

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

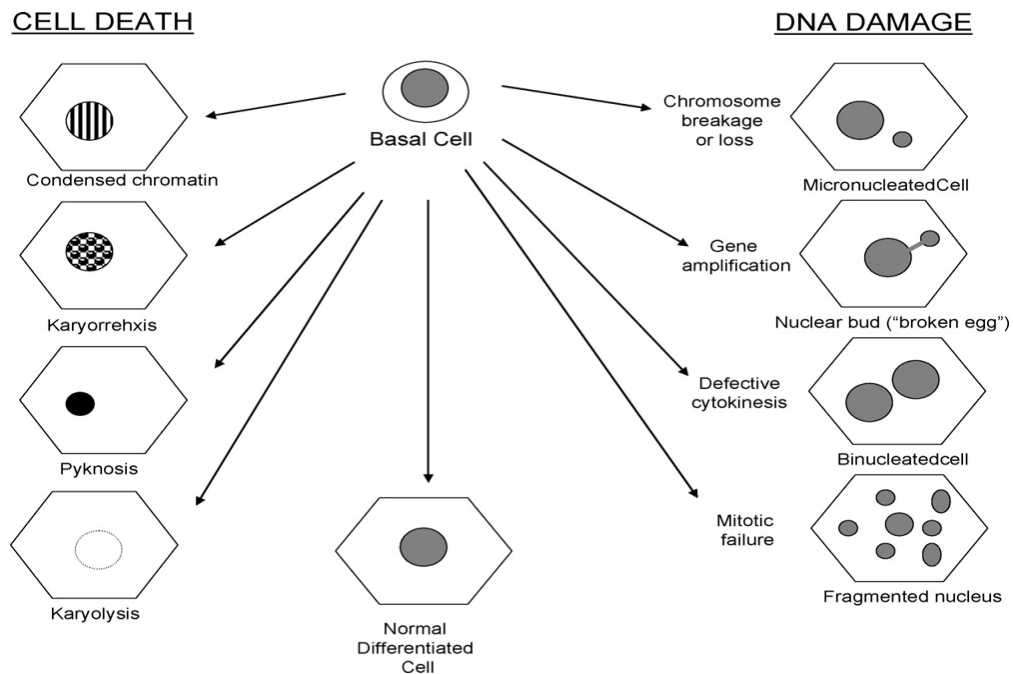
2.1 Mikronukleus

2.1.1 Definisi Mikronukleus

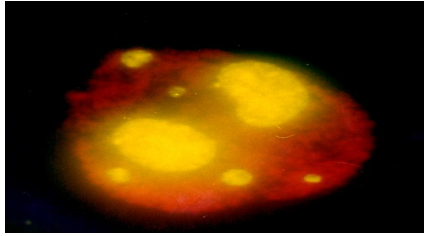
Dalam setiap sel makhluk hidup terdapat inti sel atau nukleus, di mana di dalamnya terdapat materi-materi genetik yaitu *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) yang mempunyai fungsi utama untuk mengadakan kontrol terhadap aktivitas sel, salah satunya adalah fungsi reproduksi sel.¹⁵ Adapun mikronukleus adalah inti tambahan kecil yang terletak di luar inti utama, merupakan salah satu bentuk kelainan inti sel akibat kesalahan dalam proses pembelahan. Bila dilihat di bawah mikroskop, mikronukleus tampak sebagai inti kedua yang ukurannya kurang dari sepertiga diameter inti utama, berbentuk bulat atau oval dengan tepi halus, tidak bertumbukan atau memiliki hubungan dengan inti utama, serta memiliki warna, tekstur, dan pembiasan yang sama dengan inti utama.^{13,16-17} Selain mikronukleus, terdapat pula kelainan inti sel lainnya, yaitu *binucleated cell*, *karyorrhetic cell*, *karyolytic cell*, *nuclear budd*, dan *fragmented nucleus*.^{6,18}

