

Perubahan Struktur Mikroanatomi Intestinum dan Hepar Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) karena Pemberian Logam Berat Zn

Hirawati Muliani

Jurusan Biologi FMIPA UNDIP SEMARANG

Diterima Agustus 2005 disetujui untuk diterbitkan September 2006

Abstract

Heavy metal Zn comes into waters from paint and textile factories that have not adequately treated their waste. Small amount of Zn is necessary for metabolic activity of aquatic organisms, but it may cause toxicity when presents in abundance. This study was conducted to know differences between Zn effects on microanatomy structures of intestine and those on liver of Cyprinus carpio. The treatments arranged in a Completely Randomized Design (CRD) consisted of 0 ppm (control), 2 ppm, 4 ppm, and 6 ppm of Zn, which were applied respectively for 96 hours and replicated five times. The observed parameters were height of columnar epithelial cells of intestine and hepatocyte diameter. Data were analysed with F test followed by Least Significant Difference (LSD). The results showed that there was significant difference among treatments indicating that Zn affected microanatomy structures of intestine and liver of the fish. Increase in height of columnar epithelial cells of intestine was recorded to begin at level of 4 ppm, while that in hepatocyte diameter was found to begin at level of 6 ppm.

Key words: Zn, microanatomy structure, intestine, liver, toxicity, Cyprinus carpio

Pendahuluan

Dewasa ini masih banyak limbah industri yang dibuang langsung ke sungai-sungai atau perairan di sekitarnya. Hal ini dapat menyebabkan menurunnya kualitas air di perairan atau sungai tersebut. Perubahan sifat fisika dan kimia air akan mempengaruhi kondisi organisme yang hidup di perairan. Salah satu bahan pencemar yang dihasilkan dari limbah pabrik cat atau tekstil adalah logam berat Zn. Dalam jumlah kecil Zn sebenarnya dibutuhkan untuk aktivitas metabolisme ikan, tetapi dalam jumlah besar logam ini dapat bersifat toksik.

Logam berat Zn menempati golongan transisi II B di dalam daftar berkala unsur-unsur. Logam ini berwarna putih kebiruan, setengah keras, dan kristalnya berbentuk prisma dan piramid heksagonal. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ adalah senyawa yang mengandung Zn, mempunyai stabilitas relatif tinggi, dan mudah larut sehingga banyak digunakan untuk kepentingan farmasi. Daya racun Zn lebih rendah bila dibandingkan dengan logam berat lainnya. Keberadaannya esensial bagi setiap makhluk hidup karena terdapat bersama dengan enzim dan berperan dalam proses pematangan seksual dan sistem reproduksi (Huheey, 1983). Menurut Mance (1990) konsentrasi letal (LC50) 96 jam Zn pada ikan adalah 7,8 ppm. Zn dan unsur-unsur logam berat lainnya masuk ke dalam tubuh ikan melalui tiga cara, yaitu rantai makanan, insang, dan difusi melalui permukaan kulit. Pemasukan logam berat diatur secara difusi dan kemudian diikat oleh protein sel (Afiati, 1985).

Dari sudut fisiologi diet, ikan dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu ikan tanpa lambung dan ikan yang mempunyai lambung. Ikan mas (*Cyprinus carpio*) termasuk dalam golongan ikan tanpa lambung yang secara umum merupakan ikan nonpredator dan tidak mempunyai gigi di dalam rongga mulutnya. Pada ikan mas terdapat gigi faringeal yang berfungsi untuk memadatkan makanan. Rongga mulut ikan ini tidak mempunyai kelenjar ludah. Saluran pencernaannya terdiri atas esofagus yang sangat pendek dan tidak dapat dipisahkan dengan jelas dari lambung dan intestinum. Pada ikan dewasa panjang intestinum mencapai 2,5 hingga 3 kali panjang badannya. Struktur mikroanatomi

intestinum terdiri atas epitelium kolumner, membran mukosa, lapisan muskulus, dan serosa (Steffens, 1989).

