

Evaluasi Struktur Histologi Hati dan Paru-Paru Mencit yang Diinduksi Karbon Tertraklorida (CCl₄)

Evaluation of the Microanatomical Structure of the Liver and Lungs of Mice Induced by Carbon Tetrachloride (CCl₄)

Nur Aini Hidayah Khasanah*, Fajar Husen

Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Bina Cipta Husada, Purwokerto, Indonesia

*Corresponding author, Email: nuraini@stikesbch.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 12/09/2024

Disetujui : 24/12/2024

Abstract

Carbon tetrachloride (CCl₄) is a chemical compound that is hepatotoxic but is still used in several industries. Absorption can occur through various routes, including oral, intravenous, intraperitoneal, and inhalation. The liver, lungs, testicles, and kidneys can experience histological structural damage due to CCl₄ exposure. This study aims to evaluate the histological structure of the liver and lungs of CCl₄-induced mice through the oral route. The research design used was experimental, using 3-month-old Balb/c mice with a weight of 30 grams. CCl₄+DMSO is administered orally through the gastric sonde. The treatment was divided into 4 groups: group 1) negative control (without CCl₄ induction), groups 2, 3, and 4 with CCl₄ induction concentrations of 10, 20, and 30%, respectively. On the 15th day, the mice were dissected, and the liver and lung organs were removed. Preparation was made with hematoxylin-eosin staining. It was found that there were changes in the histology of the liver of mice in the form of pyknotic nucleus, karyolysis, congestion, vacuolation, central venous and sinusoidal dilatation, as well as infiltration of inflammatory cells that became heavier and expanded with the increase in the concentration tested. Evaluation of the mice's lung histology showed no congestion in the pulmonary parenchyma, thickening of the interalveolar septa, or infiltration of mononuclear cells in the pulmonary parenchyma in all the tested groups. It was concluded that CCl₄ administered orally at concentrations of 10, 20, and 30% was not enough to damage the lungs, in contrast to the damage caused to the liver.

Key Words: CCl₄, hepatocytes, histology, liver, lung

Abstrak

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan senyawa kimia yang bersifat hepatotoksik namun masih digunakan pada beberapa industri. Absorpsinya dapat terjadi melalui berbagai rute baik oral, intravena, intraperitoneal maupun inhalasi. Organ hati, paru-paru, testis dan ginjal dapat mengalami kerusakan struktur histologi akibat paparan CCl₄. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi struktur histologi hati dan paru-paru mencit yang diinduksi CCl₄ melalui rute oral. Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental* menggunakan mencit Balb/c berusia 3 bulan dengan bobot 30 gram. CCl₄+DMSO diberikan per oral melalui sonde lambung. Perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok: kelompok 1) kontrol negatif (tanpa induksi CCl₄); kelompok 2, 3 dan 4 masing-masing dengan induksi CCl₄ konsentrasi 10, 20 dan 30%. Hari ke-15, mencit dibedah dan diambil organ hepar dan paru-paru. Dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan hematoxylin eosin. Didapati adanya perubahan histologi hati mencit berupa inti piknotik, kariolisis, kongesti, vakuolasi, dilatasi vena sentral dan sinusoid serta infiltrasi sel radang yang semakin berat dan meluas dengan makin bertambahnya konsentrasi yang diujikan. Evaluasi histologi paru-paru mencit menunjukkan tidak ada kongesti pada parenkim paru, penebalan septa interalveolar dan infiltrasi sel mononuklear di parenkim paru pada semua kelompok yang diujikan. Disimpulkan bahwa CCl₄ yang diberikan per oral pada konsentrasi 10, 20 dan 30% tidak cukup merusak paru-paru, berbeda dengan kerusakan yang ditimbulkan pada hati.

Kata kunci: CCl₄, histologi, hepatosit, histologi, paru

PENDAHULUAN

Hati merupakan organ vital bagi manusia dan hewan. Hati berperan sebagai pusat homeostasis metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks, terutama dalam mendetoksifikasi zat-zat toksik (Rosida, 2016). Peran hati dalam detoksifikasi menjadikan hati rentan terhadap cedera (Fahrudin *et al.*, 2020). Paparan virus hepatitis B dan hepatitis C, konsumsi alkohol dan obat-obatan, penyakit metabolik, berbagai zat toksik dan radikal bebas merupakan penyebab terbanyak cedera hati, yang

dalam prosesnya dapat mendistorsi aktivitas metabolisme hati hingga menyebabkan gagal hati akut (Ojeaburu & Oriakhi, 2021).