Binucleated cell adalah kelainan inti sel yang tampak sebagai dua inti berukuran kurang lebih sama besar yang terdapat dalam satu sel dan keduanya saling terhubung. Sel ini terbentuk akibat kegagalan sitokinesis di mana terjadi pembelahan inti namun tidak diikuti

pembelahan sel. *Karyorrhetic cell* merupakan gambaran inti sel yang padat dengan elemen nukleokromatin yang kemudian dapat terjadi pemecahan inti sel dan tampak sebagai kepingan-kepingan sehingga disebut *fragmented nucleus*. *Karyolitic cell* menggambarkan tidak adanya inti sel sama sekali karena sudah mengalami penghancuran. *Nuclear budd* atau *broken egg* adalah kelainan inti sel yang paling mirip dengan mikronukleus. Untuk membedakan keduanya dilihat dari adanya jembatan atau hubungan antara inti utama dengan inti tambahan yang berukuran lebih kecil. Kelainan inti sel ini muncul akibat adanya amplifikasi gen inti sel.^{6,18,19}



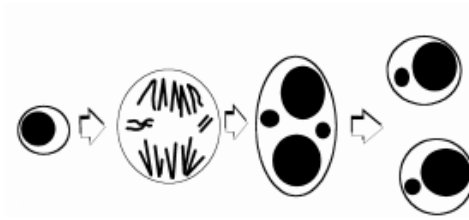
Gambar 1. Kelainan inti sel⁶



Gambar 2. Mikronukleus²²

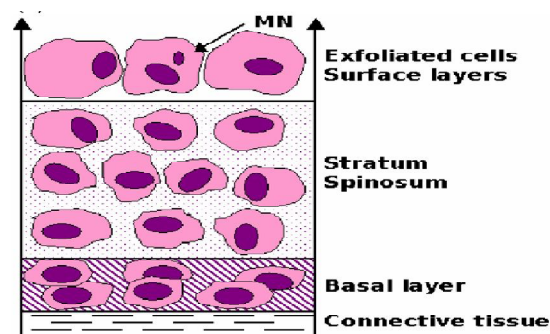
2.1.2 Pembentukan Mikronukleus

Mikronukleus terbentuk karena adanya kerusakan kromosom atau kesalahan fungsi suatu benang spindel akibat proses genotoksisitas. Mikronukleus terbentuk pada mitosis antara metafase dan anafase. Pada saat metafase semua kromosom akan berjejer di ekuator kemudian masing-masing akan diikat sentromernya oleh benang spindel lalu akan ditarik ke kedua kutub pada saat anafase. Apabila dalam proses antara metafase dan anafase terdapat kerusakan nukleus, dimana akan menghasilkan fragmentasi kromosom yang tidak mengandung sentromer (asentrik), maka fragmen tersebut tidak dapat ditarik ke kutub sehingga akan tertinggal di salah satu sel baru yang terbentuk dari proses mitosis tersebut. Pada fase selanjutnya yaitu telofase, mikronukleus yang terbentuk ini akan mendapatkan perlakuan sama halnya dengan nukleus yang sejati yaitu akan mengalami proses pembentukan membran inti. Oleh karena proses tersebut, mikronukleus terbentuk terpisah sempurna dari inti sel yang sesungguhnya.^{20,21}



Gambar 3. Pembentukan mikronukleus²³

Sebenarnya mikronukleus hanya terbentuk di stratum basalis saja, karena hanya di lapisan inilah terdapat sel punca atau *stem cell*. Namun mikronukleus dapat ditemukan juga di stratum yang lebih superfisial seperti stratum spinosum, stratum granulosum, maupun stratum keratinosum. Hal ini dapat terjadi mengingat sifat mukosa pelindung yang selalu memperbarui lapisan superfisialnya yang rusak, sehingga secara fisiologis sel-sel dari stratum basalis akan bermigrasi ke superfisial. Aktivitas ini terjadi dalam waktu 7 sampai 10 hari sebagai proses regenerasi sel-sel keratinosum yang selalu mengalami pengelupasan terus-menerus. Mikronukleus juga bersifat menetap yaitu tidak tereduksi oleh sistem metabolisme sel setelah terbentuk di stratum basalis.⁶