Epitelium kolumner pada intestinum merupakan lapisan tunggal yang mengandung sel-sel goblet penghasil mukus. Sekresi mukus yang berlangsung secara kontinyu berfungsi untuk melindungi epitelium tersebut. Sementara itu, membran mukosa pada ikan muda tetap halus, tetapi dengan bertambahnya umur akan terjadi lipatan-lipatan longitudinal, zig-zag, dan retikulatus sehingga terbentuk struktur seperti spons dan permukaan intestinum dapat diperluas. Duktus biliferus dan duktus pankreatikus bermuara pada bagian awal intestinum (Steffens, 1989).

Hepar adalah organ terbesar di dalam tubuh dan terletak pada rongga abdomen. Sebagian besar darah di dalam hepar berasal dari vena porta. Melalui vena porta semua zat yang diabsorpsi melalui usus mencapai hepar. Letak hepar cocok untuk mengumpulkan, mengubah, menimbun metabolit, dan menetralkan serta menghilangkan zat-zat toksik.

Unit struktural utama hepar adalah sel-sel hepar atau hepatosit. Hepatosit ini berkelompok dalam tali-tali yang saling berhubungan dengan cara tertentu sehingga terbentuk unit struktural yang disebut dengan lobus hepar. Hepar pada ikan mas terdiri atas empat lobus. Sementara itu, sinusoid adalah saluran di antara tali-tali tersebut yang di dalamnya akan terjadi penapisan darah dalam perjalanannya menuju vena hepatica. Sinusoid lebih besar dan lebih tidak teratur daripada kapiler. Ada dua macam sel di dalam sinusoid, yaitu sel endotelial dan sel Kupffer. Sel-sel endotelial adalah sel pembatas sinusoid yang tipis dan tidak kontinyu karena adanya sejumlah fenestra. Sel Kupffer terletak di dalam lumen sinusoid dan merupakan tempat makrofag hepar, terutama berfungsi sebagai pencerna zat-zat tertentu. Sel-sel endotelial dipisahkan dari hepatosit yang berdekatan oleh celah Disse. Di daerah ini permukaan sel cenderung mempunyai mikrofili. Di dalam celah Disse terdapat sel Ito, yang berfungsi sebagai penyimpan lemak (Bevelander, 1970; Robert, 1976; Steffens, 1989; Klassen, 2001).

Banyak faktor yang dapat menyebabkan kerusakan sel, antara lain defisiensi oksigen atau bahan makanan, faktor fisika, agen-agen menular yang hidup, dan agen kimia berupa zat-zat toksik dari luar sel atau akumulasi zat-zat endogen. Sel-sel yang mengalami kerusakan dapat diamati dari perubahan struktur mikroanatominya (Price dan Wilson, 1984). Pada penelitian akan dipelajari perubahan struktur mikroanatominya pada intestinum dan hepar yang mengalami kerusakan akibat pengaruh Zn. Oleh karena fungsi intestinum berbeda dengan fungsi hepar, diduga perubahan struktur mikroanatominya pada kedua organ tersebut akan berbeda pula.

Materi dan Metode

Hewan percobaan yang digunakan adalah 24 ekor ikan mas jantan dengan ukuran panjang awal 19 hingga 22 cm dan diaklimasi selama tujuh hari. Kemudian, hewan uji ini dipaparkan pada empat macam perlakuan sebagai berikut.

T0 = kontrol

T1 = Zn konsentrasi 2 ppm

T2 = Zn konsentrasi 4 ppm

T3 = Zn konsentrasi 6 ppm

Konsentrasi perlakuan Zn yang digunakan adalah konsentrasi di bawah LC50 96 jam terhadap ikan (Mance, 1990).

Perlakuan diberikan selama 96 jam dan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAK) dengan ulangan sebanyak lima kali. Selama perlakuan, diberikan pakan dalam bentuk pelet tiga kali sehari dan aerasi menggunakan aerator. Persifonan dilakukan setiap pagi dan sore hari, diikuti oleh penambahan air agar konsentrasi Zn tetap sama dengan konsentrasi sebelum dilakukan persifonan.