Salah satu agen yang diketahui dapat menyebabkan cedera hati karena bersifat hepatotoksik adalah karbon tetraklorida (CCl₄). CCl₄ merupakan senyawa organik yang tidak berwarna, mudah menguap dan berbau manis yang mirip dengan kloroform. Meskipun CCl₄ bersifat toksik namun masih digunakan di berbagai industri, seperti

pemadam kebakaran, bahan pendingin dan pembersih pakaian. Absorpsi CCl_4 dapat melalui banyak rute seperti melalui gastrointestinal, respirasi, kulit maupun laktasi (US EPA, 2017).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian CCl_4 secara oral maupun intravena menyebabkan nekrosis hati, fibrosis dan sirosis pada hewan uji (Ojeaburu & Oriakhi, 2021). Arrak et al. (2013) membuktikan bahwa CCl_4 mempengaruhi jaringan hati dan menyebabkan lesi histopatologis dengan peningkatan enzim hati khususnya ALT dan AST, dengan efek akumulatif dan tingkat kerusakannya tergantung pada konsentrasi dosis yang diberikan. EL Sayed et al. (2019) mengemukakan bahwa injeksi intraperitoneal CCl_4 pada tikus menyebabkan fibrosis hati dan memberikan efek patologis yang signifikan pada stroma hati dan parenkim. Sari dan Nawawi (2023) mendapati induksi CCl_4 menyebabkan degenerasi sentralobular hingga adanya nekrosis, ditandai dengan perubahan mikroanatomi hepar seperti terjadinya piknotik, karioreksis, serta adanya droplet lipid pada sitoplasma.

Meskipun sebagian besar kerusakan akibat induksi CCl_4 terjadi di hati, namun metabolit CCl_4 juga dapat memasuki aliran darah dan merusak organ lain, termasuk paru-paru. Hal ini dikarenakan CCl_4 menimbulkan stress oksidatif pada berbagai organ, seperti hati, ginjal, paru-paru dan testis (Khalil et al., 2020). Radikal bebas yang sangat berbahaya yaitu radikal trichloromethoxyl ($\text{CCl}_3\text{O}^\cdot$) dan peroxytrichloromethyl ($\text{CCl}_3\text{OO}^\cdot$) dihasilkan oleh metabolisme CCl_4 oleh sitokrom P_{450} dalam jaringan. Radikal bebas triklorometil menginisiasi peroksidasi lipid pada membran retikulum endoplasma dan menyebabkan kerusakan oksidatif pada berbagai organ (Khalil et al., 2020). Das et al. (2014) mendapati adanya peningkatan pengendapan matriks ekstraseluler di paru-paru mencit sirosis yang diinduksi CCl_4 melalui injeksi subkutan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi apakah mencit yang diinduksi CCl_4 melalui rute oral menunjukkan bukti perubahan histologis pada hati dan paru-paru, serta melihat bagaimana tingkat kerusakan pada tiap perlakuan yang diujikan. Penelitian ini menggunakan mencit sebagai hewan model karena mencit merupakan hewan yang biasa digunakan dalam penelitian yang hasilnya dapat diperkirakan untuk manusia.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto pada bulan April hingga Juni 2024.

Bahan yang digunakan meliputi: 24 ekor mencit Balb/c, sekam, pakan mencit, CCl_4 , larutan dimetil sulfoksida (DMSO), NBF 10%, aquades, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, paraffin, eosin, xylol, entelan.

Alat-alat yang digunakan dari: kandang tikus, tempat minum, baki, satu set alat bedah, timbangan hewan, sonde, *beaker glass*, gelas ukur, spatula, batang pengaduk, pinset, termometer ruangan, *waterbath*, mikrotom, *object glass*, *cover glass*, *cassete*, *base mold*, *box prepare*, mikroskop.

Penelitian eksperimental ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), 4 perlakuan dengan 6 ulangan. Perhitungan besar sampel mengacu pada rumus Federer yaitu: $(t - 1)(n - 1) \geq 15$, dimana t: jumlah kelompok perlakuan dan r: besar sampel tiap kelompok. Adapun perlakuan yang dicobakan adalah CCl_4 dengan konsentrasi berbeda. Pembagian kelompok percobaan mengacu pada (Fahrudin et al., 2020) yaitu: S= tanpa perlakuan CCl_4 , hanya diberi aquades; K1= diberikan CCl_4 konsentrasi 10%; K2= diberikan CCl_4 konsentrasi 20%; K3= diberikan CCl_4 konsentrasi 30%.

Pembuatan Larutan Induksi Karbon Tetraklorida (CCl_4)

Pembuatan suspensi larutan CCl_4 dilakukan dengan mencampurkan larutan DMSO dengan CCl_4 dengan perbandingan 1:10 (sebagai suspensi dasar). Larutan CCl_4 yang akan digunakan terdiri dari tiga konsentrasi utama yaitu 10%, 20%, dan 30%. Suspensi 10% didapatkan dengan melakukan homogenisasi CCl_4 sebanyak 1 mL pada 10 mL DMSO, suspensi 20% didapatkan dengan melarutkan 2 mL pada 10 mL DMSO, dan suspensi 30% didapatkan dengan menghomogenisasi 3 mL CCl_4 pada 10 mL DMSO. Homogenisasi dilakukan selama 10-15 menit dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya suspensi diinkubasi pada suhu 20 °C sebelum digunakan untuk induksi.

Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Sebelum aplikasi induksi CCl_4 dilakukan, hewan coba terlebih dahulu diaklimatisasi selama tujuh hari di Laboratorium Percobaan (Lab. Patologi Anatomi) STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto. Selama proses aklimatisasi, hewan coba diberi makan dan minum (*ad libitum*), dengan makanan utama biopellet (Bio Rad) dan minuman dari aquadest yang telah disterilkan (bebas bakteri, atau mikroorganisme lain). Pemberian makan dilakukan sebanyak dua kali dalam sehari, pukul 08.30 dan 15.30. Selama aklimatisasi sekam kandang hewan coba diganti setiap tiga hari sekali. Pengaturan temperatur adalah 28-30°C, kelembaban 65-75%. Hewan coba terkena cahaya matahari/lampu selama 8 jam, selebihnya kandang dalam keadaan remang/gelap. Selama proses pemeliharaan (dari tahap aklimatisasi sampai dengan percobaan dan terminasi), hewan coba diperlakukan sesuai pedoman IAUCC dan memperhatikan prinsip 5F agar hewan coba bebas dari rasa sakit, ketakutan, kelaparan dan kehausan, ketidaknyamanan dan bebas untuk mengekspresikan perilaku alami. Kandang hewan coba didisinfeksi setiap tiga hari sekali menggunakan alkohol 70%.

Kriteria Inklusi dan Eksklusi Hewan Coba

Dalam pemilihan hewan coba mencit yang digunakan, juga dilakukan penilaian kategori kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah hewan coba mencit jantan usia 3 bulan, dengan berat badan >30 gram, mencit dalam kondisi sehat (terlihat dari aktivitas harian selama aklimatisasi, yaitu; aktif bergerak, suka mengerat, dan makan rutin makan), mencit secara genetik adalah kelompok Balb/c yang tidak mengalami mutasi genetik. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah mencit yang sakit, minim gerakan/ aktivitas fisik, cacat secara fisik, mencit betina, mencit hamil, stres yang ditandai dengan aktivitas berkelahi dengan mencit lain secara terus menerus, berat badan di bawah 30 gram, dan mencit yang terpapar obat sintesis.

Induksi Per-Oral Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Sebelum induksi dilakukan, mencit terlebih dahulu dipuasakan (*fasting period*) selama 5 – 8 jam, tanpa makan (namun diperbolehkan minum). Induksi CCl₄ dilakukan secara per-oral dengan menggunakan sonde lambung. Sebanyak 0.5 mL suspensi diberikan kepada setiap hewan coba untuk masing-masing dosis perlakuan 10, 20, dan 30%. Segera setelah proses sonde makanan diberikan kepada setiap hewan coba untuk memastikan tikus tidak mati/kelaparan. Proses sonde CCl₄ diberikan selama 14 hari, yang dilakukan pada pagi hari pukul 08.00.

Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan hewan coba dilakukan pada akhir masa penelitian (hari ke 15). Sebelum dilakukan pembedahan, hewan coba terlebih dahulu dianestesi dengan menggunakan dietil eter (*anesthesia solution*) yang diteteskan pada kapas steril. Mencit percobaan dimasukkan ke dalam toples steril yang telah diberi kapas berisi dietil eter, perilaku mencit diperhatikan hingga menunjukkan kondisi lemas. Setelah dipastikan mencit lemas/teranestesi, maka dilakukan dengan proses dislokasi/dekapitasi leher. Pembedahan dimulai dari bagian anal hewan coba, dan dilakukan pembedahan dari bagian bawah (caudal), melewati ventral, hingga ke bagian atas (cranial) di bawah leher. Selanjutnya organ diambil dan dimasukkan ke dalam larutan fiksatif.

Pembuatan Preparat Histologi Hepar Dan Paru-Paru

Sampel berupa organ hepar dan paru-paru yang diperoleh difiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% selama 24 jam. Selanjutnya, sampel dipindahkan ke dalam wadah berisi alkohol 70%. Tahap pembuatan preparat histologi dilakukan secara berurutan mengacu pada protokol dari Kiernan (2015). Tahapannya dimulai dari fiksasi, dilanjutkan dengan *washing, dehydration, blocking, infiltrasi, clearing, sectioning, affixing, deparafinisasi, staining, mounting* dan *labelling*.

Pewarnaan Hematoxilin-Eosin (HE)

Sayatan melintang hati dan paru-paru mencit yang telah disiapkan dalam bentuk slide direndam dalam hematoxilin selama 30 detik, lalu dicelupkan sebentar ke dalam aquades. Slide kemudian dimasukkan kembali ke dalam alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (70%, 80%, 90%, dan 95%), setelah itu direndam dalam eosin selama 15 menit dan dicelupkan beberapa kali ke dalam aquades. Selanjutnya, deparafinisasi pada slide dilakukan dengan menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah.

Evaluasi histopatologi hati dan paru-paru

Preparat histologi hati diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x dan 1000x untuk dilakukan evaluasi terhadap inti piknotik, kariolisis, vakuolasi, dilatasi sinusoid, dilatasi vena sentral, kongesti dan infiltrasi sel radang, dengan kategori mengacu pada (Surasu et al., 2014): +: jarang (1-3) per lapang pandang; ++: sedikit (4-6) per lapang pandang; +++: banyak (>6) per lapang pandang.

Preparat histologi paru-paru diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x dan dilakukan evaluasi terhadap struktur dinding alveoli, ketebalan septa, infiltrasi sel radang serta adanya kongesti.