Gambar 4. Migrasi mikronukleus ke lapisan superfisial⁶

2.1.3 Biomonitoring Mikronukleus

Mikronukleus merupakan biomarker faktor risiko kanker yang menjanjikan di masa mendatang karena prosesnya yang sederhana dan hasilnya cukup sensitif. Pemeriksaan terbaik sebenarnya menggunakan pengecatan DNA, namun cara ini kurang praktis dan terlalu mahal biayanya. Pemeriksaan mikronukleus dilakukan dengan mengambil preparat dari apusan mukosa mulut menggunakan *cytobrush* lalu dilakukan pengecatan Fielgen-Rossenback. Hasil pengecatan preparat diamati di bawah mikroskop. Penghitungan sel ideal seharusnya adalah 10.000 sel, tetapi dengan jumlah tersebut terlalu memakan waktu maka banyak penelitian yang hanya menghitung sel sebanyak 1000-3000 sel. Pada orang normal tanpa paparan genotoksik, nilai rata-rata mikronukleus berkisar antara 0,05-11,5 MN/1000 sel dengan rata-rata 0,5-2,5 MN/1000 sel.⁶

2.2 Cat

2.2.1 Komposisi Cat

Cat berisi bahan kandungan cat dan pewarna yang berupa campuran zat kimia padat dengan medium cair, digunakan sebagai lapisan proteksi atau dekorasi permukaan, dan akan mengering dengan oksidasi, polimerisasi dan evaporasi. Cat pada umumnya berbahan dasar air atau minyak dan terdiri atas tiga komponen penting yaitu :

a. Tiner

Semua cat mengandung pelarut/*solvent* yang biasanya berupa tiner. Tiner akan menguap segera setelah cat dioleskan, saat itu pekerja cat dapat menghisap bahan berbahaya yang terkandung dalam pelarut. Paparan terhadap tiner dapat menyebabkan sakit kepala, pusing, iritasi mata, hidung, dan tenggorokan, masalah reproduksi dan kanker.

b. *Binder*

Binder yang dapat menyebabkan masalah kesehatan adalah resin (*epoxy resin* dan *urethane resin*) menimbulkan iritasi hidung, mata, tenggorokan dan kulit.

c. Pigmen

Pigmen dalam cat berguna untuk mewarnai dan meningkatkan ketahanan cat. Banyak jenis pigmen merupakan bahan berbahaya yaitu:

- *Lead chromate*

Digunakan untuk memberi warna hijau, kuning dan merah. Paparan substansi ini dapat menyebabkan kerusakan saraf pusat

- *Chromium*

Memberikan warna hijau, kuning, dan oranye. Paparan terus-menerus dapat menyebabkan kanker paru dan iritasi kulit, hidung, dan saluran nafas atas

- *Cadmium*

Memberi warna hijau, kuning, oranye dan merah, serta dapat menyebabkan kanker paru

Tabel 2. Bahan-bahan kandungan cat ²⁴

Bahan	Fungsi
Bahan pembentuk lapisan (<i>film-forming materials</i>) : <i>Linseed oil, Soybean oil, Tung oil, dehydrated castor oil, fish oil, oiticica oil, perilla oil, casein, latex emulsion, varnishes</i>	Membentuk lapisan pelindung melalui oksidasi dan polimerisasi minyak tak jenuh
Tiner (<i>thinners</i>) : Hidrokarbon alifatik, <i>naphtha</i> , fraksi petroleum lain Turpentine Hidrokarbon aromatik, toluen silol (<i>xylol</i>), <i>methylated naphthalene</i>	Sebagai suspensi pewarna cat, konsentrasi sedikit
Pengering (<i>driers</i>) : Co, Mn, Pb, Zn, <i>naphthalene</i> , resin, <i>otocates</i> , linoleat, talates	Mempercepat pengeringan lapisan melalui oksidasi dan polimerisasi
<i>Antiskinning agent</i> : <i>Polyhydroxy phenols</i>	Mencegah penggumpalan dan pengelupasan cat
<i>Plasticizer</i> : Beberapa macam minyak	Memberikan elastisitas dan mencegah proses penguraian