Setelah perlakuan selesai, intestinum dan hepar ikan diisolasi dan dibuat preparat mikroskopisnya dengan metode parafin dan pewarnaan hematoksilin eosin. Parameter yang diamati adalah tinggi sel epitelium kolumner yang melapisi intestinum dan diameter

hepatosit. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan tinggi sel epitelium kolumner yang melapisi intestinum dan diameter hepatosit pada ikan mas yang diberi perlakuan logam berat Zn selama 96 jam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tinggi sel epitelium kolumner intestinum dan diameter hepatosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) setelah pemberian logam berat Zn selama 96 jam

Table 1. Height of columnar epithelial cells of intestine and hepatocyte diameter of carp (*Cyprinus carpio*) after heavy metal Zn application for 96 hours

| Variabel yang Diamati | Perlakuan | | | |
|---|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | T ₀ | T ₁ | T ₂ | T ₃ |
| Rata-rata tinggi sel epitelium kolumner intestinum (mikron) | 76,00 ^a | 96,00 ^a | 112,00 ^b | 136,00 ^c |
| Rata-rata diameter hepatosit (mikron) | 4,20 ^a | 4,46 ^a | 4,47 ^a | 4,90 ^b |

Angka yang diikuti oleh superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P < 0,05$)

Dari rata-rata tinggi sel epitelium kolumner intestinum terlihat bahwa makin tinggi konsentrasi Zn, makin tinggi sel epitelium kolumner. Hasil analisis dengan uji F menunjukkan adanya beda nyata antarperlakuan sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian logam berat Zn berpengaruh terhadap tinggi sel epitelium kolumner intestinum ikan mas.

Hasil pemeriksaan semua preparat mikroskopis irisan melintang intestinum ikan mas yang diperlakukan dengan logam berat Zn menunjukkan adanya perbedaan struktur secara bertingkat. Pada kontrol (T₀) nampak bahwa tinggi sel epitelium tubuler pada intestinum adalah 76 mikron. Baik nukleus maupun sitoplasma terlihat masih normal. Pada perlakuan 2 ppm nampak bahwa sel epitelium intestinum lebih tinggi daripada sel epitelium intestinum pada kontrol (T₀) meskipun secara statistik perbedaan ini tidak nyata.

Mekanisme pertambahan tinggi sel epitelium tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut. Dalam cairan tubuh terdapat berbagai macam elektrolit, antara lain ion Na dan ion Cl yang berada di luar sel, serta ion K yang berada di dalam sel. Pada jaringan normal, muatan elektrolit di dalam dan di luar sel berada dalam keadaan setimbang. Untuk mencapai kesetimbangan tersebut, sel melakukan mekanisme pompa ion Na dan ion K menggunakan energi yang berasal dari metabolisme basal. Akan tetapi, menurut Heath (1987), adanya logam berat Zn di dalam sel akan mengganggu proses osmoregulasi. Dalam hal ini Zn menghambat aktivitas enzim Na-K-ATPase pada sel epitelium intestinum dalam mengalirkan ion Na ke luar sel. Keberadaan ion Na di dalam sel mengakibatkan terjadinya influks air ke dalam sel karena adanya osmosis sehingga terjadi perubahan morfologi sel yang disebut dengan pembengkakan (Price dan Wilson, 1984). Pada sel epitelium intestinum pembengkakan ini ditunjukkan oleh penambahan tinggi sel.

Pada perlakuan Zn 4 ppm nampak bahwa sel epitelium intestinum lebih tinggi daripada sel epitelium pada kontrol dan pada perlakuan 2 ppm. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tinggi sel epitelium pada perlakuan 4 ppm berbeda nyata dengan tinggi sel epitelium intestinum pada kontrol dan pada perlakuan 2 ppm. Terlihat pula bahwa sitoplasma sel epitelium intestinum pada perlakuan 4 ppm sedikit bergranula.

