

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada beberapa tahun terakhir, inovasi berbagai produk berbasis nanoteknologi terus mengalami perkembangan pesat di berbagai bidang.² Di Indonesia, salah satu rekayasa nanoteknologi di bidang agrikultural yang tergolong baru adalah pemanfaatan pupuk nanosilika koloid (NSK) yang mengandung partikel silika berukuran nano. Di sisi lain, paparan inhalasi silika jangka panjang telah dikenal berbahaya karena dapat menyebabkan penyakit akibat terakumulasinya debu silika pada organ paru, yaitu silikosis. Sayangnya, perkembangan nanoteknologi sering tidak diimbangi dengan penelitian tentang kemungkinan efek toksik dan risiko bahaya paparan nanoteknologi, padahal terdapat perbedaan mekanisme toksisitas partikel nano dibandingkan dengan partikel debu pada umumnya.

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.³ 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.^{4,5} 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.⁵ Belum lagi, produk ini juga sekarang sudah dijual secara bebas di pasaran. 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.⁶

Nanosilika koloid merupakan bagian dari nanosilika tipe amorf. Di sisi lain, beberapa penelitian tentang toksisitas nanosilika amorf yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa nanosilika amorf memiliki efek toksik jika diberikan lewat beberapa rute, termasuk inhalasi. Penelitian *in vitro* menunjukkan nanosilika amorf dengan karakteristik ukuran partikelnya yang sangat kecil dapat dengan mudah masuk ke dalam jaringan, menembus membran sel, DNA, dan mitokondria sehingga bersifat sitotoksik.⁷⁻¹⁰ Nanopartikel dapat mengganggu aktivitas sel lewat mekanisme stress oksidatif yaitu produksi berlebihan *reactive oxygen species* (ROS) dan pengaktifan gen pro-inflamasi pada sel.^{8,11,12} 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.⁹ Hal ini memungkinkan dengan mekanisme translokasi

ekstrapulmoner nanopartikel dari alveolus masuk ke dalam pembuluh darah.^{13,14} Selanjutnya, beberapa studi hepatotoksisitas, menyatakan bahwa hepar merupakan salah satu organ target utama biodistribusi nanomaterial pada tubuh.^{9,15}

Studi hepatotoksisitas *in vitro* maupun *in vivo* telah membuktikan adanya efek paparan nanosilika amorf terhadap hepar secara akut, subakut dan kronis yang dipengaruhi oleh rute paparan, sifat fisis dan kimia partikel nanosilika, lama paparan, dan dosis.^{9,12,16-18} Hasil penelitian efek inhalasi nanosilika amorf secara *in vivo* dengan tikus terhadap organ hepar yang telah dilakukan sebelumnya ditemukan kenaikan berat hepar secara signifikan, selanjutnya secara histopatologis ditemukannya degenerasi hidropik, gangguan struktural, apoptosis hepatosit dan infiltrasi sel inflamasi pada periporta. Perubahan ini juga diikuti dengan meningkatnya *liver function test* (ALT, AST, dan ALP), indikator stress oksidatif berupa level lipid peroksida (LPO), penurunan aktivitas enzimatis dari superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), and glutathion (GSH) pada hepar dan indikator metabolik hepar lain.^{9,16,19}

Penelitian untuk tipe nanosilika koloid secara khusus masih sangat terbatas dibandingkan dengan tipe nanosilika amorf pada umumnya, namun terdapat beberapa perbedaan pendapat. Beberapa penelitian menyatakan bahwa nanosilika koloid tidak memiliki efek yang signifikan atau memiliki sifat toksik yang minimal dibanding jenis lainnya.²⁰⁻²³ Namun, penelitian lainnya mengatakan bahwa nanosilika koloid dapat menyebabkan inflamasi sedang hingga berat pada paru, degenerasi, nekrosis dan peningkatan indeks apoptosis jaringan dengan metode inhalasi, juga bersifat lebih *immunogenic sensitizer* dibandingkan dengan

jenis nanosilika *mesoporous*, yang merupakan jenis lain dari nanosilika amorf.²⁴⁻
²⁷ Mengingat produk pupuk nanosilika koloid ini sudah dipasarkan di masyarakat membuat tingginya potensi paparan inhalasi pupuk nanosilika koloid (NSK) pada petani di waktu yang akan datang, dan belum adanya batas peringatan dosis berbahaya yang mungkin terhirup dalam penggunaan pupuk nanosilika koloid (NSK) ini sangat penting untuk diuji dan diketahui efek toksisitas pupuk nanosilika koloid (NSK) secara inhalasi pada organ hepar secara *in vivo* yaitu dengan menggunakan tikus *Wistar* sebagai binatang percobaan untuk keamanan penggunaan ke depannya.