Tabel 3. Bahan-bahan pewarna cat (pigmen) ²⁴

Bahan	Fungsi
- Pewarna putih : timah putih, titanium dioksida, Zn oksida, <i>litophene</i> , <i>Zn sulfide</i> , <i>basic lead sulphate</i> - Pewarna hitam : karbon hitam, <i>lampblack</i> , <i>graphite</i> , <i>magnetite black</i>	Untuk melindungi lapisan cat dari sengatan matahari, menguatkan lapisan dan memberi tampilan menarik

<ul style="list-style-type: none"> - Pewarna biru : <i>Ultramarine, cobalt blue, copper phthalocyanine, iron blue</i> - Pewarna merah : timah merah, <i>iron oxides, cadmium merah, toners dan lakes</i> - Pewarna metalik : aluminium, debu seng, bubuk tembaga - Pewarna kuning : <i>litharge, ochre, timah atau Zn kromat, hansa yellow, ferrite yellow, cadmium lithopone</i> - Pewarna jingga : <i>basic lead chromate, cadmium orange, molybdenum orange</i> - Pewarna hijau : kromium oksida, kromat hijau, <i>hydrated chromium oxide, phthalocyanine green, permansa green</i> - Pewarna coklat : <i>burnt sienna, burn amber, Vandyke brown</i> - <i>Metal protective pigment</i> : timah merah, timah biru, seng, <i>basic lead, barium potassium chromate</i> 	
<p><i>Pigment extenders : china clay, talk, asbestos, silica, gips, mika, barites, blanc fixe</i></p>	<p>Mengurangi biaya perawatan, ketahanan warna</p>

2.2.2 Dampak inhalasi aerosol cat semprot

Cat merupakan campuran bahan kimia yang sudah dikenal sejak dahulu dan banyak digunakan di berbagai tempat. Cat semprot banyak digunakan di industri-industri mobil, mebel, pesawat, kapal laut, dan industri lain. Paparan cat semprot lebih berbahaya daripada cat kuas karena partikelnya yang kecil dapat tersebar luas. Cat semprot mengubah substansi menjadi aerosol, yaitu kumpulan partikel halus

berupa cair atau padat. Aerosol dengan ukurannya yang kecil akan mudah terhisap, sehingga berpotensi besar menyebabkan kerusakan pada sel-sel saluran napas.⁸

Senyawa cat juga dapat mempengaruhi beberapa organ lain seperti susunan saraf pusat, hati, ginjal, kulit, mata, organ reproduksi, jantung, dan paru. Disamping itu cat semprot yang mengandung hidrokarbon dapat memberikan sensasi euforia atau halusinasi, intoksikasi hidrokarbon juga dapat menyebabkan kelainan paru bahkan kematian.⁸

Aerosol dari cat semprot berupa partikel halus yang dapat terhisap ke dalam saluran nafas. Lokasi deposisi partikel di saluran nafas ditentukan oleh konsentrasi, kelarutan, dan ukurannya. Partikel berukuran 10 μm atau lebih akan mengendap di hidung dan faring, yang berukuran kurang dari 5 μm dapat penetrasi sampai ke alveoli, dan partikel berukuran sedang (5-10 μm) akan mengendap di beberapa tempat di saluran nafas besar. Lokasi deposisi partikel akan memberikan respon atau penyakit yang berbeda. Faktor manusia juga berperan penting dalam berkembangnya penyakit, seperti kebiasaan merokok, kecepatan aliran udara pernafasan, kebersihan gigi dan mulut, serta faktor genetik.⁸

