terbawa aliran darah keluar dari hepar dan sampai pada kapiler-kapiler glomerulus serta daerah tubulus ren (tubulus kontortus proksimalis). Adanya REA pada sitoplasma podosit dan sel epitel tubulus kontortus proksimalis memungkinkan terjadinya bioaktivasi kembali oleh sitokrom P-450. Dalam hal ini diduga terjadi proses detoksifikasi yang sama seperti pada organ hepar dan kerja senyawa indol yang terkandung pada brokoli di dalam proses tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak brokoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) pada dosis 3,5 mg/g bb/hari selama 15 hari dapat membantu proses perbaikan struktur jaringan baik pada hepar yaitu: hepatosit, maupun ren yaitu: glomerulus dan sel epitel tubulus proksimalis mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi oleh Pb asetat. Pemberian ekstrak brokoli dengan dosis 2,8 mg/g bb/hari dan 2,1 mg/g bb/hari selama 15 hari tidak mampu memperbaiki sel yang telah dirusak menggunakan zat toksikan Pb asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriadji. 2001. *Menimbang Keunggulan Sayuran Daun*. www.ekafood.com/sayuran.htm
- Burkitt, H.G. 1995. *Histologi Fungsional*. Penerjemah: Tambalung, J. Jakarta: EGC.
- Conant, R. 2002. *Sulforaphane Stimulates the Body's Cancer-Fighting Enzymes Secret Weapon Against Cancer Found in Broccoli Sprouts*. www.route2health.com/cancer/Broccoli.html
- Darmono. 1995. *Logam dalam Sistem Biologi Mahluk Hidup*. Jakarta: UI Press.

- Donatus, I.A. 1999. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi.
- Gufon, M. 2001. Gambaran Struktur Histologik Hepar dan Ren Mencit setelah Perlakuan Infus Akar Rimpang Jahe (**Zingiber officinale**) dengan Dosis Bertingkat. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 9 (1): 72-88.
- Hariono, B. 1991. Dampak polusi timah hitam (Pb) pada kesehatan lingkungan. *Buletin FKH-UGM* 10 (1): 35-45.
- Himawan, S. 1996. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: UI Press.
- Husein, A.T.T. dan Trihono. 1996. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Jilid 2. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia.
- Jed, W.F., Z. Yuesheng, and T. Paul. 1997. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogen. *Medical Science* 94: 10367-10372.
- Junquiera, L.C., Carnerio, and R.O. Kelley. 1997. *Histologi Dasar*. Penerjemah: Tambalong, J. Jakarta: EGC.
- Katzung, B.G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: EGC.
- Klaasen, C.D. 1985. *Heavy Metals Antagonist in Pharmacological Basic of Therapeutik*. New York: Mac Millan Publishing Company
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Penerjemah: Nugroho, E. Edisi 2. Jakarta: UI Press.
- Minckler, J., H.M. Anstall dan T.M. Minckler 1971. *Pathology and Introduction*. London: The CV Mosby Co.
- Nugroho, A.E. 2002. Uji efek hipoglikemik perasan brokoli (**Brassica oleracea** var **botrytis** L.) pada tikus putih jantan galur sprague dawly. *Majalah Obat Tradisional*. 7 (20): 7-13.
- Osweiler, G.D., T.L. Carson, W.B. Buck, and G.W. Gelder. 1985. *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology*. 3rd ed. Iowa: Publishing Company Dubuque.
- Plaa, G.L. 1986. *Toxicology the Basic Science of Poisons*. New York: Macmillan Publishing Company.
- Santoso, E.B., B. Hariono, I. Tjahjati, B. Sutrisno, dan S. Widyarini. 1995. Pengaruh pemberian senyawa Pb asetat terhadap kadar Pb dan Mg tulang burung merpati (**Columba livia**). *Buletin FKH-UGM* 14 (2): 29-35.
- Shurlan, V.P. 1999. *Seaweed (Alginat) Orthopaedics, Sport Medicines, and Rehabilitation*. Pasific Standard Distributors Inc. www.stopcancer.com/seewed.htm.
- Stine, K.E. dan T.M. Brown. 1996. *Principles of Toxicology*. New York: Lewis Publishers.
- Suntoro, H.S. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.
- Thomas, C. and G.W. Richter. 1984. *Sandritter's Color Atlas and Text Book of Histopathology*. 7th edition. Chicago: Year Book Medical Publ. Inc.
- WHO (World Health Organization). 1980. *Recommended Health-Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals*. Geneva: WHO Technical Report Series.
- Yulianto, W.A. 2003. *Kubis sebagai Kemoprotektif Kanker*. www.sinarharapan.co.id/ipetek/kesehatan/2005/0304/kes1.html.