Terminasi Hewan Coba

Proses terminasi dilakukan dengan meminimalkan atau menghilangkan penderitaan hewan percobaan berdasarkan pedoman *institutional animal care and use committee*. Hewan percobaan dimatikan dengan menggunakan dietil eter, dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi eter, ditutup, dan didiamkan. Selanjutnya, pemenggalan leher dilakukan beberapa saat setelah tikus terlihat lemah, dan tikus yang mati dikubur di dalam tanah.

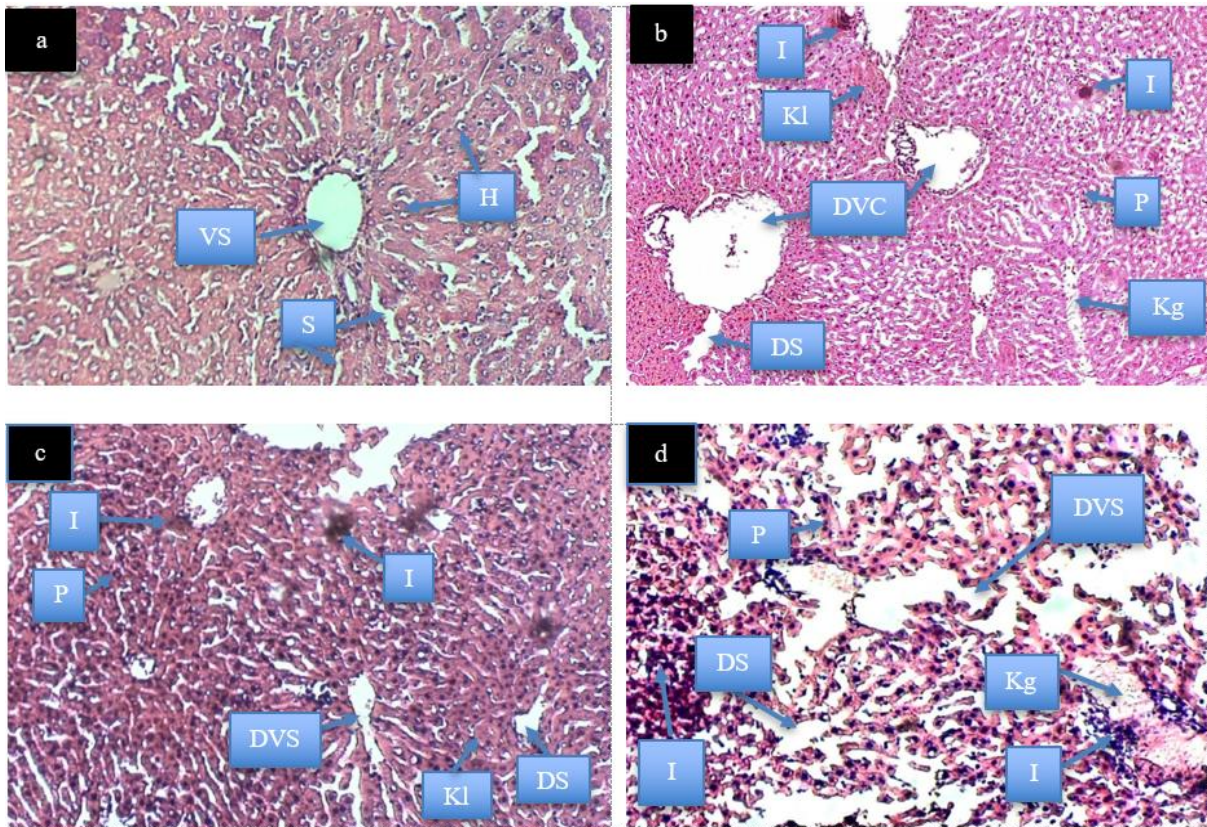
Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif, disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Histologi Hati

Pada penelitian ini telah diuji efek paparan oral CCl₄ terhadap struktur histologi hati mencit jantan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi CCl₄ menunjukkan struktur penyusun sel hati yang relatif normal. Terdapat lobulus-lobulus hati dengan vena sentralis (VS) di tengahnya. Sel-sel hepatosit (Hp) tersusun radial mengelilingi vena sentralis dan celah sinusoid (Sn) normal. Inti sel tampak jelas dan batasnya teratur sebagaimana dikemukakan oleh Ojeaburu & Oriakhi (2021) dimana kelompok kontrol yang tidak diberi CCl₄ menunjukkan hepatosit yang teratur, sinusoid, vena sentral dan vena porta yang susunannya normal.