2.2.3 Genotoksisitas kandungan cat semprot

Genotoksisitas dibagi menjadi beberapa macam yaitu mutasi gen, perubahan genom, *clastogenic*, dan *unclassified type*. Genotoksisitas tipe mutasi gen adalah sifat genotoksik yang tidak menimbulkan kerusakan pada rantai DNA tetapi menimbulkan perubahan susunan dari urutan basa nitrogen. Genotoksik perubahan genom adalah genotoksik yang mengakibatkan perubahan seluruh kromosom dalam satu sel seperti terjadinya aneuploidi dan poliploidi.⁶ *Clastogenic* adalah genotoksisitas tingkat kromosom dimana bisa terjadi putusnya rantai kromosom, atau pertukaran lengan kromatid yang dapat menunjukkan gambaran mikronukleus, *binucleated cell*, *nuclear budd*, dan sebagainya.²⁵

Secara garis besar mekanisme kerusakan DNA oleh senyawa genotoksik dibagi menjadi efek kerusakan langsung dan tidak langsung. Pada efek kerusakan langsung, biasanya senyawa genotoksik bersifat elektrofilik dimana senyawa tersebut dapat terikat langsung dengan senyawa nukleofilik seperti DNA, perubahan basa DNA, interkalasi, atau *cross linkage*.^{20,21} Beberapa zat genotoksik yang merusak DNA secara langsung antara lain :

- a. Alkil sulfat
- b. Alkil alkalin sulfonat
- c. Aldehid
- d. Epoksid mustard

Senyawa genotoksik indirek atau yang memiliki efek tidak langsung membutuhkan proses secara kimiawi atau enzimatis untuk dapat merusak DNA. Senyawa genotoksik jenis ini biasanya lebih bersifat lipofilik sehingga memerlukan perubahan lebih lanjut agar bersifat larut air. Dalam proses konversi tersebut terdapat efek samping yaitu terbentuknya senyawa elektrofilik yang mampu merusak rantai DNA seperti halnya senyawa genotoksik langsung. Beberapa senyawa genotoksik tidak langsung antara lain :

- a. Senyawa hidrokarbon alifatik tidak jenuh
- b. Senyawa hidrokarbon aromatik tidak jenuh (PAH)
- c. Timbal
- d. Nitrosamin
- e. Nitrosamid

Pekerja yang menggunakan cat semprot secara terus-menerus terpapar campuran kompleks dari pelarut organik (alifatik, aromatik, klorin), logam (timbal, kromium, cadmium) dan berbagai komponen lain yang berpotensi bersifat mutagen.²⁶

- a. Benzena

Jalan masuk utama benzena ke dalam tubuh adalah melalui inhalasi, walaupun paparan secara oral dan dermal juga mungkin berpengaruh. Benzena terabsorpsi secara cepat melalui inhalasi (70-80% pada manusia) atau paparan oral (>90% pada kelinci dan tikus). Walaupun paparan dermal juga cukup tinggi, namun akan

menguap bersama keringat selama pori-pori kulit tidak tersumbat atau terimersi (dosis terabsorpsi $\pm 0,05\%$). Benzena yang terabsorpsi secara cepat akan didistribusikan ke seluruh tubuh dan cenderung terakumulasi dalam jaringan lemak.²⁷

Fungsi metabolisme benzena yang utama dilakukan oleh hepar dan akan menghasilkan beberapa metabolit reaktif.²⁷ Benzena pertama kali akan dioksidasi oleh sitokrom P450 (CYP) isoenzim 2E1 menjadi *benzene oxide*.²⁸ Perubahan spontan dari *benzene oxide* menghasilkan fenol yang kemudian akan diekskresikan atau dioksidasi oleh CYP menjadi hidrokuinon, lalu akan diekskresikan atau dioksidasi lagi oleh *myeloperoxidase* di sumsum tulang menjadi 1,4-benzoquinon. Selanjutnya *NAD(P)H quinone oxidoreductase 1* mengubah 1,4-benzoquinon menjadi hidroquinon. Kedua metabolit inilah yang bertanggungjawab atas efek toksik benzena yang dapat menghambat topoisomerase II dan fungsi mikrotubulus, memicu stres oksidatif, dan menyebabkan kerusakan DNA.²⁷ Efek kerusakan DNA tersebut memungkinkan terjadinya peningkatan frekuensi terbentuknya mikronukleus.