1.2 Masalah Penelitian

1.2.1 Masalah Penelitian Umum

Apakah terdapat pengaruh paparan inhalasi pupuk nanosilika koloid terhadap gambaran histopatologi organ hepar pada tikus *Wistar* jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh paparan pupuk nanosilika koloid secara inhalasi terhadap gambaran histopatologi organ hepar pada tikus *Wistar* jantan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengamati jumlah degenerasi dan nekrosis sel hepar pada tikus *Wistar* jantan dengan paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis 7ml/L, 35 ml/L, dan 175 ml/L.
2. Mengamati derajat infiltrasi sel inflamasi porta pada tikus *Wistar* jantan dengan paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis 7ml/L, 35 ml/L, dan 175 ml/L.
3. Mengamati perbedaan jumlah degenerasi dan nekrosis sel hepar periporta serta derajat infiltrasi sel inflamasi porta pada tikus *Wistar* jantan dengan paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis 7ml/L, 35 ml/L, dan 175 ml/L.
4. Menganalisis dosis yang berpotensi besar menimbulkan perubahan gambaran histopatologi organ hepar tikus *Wistar* jantan pada paparan inhalasi pupuk nanosilika dosis bertingkat dengan dosis 7 ml/L, 35 ml/L, dan 175 ml/L.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk ilmu pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keamanan pupuk nanosilika koloid dengan menguji efek paparan secara inhalasi terhadap organ hepar.

1.4.2 Manfaat untuk masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat perlunya suatu produk diuji dan informasi terhadap keamanan penggunaan pupuk nanosilika koloid.

1.4.3 Manfaat untuk penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya khususnya mengenai uji keamanan produk pupuk nanosilika koloid terhadap kesehatan.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Peneliti dan Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
1.	A. Parveen, S. H. M. Rizvil, A. Gupta, R. Singh1, I. Ahmad , F. Mahdi And A. A. Mahdi. ⁹ <i>NMR-Based Metabonomics Study Of Sub-Acute Hepatotoxicity Induced By Silica Nanoparticles In Rats After Intranasal Exposure.</i> 2012	Binatang coba berupa 18 tikus <i>Wistar</i> dibagi menjadi 3 kelompok (6 tikus setiap kelompok) dengan metode instilasi intranasal: 1. Kontrol: 50 ul cairan saline fisiologis 2. Perlakuan 1: 50 ul suspensi 10 nm silika nanopartikel dengan konsentrasi 3ug/ul dosis 150 ug 3. Perlakuan 2: 50 ul suspense 80 nm silika nanopartikel dengan konsentrasi 3 ug/ul dosis 150 ug Perlakuan selama 90 hari. Lalu diambil sampel darah 2ml dan spesimen hepar.	Perubahan signifikan pada indikator stress oksidatif hepar, yaitu peningkatan lipid peroksidase, dan penurunan pada aktivitas enzimatik superoksida dismutase (SOD), Katalase (CAT), dan Glutathione (GSH). Perubahan histologi hepar berupa degenarasi vakuoler. Peningkatan liver function test berupa aminotransferases (ALT/AST) dan alkaline phosphatase (ALP).
2.	Wen Cao, MS,	Sejumlah 72 tikus <i>Wistar</i> dibagi	Dibandingkan dengan grup