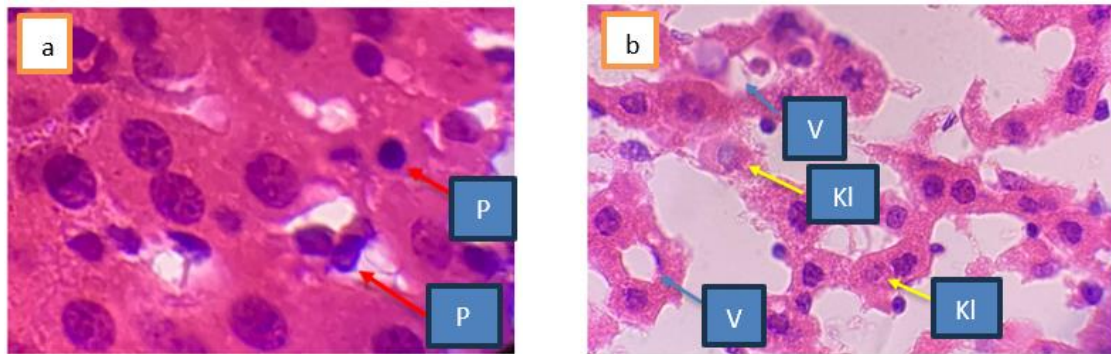


Gambar 1. Gambaran Struktur Histologi Hati Mencit Induksi CCl_4 Selama 2 Minggu Perbesaran 100x dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Keterangan: a. Kontrol negatif atau tanpa perlakuan CCl_4 b. Perlakuan CCl_4 konsentrasi 10% c. Perlakuan CCl_4 konsentrasi 20% d. Perlakuan CCl_4 konsentrasi 30%, H: hepatosit, VS: vena sentralis, S: sinusoid, DS: dilatasi sinusoid, Kg: kongesti, P: piknotik, I: infiltrasi sel radang, KI: kariolisis, DVS: dilatasi vena sentralis

Sementara itu, kelompok perlakuan 1 (CCl_4 10%) menunjukkan inti piknotik (P), kariolisis (KI), kongesti ringan (K), vakuolasi, dilatasi vena sentralis (DVS), dilatasi sinusoid (DS) dan infiltrasi sel radang yang masih ringan. Kelompok perlakuan 2 (CCl_4 20%) menunjukkan adanya kariolisis (KI), kongesti (K), vakuolasi yang lebih berat dibanding kelompok perlakuan 1. Selain itu dijumpai adanya dilatasi vena sentralis (DVS), dilatasi sinusoid (DS) dan infiltrasi sel radang yang lebih luas dibandingkan KI. Kelompok perlakuan 3 mengalami degenerasi yang parah dengan hilangnya susunan hepatosit dan sinusoid. Terjadi kongesti dan dilatasi pembuluh darah serta infiltrasi sel radang (I) yang sangat luas. Hasil disajikan pada Gambar 1.

CCl_4 menyebabkan kerusakan histologi hati yang ditandai dengan inti piknotik dan kariolisis pada semua kelompok perlakuan. Inti piknotik ditandai dengan ukuran hepatosit yang menyusut, batasnya tidak teratur, tampak lebih padat dan berwarna gelap (Gambar 2.a). Menurut Cahaya *et al.* (2021) inti piknotik menjadi salah satu tanda awal bahwa sel mengalami nekrosis. Inti yang mengalami piknotik

selanjutnya dapat hancur bersegmen-segmen atau mengalami karioreksis, kemudian berlanjut dengan kariolisis, ditandai dengan sel yang tampak eosinofilik (Gambar 2.b). Sel yang mengalami kariolisis akan kehilangan kemampuan menyerap zat warna sehingga inti menjadi pucat (Fathuridha, 2020). Hasil penelitian ini sejalan dengan Arrak, *et al.* (2013) dimana gambaran histopatologis hati tikus pada 20 hari paparan dengan CCl_4 100 mg/kg. menunjukkan hilangnya keteraturan hepatosit, infiltrasi sel kupfer dengan kariolisis dan karioreksis yang luas. Terjadinya nekrosis akibat efek toksik CCl_4 dijelaskan Okolo *et al.*, (2017) bahwa CCl_4 di hati (hepatosit) dirubah menjadi radikal bebas yang sangat reaktif, terutama radikal triklorometil (CCl_3) dan radikal klorida (Cl) yang kekurangan elektron, Proses ini melalui aktivitas enzim cytochrome P_{450} . Radikal bebas ini sangat merusak komponen seluler penting seperti lipid, protein dan DNA, yang mengarah pada kerusakan membran sel. Kerusakan ini menyebabkan kebocoran enzim-enzim yang dapat menyebabkan sel mengalami nekrosis.



Gambar 2. Perbedaan Inti Piknotik. (a), Kariolisis dan Vakuolasi (b) Perbesaran 1000x. Keterangan: P=inti piknotik, KI=kariolisis dan V=vakuolasi