Pada perlakuan 4 ppm tersebut influks air ke dalam sel makin bertambah karena terjadinya peningkatan logam berat Zn yang masuk ke dalam sel. Air yang masuk ke dalam sel akan tertimbun di dalam sitoplasma dan akan diserap pula oleh organel di dalam sitoplasma. Hal ini menyebabkan terjadinya pembengkakan mitokondria, retikulum

endoplasma, dan organel lainnya di dalam sitoplasma, yang pada pengamatan mikroskopis terlihat seperti adanya granula dalam sitoplasma (Price dan Wilson, 1984; Furness dan Rainbow, 1987).

Pada perlakuan Zn 6 ppm nampak bahwa sel epitelium intestinum paling tinggi daripada sel epitelium intestinum pada semua perlakuan lainnya. Dari hasil analisis statistik ternyata tinggi sel epitelium intestinum pada perlakuan 6 ppm berbeda nyata dengan tinggi sel epitelium intestinum pada semua perlakuan lainnya. Terlihat pula bahwa granula sitoplasmik sel epitelium intestinum pada perlakuan 6 ppm ini lebih banyak bila dibandingkan dengan granula sitoplasmik pada perlakuan 4 ppm.

Banyak sel goblet pada lapisan epitelium intestinum yang nampak membesar akibat perlakuan Zn 6 ppm. Sel goblet adalah sel yang menghasilkan mukus untuk melindungi intestinum dari pengaruh yang merugikan (Steffens, 1989). Diduga pada ikan mas yang mengalami perlakuan Zn 6 ppm ini sel-sel goblet memperbanyak produksi mukus untuk melindungi intestinum sehingga sel-sel tersebut nampak membesar. Menurut Burkitt *et al.* (1999) jika sel mengalami peningkatan aktivitas fungsional, maka ukurannya akan bertambah besar.

Dari hasil analisis data diameter hepatosit ternyata bahwa diameter hepatosit pada perlakuan Zn 2 ppm dan 4 ppm tidak berbeda nyata dengan diameter hepatosit pada kontrol. Sementara itu, pada perlakuan 6 ppm terdapat beda nyata diameter hepatosit dengan ketiga perlakuan yang lain. Hal ini berarti bahwa konsentrasi 2 ppm dan 4 ppm tidak mempengaruhi struktur mikroanatomi hepar ikan mas karena hepar masih mampu mendetoksifikasi Zn. Mekanisme detoksifikasi hepar tersebut dilakukan oleh metalotionein yang terdapat di dalam sel Kupffer pada sinusoid hepar. Metalotionein adalah suatu protein pengikat logam yang mempunyai berat molekul rendah dan kaya akan gugus sulfhidril karena mempunyai banyak sistein dalam molekulnya. Gugus sulfhidril tersebut merupakan pengikat berafinitas tinggi untuk beberapa logam toksik esensial dan nonesensial seperti Cd, Cu, Hg, Ag, dan Zn (Heath, 1987; Klaassen, 2001).

Pada ikan terdapat beberapa organ yang memperlihatkan fungsi metalotionein. Namun, hepar adalah organ dengan fungsi metalotionein yang utama (Heath, 1987). Oleh karena itu, meskipun konsentrasi Zn 4 ppm telah menyebabkan perubahan struktur mikroanatomi pada intestinum ikan mas, struktur mikroanatomi hepar nya ternyata belum terpengaruh karena hepar mempunyai banyak metalotionein di dalam sel Kupffer.