b. Timbal (*Lead*)

Mekanisme kerusakan DNA akibat timbal sebenarnya masih belum dapat dijelaskan secara pasti. Terdapat beberapa teori mengenai genotoksisitas timbal, salah satunya penelitian Lyn Patrick menyebutkan bahwa kerusakan DNA terjadi secara tidak

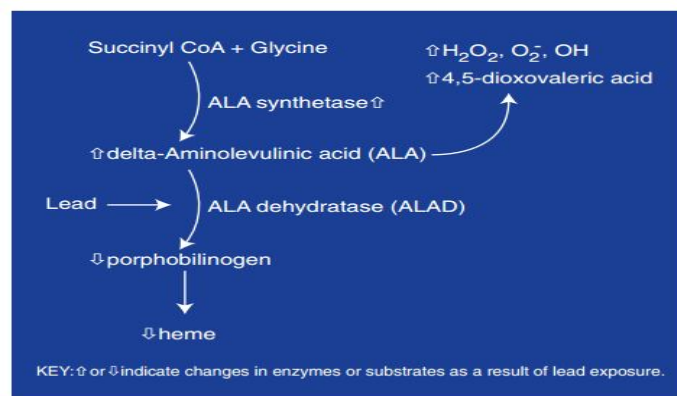
langsung karena timbal mampu memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan mampu menekan glutathion. Peneliti lainnya yaitu Hartwig dkk mengemukakan teori inhibisi perbaikan DNA.²⁹⁻³¹

Dalam artikelnya, Lyn Patrick menjelaskan bahwa timbal dapat menyebabkan kerusakan DNA akibat radikal bebas melalui dua mekanisme yang berbeda, namun masih berhubungan. Timbal berkontribusi dalam pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) seperti hidrogen peroksida (H₂O₂), anion superoksida (O₂⁻), atau bentuk yang paling berbahaya yaitu radikal hidroksil (OH), disamping itu timbal juga dapat mengurangi jumlah cadangan antioksidan alami dalam tubuh.³² Dalam sistem biologi, bila terjadi peningkatan produksi ROS maka jumlah cadangan antioksidan akan berkurang.³⁰

Salah satu efek paparan timbal adalah pada metabolisme glutathion. Glutathion merupakan molekul yang berasal dari asam amino sistein dan terbentuk di dalam limfosit. Dalam perannya sebagai antioksidan, glutathion merupakan substrat yang bertanggungjawab untuk mengikat beberapa jenis obat, toksin, dan radikal bebas lain dalam metabolismenya di dalam hepar.³⁰ Gugus sulfhidril dalam glutathion dapat secara langsung terikat dengan beberapa logam yang memiliki afinitas tinggi dengan sulfhidril, salah satunya timbal. Hal ini dapat mengakibatkan inaktivasi

molekul glutation sehingga tidak dapat mengikat radikal bebas dan pada tahap yang lebih lanjut dapat menyebabkan kerusakan DNA.^{30,33}

Timbal juga dapat berikatan dengan enzim yang memiliki gugus sulfhidril sehingga menyebabkan enzim-enzim tersebut tidak berfungsi dan selanjutnya dapat berkontribusi dalam ketidakseimbangan oksidatif. Salah satunya adalah *aminolevulinic acid dehydrogenase* (ALAD) yaitu enzim yang berperan dalam metabolisme hemoglobin. ALAD adalah enzim yang berperan mengubah *delta-aminolevulinic acid* (ALA) menjadi *prophobilinogen* yang merupakan bahan dasar pembentukan hem. Apabila ALAD diikat oleh timbal maka akan terjadi akumulasi ALA, yang kemudian dapat memicu pembentukan ROS di membran sel. ROS ini berperan dalam perusakan DNA secara langsung.³⁰