CCl_4 juga menyebabkan kerusakan pada hati, ditandai dengan adanya vakuolasi di sebagian besar hepatosit, dengan inti sel terdorong ke tepi. Temuan ini sejalan dengan EL Sayed *et al.* (2019) yang menemukan bahwa CCl_4 yang diberikan melalui injeksi intraperitoneal menyebabkan sebagian besar sitoplasma hepatosit mengalami vakuolasi, dan parenkim hati terlihat mengalami distorsi. Vakuolasi dapat terjadi sebagai akibat akumulasi cairan atau produk metabolik yang abnormal. Vakuolasi yang didapat pada penelitian ini lebih mengarah pada gangguan metabolisme lemak akibat CCl_4 sehingga terjadi akumulasi abnormal lemak di dalam sitoplasma hepatosit, atau disebut dengan steatosis. Hal tersebut mengacu pada Fahrudin *et al.* (2020) dan Dewi *et al.* (2021) yang menyebutkan bahwa salah satu perubahan yang diinduksi oleh CCl_4 adalah degenerasi lemak (steatosis) ditandai dengan adanya vakuola berisi lemak dalam sitoplasma dan inti yang terdesak ke tepi. Steatosis terbentuk karena radikal bebas triklorometil (CCl_3) bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklorometil peroksil yang mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid. Hal ini menimbulkan kerusakan pada membran plasma yang dapat mengaktifkan sejumlah enzim seperti ATPase. Aktivasi enzim ini menyebabkan penurunan sintesis ATP dan berakibat pada penurunan produksi lipoprotein sehingga transport lipid terganggu dan lipid terakumulasi dalam hepatosit (Dewi *et al.*, 2021). Walaupun hati mengandung antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang terbentuk akibat induksi CCl_4 , namun kandungan antioksidan dalam hati tidak sebanyak organ lain (Anyasor *et al.*, 2014). Hal tersebut memungkinkan kerusakan yang luas dan berat serta penurunan ATP. Kerusakan pada hepar, baik pada bagian vena sentral, jaringan epitel, maupun kematian sel hepatosit dapat terjadi karena stres oksidatif yang meningkat, dan peningkatan sitokin pro-inflamasi akibat induksi CCl_4 (El-Kot *et al.*, 2023). Selain itu, sel kupffer yang merupakan makrofag di hati, dapat menurun jumlahnya akibat toksisitas CCl_4 . Hal tersebut akan memperparah kondisi hati dan berlanjut pada inflamasi kronis (Arshad *et al.*, 2024). Dalam penelitian ini, terlihat bahwa infiltrasi sel inflamasi meningkat jumlahnya pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi CCl_4

30%. Sel inflamasi, yang terdiri dari sel polinuklear dan mononuklear, nampak seperti bulatan hitam pekat (Gambar 1). Hasil ini sejalan dengan EL Sayed *et al.* (2019) bahwa di sekitar area portal dan arteri hati terdapat infiltrasi sel mononuklear sebagai tanda adanya peradangan, karena sel-sel inflamasi cenderung bermigrasi ke jaringan yang rusak. Menurut Dewi *et al.* (2021) kerusakan membran sel yang disebabkan oleh radikal bebas akan memicu terjadinya reaksi inflamasi yang ditandai dengan hadirnya sel radang. Hadirnya sel radang merupakan suatu kondisi di mana sel-sel radang masuk ke dalam jaringan sebagai respons terhadap penyakit atau zat toksik. Penelitian ini juga mendapati bahwa CCl_4 menyebabkan kongesti sinusoid maupun vena sentralis. Hasil ini sesuai dengan Okolo *et al.* (2017) dan Ojeaburu & Oriakhi (2021) dimana induksi CCl_4 menyebabkan cedera berupa adanya proliferasi saluran empedu yang berlebihan dan sinusoid yang tersumbat atau mengalami kongesti. Kongesti terjadi karena pecahnya pembuluh darah kapiler sehingga aliran darah masuk dan menumpuk di sinusoid maupun vena sentral (Fathuridha, 2020).

Penelitian ini juga membuktikan bahwa induksi CCl_4 menyebabkan dilatasi atau pelebaran vena sentralis dan sinusoid-sinusoid yang semakin meningkat dengan makin besarnya induksi CCl_4 yang diberikan. Hal ini dapat terjadi karena adanya desakan pada dinding sinusoid dan vena sentral akibat zat toksik (Fathuridha, 2020). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa induksi CCl_4 dapat menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, IL1 β , dan TNF- α yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan jaringan, selain itu terjadi peningkatan radikal bebas (ROS) seperti anion superoksida, yang menyebabkan stres oksidatif dan reaksi peroksidasi lipid membran sel. Hal ini yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan hepar atau paru-paru (Zhang *et al.*, 2023).

Hasil skoring menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diinduksi CCl_4 rute oral selama 2 minggu menyebabkan tingkat kerusakan histologi hati yang semakin berat dengan makin besarnya konsentrasi CCl_4 yang diujikan. Hasil disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Evaluasi Struktur Mikroanatomi Hati Mencit Induksi CCl₄ Selama 2 Minggu

Kelompok Perlakuan	Struktur Sel Hati Mencit						
	Inti Piknotik	Kariolisis	Vakuolasi	Dilatasi Sinusoid	Dilatasi Vena Sentral	Kongesti	Infiltrasi Sel Radang
K	-	-	-	-	-	-	-
P1	+	+	++	+	+	+	+
P2	++	++	++	+	+	+	++
P3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Keterangan:

K: Kontrol negatif atau tanpa perlakuan CCl₄

P1: Perlakuan CCl₄ konsentrasi 10%

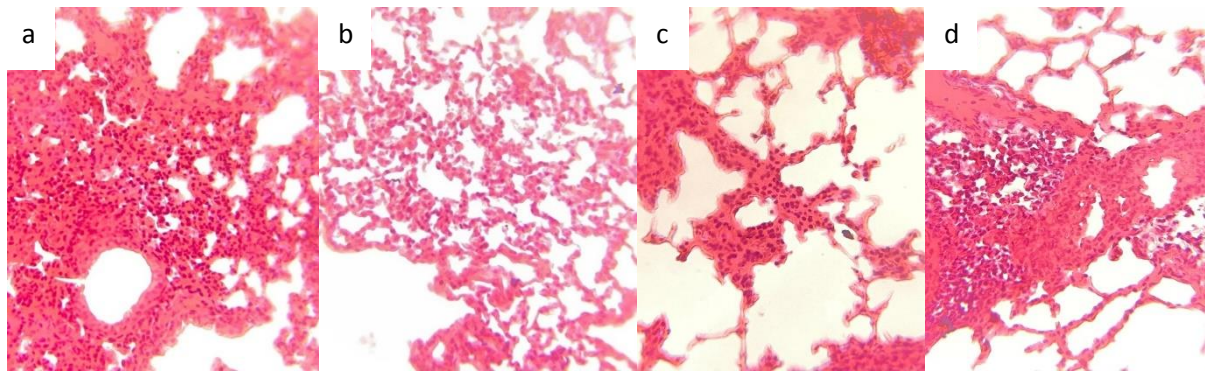
P2: Perlakuan CCl₄ konsentrasi 20%

P3: Perlakuan CCl₄ konsentrasi 30%

+: jarang (1-3) per lapang pandang

++: sedikit (4-6) per lapang pandang

+++ : banyak (>6) per lapang pandang



Gambar 3. Gambaran Struktur Histologi Paru-paru Mencit yang Induksi Oral CCl₄ Selama 2 minggu. Keterangan: (a) Kontrol negatif atau tanpa perlakuan CCl₄; (b) Perlakuan CCl₄ konsentrasi 10%; (c) Perlakuan CCl₄ konsentrasi 20%; (d) Perlakuan CCl₄ konsentrasi 30%.

Hasil pengamatan terhadap struktur histologi organ paru-paru mencit yang diinduksi CCl₄ rute oral menunjukkan struktur paru-paru yang normal. Hasil disajikan pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3 terlihat bahwa histologi paru-paru mencit yang diinduksi CCl₄ selama 2 minggu tidak menunjukkan hasil yang berbeda antara kelompok kontrol dan seluruh kelompok perlakuan. Alveoli tampak berdinding tipis dengan septa alveolar yang tegas diantara sel-sel di sekitarnya. Tidak tampak adanya kongesti pada parenkim paru, penebalan septa interalveolar dan infiltrasi sel mononuklear di parenkim paru. Berbeda dengan penelitian (Khalil et al., 2020) dimana kelompok yang terpapar CCl₄ melalui injeksi intraperitoneal menunjukkan perbedaan histologi yang signifikan dibandingkan dengan kelompok normal. CCl₄ menyebabkan degenerasi dan obstruksi septa alveolar dan kongesti melalui kerusakan sel Clara dan perpindahan epitel bronkiolar alveolar. Hal ini dimungkinkan karena CCl₄ yang masuk melalui rute oral tidak cukup untuk merusak struktur jaringan paru-paru, karena CCl₄ akan lebih dulu diserap melalui saluran pencernaan, kemudian didetoksifikasi di hati dengan cara dirubah menjadi metabolit toksik yang dapat merusak sel hati yang dalam prosesnya melibatkan sitokrom P₄₅₀. Namun paparan dalam jangka panjang atau dengan konsentrasi yang sangat tinggi diduga dapat menyebabkan kerusakan paru-paru. Proses toksik

pada paru-paru bisa terjadi melalui efek sistemik, seperti kerusakan organ yang lebih luas, atau melalui produksi radikal bebas yang dapat merusak sel-sel paru-paru jika diserap dalam jumlah besar. Menurut El-Kot et al. (2023), induksi CCl₄ juga dapat menyebabkan fibrosis jaringan paru, yang sehingga menimbulkan patofisiologi dan kerusakan paru pada hewan coba, yang kemudian dapat mengakibatkan kerusakan jaringan paru, atau kapiler alveoli.

Hasil penelitian ini diperkuat oleh Das et al. (2014) yang mengukur penanda stress oksidatif 4-hidroksinonenal (4-HNE) dimana 4-HNE terdeteksi di hati mencit yang dipapar CCl₄, tetapi tidak pada paru-paru. 4-HNE adalah produk sampingan yang dihasilkan selama peroksidasi lipid yang terjadi sebagai akibat stress oksidatif. Hal tersebut berarti bahwa paru-paru yang diinduksi CCl₄ tidak terluka secara langsung oleh mekanisme yang melibatkan stress oksidatif.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa CCl₄ yang diberikan per oral pada konsentrasi 10, 20 dan 30% tidak cukup merusak histologi paru-paru, berbeda dengan kerusakan yang ditimbulkan pada hati. Kerusakan pada hati berupa inti piknotik, kariolisis, kongesti dan vakuolasi, dilatasi vena sentraslid, dilatasi sinusoid

dan infiltrasi sel radang yang semakin berat dan meluas dengan makin bertambahnya konsentrasi yang diujikan. Evaluasi histologi paru-paru mencit menunjukkan tidak ada kerusakan, ditandai dengan tidak adanya kongesti pada parenkim paru, penebalan septa interalveolar dan infiltrasi sel mononuklear di parenkim paru baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

