BIOSCIENTIAE
Volume 3, Nomor 1, Januari 2006, Halaman 15-27

EFEK DOKSISIKLIN SELAMA MASA ORGANOGENESIS PADA STRUKTUR HISTOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL FETUS MENCIT

Heri Budi Santoso
Anni Nurliani

Program Studi Biologi
FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

ABSTRACT

A study has been conducted to identify changes in histologic structure of liver and kidney of mice fetus from pregnant mother mice exposed to doxicycline during organogenesis period. Twenty four 3 month old female mice were divided into 4 groups: control, and treatments with oral dose of doxicycline of 26 mg, 52 mg, and 104 mg/kg BW/day for 10 days, coincided with sixth day until fifteenth day of pregnancy. At the sixteenth day of pregnancy all mice were killed, the fetus were taken for liver and kidney histologic slides. From each histologic slide 6 samples were inspected under light microscope. Changes in histologic structure of liver mice fetus included necrosis of liver cell; the kidney showed degeneration of epitel cell kidney tubulous begin 52 mg/kg BW dose.

Key words : doxicycline, liver, kidney

PENDAHULUAN

Wanita hamil tidak selalu bebas dari penyakit, sehingga penggunaan obat tertentu terkadang menjadi suatu keharusan. Seperti pada wanita hamil yang terinfeksi oleh bakteri, pemberian antibiotik menjadi suatu keharusan, termasuk salah satu diantaranya adalah pengobatan dengan doksisiklin.

© Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

Pemberian atau perolehan doksisiklin melebihi dosis kemungkinan dapat terjadi pada pengobatan tanpa petunjuk dokter, juga dapat terjadi pada mereka yang mengkonsumsi produk peternakan (telur, susu, daging) yang menggunakan antibiotik untuk memacu pertumbuhan dan produksi (Ayres & Kirschman, 1981). Irawan (1997) mensinyalir bahwa tidak sedikit peternak di Indonesia menggunakan antibiotik secara overdosis agar penyakit yang diidap ternaknya segera sembuh, disamping itu juga agar dapat memacu pertumbuhan dan produksi.

Doksisiklin adalah jenis antibiotik dari golongan tetrasiklin. Jenis antibiotik dari golongan tetrasiklin yang lainnya adalah klortetrasiklin, oksitetrasiklin, demeklosiklin, dan minosiklin. Doksisiklin sering digunakan karena absorpsinya dalam saluran cerna baik sekali yaitu 93% dan mempunyai waktu paruh 15-18 jam (Gan, 1987). Keunggulan lain dari doksisiklin menurut Goodman & Gillman (1975), adalah mempunyai sifat spektrum yang luas, toksisitas rendah dibanding jenis antibiotik yang lain, sifat alergenik yang rendah dibandingkan penisilin, dan harga relatif murah.

Doksisiklin berpotensi sebagai agensia teratogen, karena memiliki berat molekul yang relatif kecil, yakni 444 Dalton (Gibaldi & Prescott, 1983) sehingga dapat dengan mudah melewati sawar plasenta. Craig & Stitzel (1986) menambahkan bahwa zat dengan berat molekul kurang dari 600 Dalton dapat dengan mudah melewati sawar plasenta. Oleh karena dapat dengan mudah melewati sawar plasenta, doksisiklin banyak tertimbun dan terakumulasi dalam organ fetus, seperti limpa, ginjal, hati, sumsum tulang, tulang, dentin, dan email gigi yang sedang mengalami kalsifikasi, pada tempat-tempat osifikasi, tempat-tempat pertumbuhan dalam epifisis dan diafisis (Goodman & Gillman, 1975; Levy et. al., 1952). Akumulasi doksisiklin dalam beberapa organ tersebut, khususnya pada organ hati dan ginjal, akan mengakibatkan kelainan perkembangan pada fetus. Hal ini disebabkan antara lain oleh karena fetus belum mempunyai enzim yang dapat memetabolisir doksisiklin secara sempurna.

Menurut Doerge (1982), selain memiliki keunggulan dalam mengobati penyakit infeksi, doksisiklin ternyata mempunyai hepatotoksisitas lebih besar dibandingkan jenis tetrasiklin lainnya, maka tidak diberikan dalam jangka panjang pada wanita hamil dan penderita penyakit hati. Namun, mekanisme dan gambaran secara histologis tentang hepatotoksisitas akibat doksisiklin, terutama efeknya pada masa organogenesis dan fetus, sampai saat ini belum dikaji secara tuntas.

Hati merupakan organ tubuh yang paling sering menerima jejas. Hal ini karena hati merupakan pintu gerbang semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna. Zat makanan, sebagian besar obat-obatan serta toksikan yang masuk ke tubuh melalui saluran cerna setelah diserap oleh epitel usus akan dibawa oleh vena porta ke hati. Oleh sebab itu, hati menjadi organ yang sangat potensial menderita keracunan lebih dahulu sebelum organ lain (Robbin & Kumar, 1995)

Ginjal merupakan organ yang kompak, terikat pada dinding dorsal dan terletak retroperitoneal. Ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan. Ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, dan membawa toksikan melalui sel tubulus, serta mengaktifkan toksikan tertentu. Akibatnya ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik (Lu, 1995).

Sehubungan dengan pemikiran dan masalah di atas, akan dikaji kelainan/kecacatan struktur histologi organ hati dan ginjal fetus mencit jika pada induk mencit bunting selama masa organogenesis diberikan doksisiklin secara oral.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian sebanyak 24 ekor mencit betina dengan berat badan rata-rata 20g, umur 3 bulan, belum pernah bunting yang diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Penyakit Veteriner (BPPV) wilayah V Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Sebelum penelitian ini dimulai, mencit diadaptasikan selama 2 minggu dalam kandang berupa bak plastik berukuran 29 (p) x 11 (l) x 12 (t) cm^3, bertutup dan diberi alas serbuk gergaji. Ruangan percobaan bersuhu 27ºC dan diberi pencahayaan dengan lampu listrik selama 12 jam setiap hari dari pukul 06.00-18.00.