Logam Zn dibawa oleh darah setelah diabsorpsi melalui sel epitelium intestinum dalam bentuk ion. Zn diangkut di dalam darah dengan cara diikat pada sel darah merah dan oleh protein dengan berat molekul tinggi di dalam plasma, khususnya albumin, kemudian didistribusikan ke hepar. Di dalam hepar Zn menginduksi sintesis metalotionein dan kemudian akan disimpan dalam hepar dalam bentuk kompleks Zn-metalotionein atau diangkut melalui darah ke ginjal. Kompleks Zn-metalotionein akan berakumulasi di dalam lisosom. Kompleks Zn-metalotionein di dalam lisosom secara perlahan-lahan dikatabolisis menjadi Zn yang tidak berikatan dengan metalotionein tetapi dapat berikatan kembali dengan metalotionein atau dapat menginduksi toksisitas renal (Klaassen, 2001). Zn yang berikatan dengan metalotionein dalam jaringan bersifat tidak toksik. Ekskresi Zn bebas dilakukan melalui urin secara proporsional dengan beban tubuh. Meskipun ekskresi melalui gastrointestinal, yaitu melalui bilus dalam bentuk kompleks glutasi, mungkin terjadi pada mamalia, hal ini tidak terjadi pada ikan (Heath, 1987; Klaassen, 2001). Apabila kondisi sel jenuh dengan logam berat dan batas toleransi terlampaui, maka Zn akan bersifat toksik (Furness dan Rainbow, 1987).

Pada konsentrasi Zn 6 ppm terlihat bahwa hepatosit membesar dan diameternya berbeda nyata dengan diameter hepatosit pada ketiga perlakuan yang lain. Pembengkakan hepatosit ini terjadi karena masuknya ion Zn ke dalam sel telah melebihi batas toleransi sehingga mekanisme detoksifikasi Zn tidak berarti lagi. Hal ini juga dipengaruhi oleh mekanisme pompa sodium, yaitu bahwa ion Na yang masuk ke dalam sel tidak dapat dipompa ke luar sel karena enzim yang membawa ion Na keluar sel telah berikatan dengan Zn. Pada akhirnya, ion Na terakumulasi di dalam sel dan menyebabkan

terjadinya influks air ke dalam sel melalui peristiwa osmosis. Influks air tersebut menyebabkan terjadinya pembengkakan sel (Price dan Wilson, 1984).

Pada konsentrasi Zn 6 ppm tersebut terlihat pula bahwa sitoplasma hepatosit bervakuola. Hal ini karena sebagian organel sitoplasma seperti retikulum endoplasma dan mitokondria juga menyerap air dan berubah menjadi kantung-kantung berisi air yang dalam pengamatan mikroskopik nampak sebagai vakuola (Price dan Wilson, 1984).

Kesimpulan

Logam berat Zn menyebabkan terjadinya perubahan struktur mikroanatomi intestinum dan hepar ikan mas. Perubahan struktur mikroanatomi intestinum mulai terjadi pada konsentrasi Zn 4 ppm, sedangkan perubahan struktur mikroanatomi hepar mulai terjadi pada konsentrasi Zn 6 ppm.

Daftar Pustaka

- Afiati, N., 1985. Kandungan Logam Berat *Anadara granulosa bisinensis* di Perairan Kotamadia Semarang. Laporan Penelitian Lemlit UNDIP, Semarang.
- Bevelander, G. 1970. Essentials of Histology 6th Edition. The CV Mosby Company, Saint Louis.
- Burkitt, H.G., B. Young, and J.W. Heath., 1999. Weather's Functional Histology. A Text and Colour Atlas 3rd Edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Furness, R.W. and P.S. Rainbow, 1987. Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press Inc., Florida.
- Heath, A.G., 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press Inc., Florida.
- Huheey, J.E., 1983. Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity. Harper International, New York.
- Klaassen, C.D. 2001. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. McGraw Hill Publishing Divisions, New York.
- Mance, G., 1990. Pollution Threat of Heavy Metal in Aquatic Environments. Elsevier Science Publisher Ltd., New York.
- Price, A.S. and M.L, Wilson. 1984. Patofisiologi. Terjemahan. Ebic Medical Publisher, Jakarta.
- Robert, R.J. 1976. Fish Pathology. Press Aberdeen, Scotland.
- Steffens, W. 1989. Principles of Fish Nutrition. Ellis Horwood Limited Publishers, Chichester.