<p>Yajing Zhou, MS, Yingmei Niu, MD, Xiaoli Zhu, MD, Yuguo Song, MD, Ruijun Guo, MS.¹⁶</p> <p><i>Quantitative Analysis of Hepatic Toxicity in Rats Induced by Inhalable Silica Nanoparticles Using Acoustic Radiation Force Imaging.</i> 2017</p>	<p>menjadi 9 kelompok (8 tikus setiap kelompok) dan dipapar dengan nanosilka (ukuran 20 nm) berbagai konsentrasi (dengan saline fisiologis) metode instilasi faringeal:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol blank: Tidak diberi perlakuan 2. Kontrol saline: 1ul saline fisiologis 3. Kontrol PPE: 1 ul polyacrylate (PPE) 4. Perlakuan 1: 1 ul nanosilika dengan konsentrasi 25% 5. Perlakuan 2: 1 ul nanosilika dengan konsentrasi 50% 6. Perlakuan 3: 1 ul nanosilika dengan konsentrasi 100% 7. Perlakuan 4: 1 ul SiNP/PPE konsentrasi 25% 8. Perlakuan 5: 1 ul SiNP/PPE konsentrasi 50% 9. Perlakuan 6: 1 ul SiNP/PPE konsentrasi 100% <p>Perlakuan selama 28 hari. Dilakukan pengukuran kepadatan organ dengan acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) pada hari ke 3,7,14, 21, 28, sampel darah dan pengambilan sampel organ hepar.</p>	<p>kontrol, hasil imaging ARFI dan nilai serum ALT pada grup dengan paparan SiNP dan SiNP/PPE mengalami peningkatan signifikan. Perubahan ini dipengaruhi dosis dan waktu paparan. Pada gambaran histopatologis hepar ditemukan degenerasi vacuolar, infiltrasi sel inflamasi pada periporta, dan gangguan structural hepar.</p>
<p>3. Jae Hoon Shin, KiSoo Jeon, Jin Kwon Kim, Younghun Kim, Mi Seong Jo, Jong Seong Lee, Jin Ee Baik, Hye Seon Park, Hyo Jin An, Jung Duck Park,</p>	<p>Tikus Sprague-Dawley dibagi menjadi 4 kelompok dengan target konsentrasi sebagai berikut:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol: tidak diekspos SiNP 2. Rendah: diekspos aerosol SiNP 0.30 mg/m³ 3. Sedang: diekspos aerosol 1.25 mg/m³ 	<p>Penurunan berat badan reversibel, peningkatan level sel darah merah, dan konsentrasi hemoglobin. Pada pemeriksaan histopatologi paru ditemukan tanda inflamasi dan pada cairan bronkoalveolar ditemukan leukosit polimorfonuklear,</p>

<p>Kangho Ahn, Seung Min Oh & Il Je Yu.¹⁹ <i>Subacute inhalation toxicity study of synthetic amorf silica nanoparticles in Sprague-Dawley rats. 2018</i></p>	<p>4. Tinggi: diekspos aerosol 5 mg/m³ Paparan dilakukan selama 4 minggu (6 jam per hari, 5 hari per minggu) dengan teknik nose only inhalation chamber. Setelah hari ke 28, specimen diambil dari binatang coba pada hari ke 1, 7, 28 setelah paparan berupa sampel cairan Bronkoalveolar dan organ paru, penimbangan organ lain.</p>	<p>laktat dehydrogenase, albumin dan protein, namun dalam jumlah yang tidak signifikan. Ditemukan kenaikan berat organ yang signifikan pada hepar dan ginjal kiri.</p>
<p>4. Tokuyuki Yoshida, Yasuo Yoshioka, Saeko Tochigi, Toshiro Hirai, Miyuki Uji, Ko-ichi Ichihashi, Kazuya Nagano, Yasuhiro Abe, Haruhiko Kamada, Shin-ichi Tsunoda, Hiromi Nabeshi, Kazuma Higashisaka, Tomoaki Yoshikawa and Yasuo Tsutsumi.²⁸ <i>Intranasal exposure to amorf nanosilica particles could activate intrinsic coagulation cascade and platelets in mice. 2013</i></p>	<p>Mencit BALB/c dibagi menjadi 6 kelompok dan dipapar dengan nanosilika berbagai ukuran, yaitu, kelompok kontrol, ukuran 30 nm, 70 nm, 100 nm, 300 nm, 1000 nm dengan konsentrasi/dosis 500 ug dan volume 20 ul. Paparan dilakukan selama 7 hari dan specimen darah, organ diambil 24 jam setelah paparan terakhir dan pengukuran in vivo transmission electron microscopy.</p>	<p>Pada gambaran in vivo transmission electron microscopy, ditemukan bahwa partikel ukuran <100 nm diabsorpsi melalui kavitas nasal dan di distribusikan ke hepar dan otak. Pada uji darah dan koagulasi, menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah platelet, pengaktifan factor VIII koagulasi, pemanjangan waktu aktivasi tromboplastin parsial yang menunjukkan bahwa ada aktivasi kaskade koagulasi pada ukuran partikel <100 nm. Juga didapatkan sedikit peningkatan pada factor Von Willebrand yang berbanding terbalik dengan ukuran partikel. Pada pemeriksaan histopatologi organ, dihitung jumlah agregasi sel pada kavitas nasal, liver dan otak namun tidak menunjukkan hasil yang signifikan.</p>

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dikarenakan terdapat perbedaan pada jenis nanosilika yang diberikan, lama paparan, dosis dan jenis tikusnya. Pada penelitian ini perlakuan yang diberikan adalah paparan secara

inhalasi dari Pupuk nanosilika koloid secara subakut dengan dosis bertingkat pemakaian pupuk lazim dan pengaruhnya terhadap mikroskopik hepar yaitu gambaran degenerasi dan infiltrasi sel inflamasi.