DAFTAR REFERENSI

- Anyasor, G. N., Onajobi, F., Osilesi, O., Adebawo, O., & Oboutor, E. M. 2014. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Costus afer* Ker Gawl. hexane leaf fraction in arthritic rat models. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), pp. 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.057>
- Arrak, J. K., Jwad, B. M., & Mohammed, S. A. 2013. Toxicopathological and biochemical effects of Carbon Tetrachloride CCl₄ with residual accumulation in Liver of mice. *Kufa Journal of Veterinary Medical Sciences*, 4(1), pp. 57–68.
- Arshad, M., Kousar, S., Din, A., Afzaal, M., Faisal, M. N., Sharif, M. K., Rasheed, H., Saeed, F., Akram, N., Ahmed, F., & Khan, M. R. 2024. Hepatoprotective efficacy of quinoa seed extract against CCl₄-induced acute liver toxicity in rat model. *Food Science and Nutrition*, 12(7), pp. 5007–5018. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4149>
- Cahaya, W., Putri, W., & Rahman, H. 2021. Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Parasetamol. *Hepatoprotective Activity of Rambutan Leaf (Nephelium lappaceum L.) Ethanol Extract in Male Mice Induced by Paracet.* 18(2), pp. 148–156.
- Das, M., Boerma, M., Goree, J. R., Lavoie, E. G., Fausther, M., Gubrij, I. B., Pangle, A. K., Johnson, L. G., & Dranoff, J. A. 2014. Pathological changes in pulmonary circulation in carbon tetrachloride (CCl₄)-induced cirrhotic mice. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096043>
- Dewi, N. D. made A., Wiratmini, N. I., & Sudirga, S. K. 2021. Gambaran histologi hati dan ginjal mencit terinduksi CCl₄. *Jurnal Biologi Udayana*, 26(1), pp. 21–31.
- El-Kot, S. M., Wanas, W., Hafez, A. M., Mahmoud, N. A., Tolba, A. M., Younis, A. H., Sayed, G. El, & Abdelwahab, H. E. 2023. Effect of silymarin on the relative gene expressions of some inflammatory cytokines in the liver of CCl₄-intoxicated male rats. *Scientific Reports*, 13(1), pp. 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42250-7>
- EL Sayed, H. E. S. A., Morsy, L. E. S., Abo Emar, T. M., & Galhom, R. A. 2019. Effect of Carbon Tetrachloride (CCL₄) on Liver in Adult Albino Rats: Histological study. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76(6), pp. 4254–4261. <https://doi.org/10.21608/ejhm.2019.43804>
- Fahrudin, F., Ningsih, S., Wardhana, H. I., & Hamida, D. R. H.-F. 2020. Efektifitas Dosis Karbon Tetraklorida (CCL₄) terhadap Tikus (Ratus norvegicus L.) sebagai Hewan Model Fibrosis Hati. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 19(1), pp. 411–422.
- Fathuridha, I. 2020). Kajian literatur gambaran histopatologis organ sistem ekskresi tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin naskah publikasi. *Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta*, 1(2), pp. 1–11.
- Khalil, I., Ghani, M., Khan, M. R., & Akbar, F. (2020). Evaluation of biological activities and in vivo amelioration of CCl₄ induced toxicity in lung and kidney with *Abutilon pannosum* (G.Forst.) Schltdl. in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 249(July), 112395. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112395>
- Kiernan, J. A. 2015. Histological and Histochemical Methods. In *Scion Publishing* (Vol. 5). <https://doi.org/10.1097/01.shk.0000286293.63833.12>
- Ojeaburu, S. I., & Oriakhi, K. 2021. Hepatoprotective, antioxidant and anti-inflammatory potentials of gallic acid in carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Wistar rats. *Toxicology Reports*, 8, pp. 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.01.001>
- Okolo, K. O., Siminialayi, I. M., & Orisakwe, O. E. 2017. Carbon tetrachloride induced hepatorenal toxicity in rats: possible protective effects of wild *Pleurotus tuber-regium*. *Clinical Phytoscience*, 3(1), pp. 3–9. <https://doi.org/10.1186/s40816-016-0040-5>
- Rosida, A. 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran*, 12(1), pp. 123–131. https://doi.org/10.5005/jp/books/10446_15
- Sari, M., & Nawawi. 2023. Hepatoprotektif Ekstrak Batang Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) Induksi Tetraclorida (CCL₄). *Bioedisains: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 6(3), pp. 492–500. <https://bnr.bg/post/101787017/bsp-za-balgaria-e-pod-nomer-1-v-buletinata-za-vota-gerb-s-nomer-2-pp-db-s-nomer-12>
- Surasa, J. N., Utami, R. N., & Isnaeni, W. 2014. Struktur Mikroanatomi Hati dan Kadar Kolesterol Total Plasma Darah Tikus Putih

Strain Wistar Pasca Suplementasi Minyak Lemuru dan Minyak Sawit. *Biosaintifika*, 6(2), pp. 141–151. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v6i2.3778>

Zhang, L., Liu, C., Yin, L., Huang, C., & Fan, S. 2023. Mangiferin relieves CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Scientific Reports*, 13(1), pp. 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30582-3>