Gambar 5. Inhibisi ALAD oleh timbal menyebabkan peningkatan ROS³⁰

Hartwig dkk memiliki pandangan yang berbeda dengan Lyn Patrick. Menurut penelitiannya, timbal saja tidak dapat menginduksi kerusakan rantai DNA pada sel HeLa atau mutasi di lokus HPRT dan pertukaran sister kromatid pada percobaannya terhadap sel hamster. Timbal cenderung akan mengganggu proses perbaikan DNA yang timbul dari induksi sinar *ultra violet* (UV). Hartwig dkk menyatakan bahwa timbal menghambat penutupan rantai DNA yang rusak akibat sinar UV dengan cara mengikat enzim-enzim perbaikan DNA seperti ligase, polimerase, dan kalmodulin. Adanya penghambatan reparasi DNA ini terindikasi dari peningkatan angka mutasi dan pertukaran sister kromatid.³¹

c. *Polyaromatic hydrocarbon* (PAH)

Genotoksisitas PAH bersifat tidak langsung yaitu dengan membentuk metabolit aktif yang mampu berikatan dengan struktur DNA sehingga menimbulkan kerusakan. Ada berbagai macam PAH di dunia ini, namun yang paling berpengaruh terhadap kesehatan manusia adalah *benzo(a)pyrene*.³⁴ Dalam tubuh, PAH akan mengalami metabolisme membentuk suatu molekul yang bersifat genotoksik yaitu *diol epoxide*. Enzim CYP1A1 berperan penting dalam metabolisme ini. Enzim tersebut mengubah *benzo(a)pyrene* menjadi (+)*benzo[a]pyrene-7,8-epoxide*. Kemudian zat tersebut akan diubah lagi oleh enzim *epoxide hydrolase* menjadi (-)*benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol*. Selanjutnya terjadi perubahan

(+)benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol menjadi (+)benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide.³⁵ Molekul inilah yang dikenal dengan *diol epoxide* dan mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan rantai DNA secara kovalen.³⁶ Apabila PAH yang telah berubah menjadi *diol epoxide* terikat pada bagian DNA yang terlibat dalam pembelahan dan tidak dapat diperbaiki, maka bagian DNA tersebut dapat putus ikatannya.

Berbagai jenis PAH mempunyai tingkatan genotoksitas yang berbeda. Terdapat sebuah teori yang dikenal sebagai *The Bay Region Theory* yang menyebutkan bahwa tingkat genotoksitas PAH ditentukan oleh letak dari struktur *diol epoxide* yang terbentuk. Senyawa yang memiliki *diol epoxide* yang di *bay region* dari PAH (ruang antara cincin aromatik PAH) bersifat sangat genotoksik.³⁵⁻³⁶

d. *Cadmium*

Cadmium (II) juga dapat mengganggu proses perbaikan DNA yang rusak akibat induksi *alkylating-agent*. O⁶-metilguanin-DNA metiltransferase (MGMTase) adalah protein yang berperan melindungi sel dari kerusakan DNA sitotoksik dan mutagenik setelah adanya paparan *alkylating-agent* dengan menerima gugus metil dari O⁶-metilguanin, dengan demikian akan dapat mengembalikan kerusakan. Kemudian protein yang termetilasi akan menginduksi biosintesisnya sendiri dengan mengaktifasi proses

transkripsi. *Cadmium (II)* menghambat proses transkripsi ini dengan mengikat sisi aktif gugus metil sehingga proses perbaikan tidak dapat berjalan. Hal ini dapat mengakibatkan penumpukan jumlah DNA yang rusak.³⁷