Setelah masa adaptasi dilakukan pemeriksaan siklus estrus selama 2 kali siklus dengan cara membuat preparat apus vagina. Setelah mendapatkan mencit dengan siklus estrus teratur sebanyak 24 ekor, selanjutnya dilakukan pembagian secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing 6 ekor mencit tiap satu kelompok. Mencit-mencit yang telah mengalami estrus dikandangkan bersama-sama dengan mencit jantan, tiap satu kelompok mencit betina didalamnya dimasukkan satu ekor mencit jantan. Pencampuran mencit jantan dan betina dilakukan sore hari dan apabila pada keesokan harinya ditemukan sumbat vagina maka pada hari itu ditentukan sebagai kebuntingan hari ke 1 (Kaufmann, 1992).

Penentuan Dosis Doksisiklin

Perlakuan kepada hewan percobaan berupa dosis tunggal doksisiklin. Penentuan dosis berdasar atas dosis pada manusia (berat badan 70kg) dikonversikan kepada mencit (berat badan 20g) menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach dengan faktor konversi 0,0026 (Ngatijan, 1991). Dosis terapi doksisiklin jalur oral adalah 100-200 mg/hari, maka teratogenisitas doksisiklin diperkirakan terjadi bila diberikan secara oral 260mg/hari. Konversi dosis pada mencit = 0,0026 x 260mg/hari = 1,04 mg/20g bb/hari = 52mg/kg bb/hari. Berdasarkan dosis tersebut, ditentukan dosis perlakuan, yaitu 26mg/kg bb/hari; 52mg/kg bb/hari; dan 104mg/kg bb/hari. Berdasarkan konversi tersebut diperoleh dosis (200-520)mg doksisiklin/ hari pada manusia menjadi (26-104)mg/hari untuk mencit.

Perlakuan

Dosis doksisiklin/hari untuk setiap kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Kelompok I (kontrol) : 0,5ml akuades
Kelompok II : 26mg doksisiklin/kg bb/hari
Kelompok III : 52mg doksisiklin/kg bb/hari
Kelompok IV : 104mg doksisiklin/kg bb/hari

Perlakuan diberikan selama masa organogenesis, mulai kebuntingan hari ke 6 sampai ke 15. Pemberian perlakuan dilakukan secara oral dengan spuit injeksi 1 ml.

Pengambilan Data

Pada kebuntingan hari ke-16, fetus dikeluarkan dengan pembedahan perut. Untuk pengamatan terhadap struktur histologis organ hati dan ginjal dilakukan pembedahan terhadap semua fetus sekelahiran untuk diambil organ hati dan ginjal, selanjutnya dibuat preparat histologi. Preparat histologi hati dan ginjal fetus mencit dibuat dengan cara kerja sebagai berikut: preparat difiksasi dengan fiksatif Bouin selama 24 jam; dehidrasi dengan alkohol 70% sampai alkohol absolut; penjernihan dengan toluol; infiltrasi dan penanaman dalam parafin; dibuat sediaan metode parafin; diiris setebal 6µ; dan diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin (Suntoro, 1983).

Pembuatan dan pengamatan preparat histologi organ hati dan ginjal dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Unlam Banjarbaru. Pengamatan struktur histologi organ hati dan ginjal dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo, dan berpanduan kepada Hammersen (1993) dan Craigmyle (1990).

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan pola percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dengan enam kali perulangan per perlakuan. Penilaian kerusakan/kelainan hati meliputi pelebaran diameter vena sentralis dan kerusakan struktur jaringan hati. Pemberian skor dilakukan terhadap kerusakan struktur jaringan hati dan ginjal. Penilaian kerusakan jaringan hati dan ginjal diklasifikasikan menjadi empat kategori, yaitu:

1, untuk kerusakan 0-5%,

2, untuk kerusakan 6-25%,

3, untuk kerusakan 26-50%,

4, untuk kerusakan > 50%

Untuk organ hati yang dimaksud dengan kerusakan sel adalah sel yang mengalami nekrosis, sedangkan untuk organ ginjal adalah degenerasi sel epitel tubulus.

Data yang didapat dianalisis dengan uji Kai Kuadrat (Gaspersz, 1991)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur Histologis Hepar Fetus

Tidak ada perbedaan bermakna antara perlakuan II (dosis 26 mg/kg bb) dengan kontrol. Pada perlakukan III (52 mg/kg bb) beberapa sel mengalami pembengkakan dan pada perlakuan IV (104 mg/kg bb) banyak sel yang nekrosis.

Hasil pengamatan ini diperkuat pernyataan Agoes (1994) bahwa doksisiklin dosis tinggi menyebabkan toksik hepar pada pemberian oral atau intravena. Pada wanita hamil lebih menyebabkan kerusakan hepar. Ini mungkin karena doksisiklin ditimbun antara lain dalam sistem retikuloendotelial hati (Ganiswara, 1995).

Selain itu golongan obat ini juga dilaporkan menyebabkan perlemakan hati dan gagal hati (http://www.thedoctorslounge.net/pharmalounge/drugs/antibiotics/tetracyclines/tetracycline.htm). Tanda terjadinya nekrosis hati dilaporkan juga telah terjadi pada dosis harian 4 g intravena atau lebih (Katzung, 1989).

Doksisiklin merupakan golongan obat yang mudah melewati sawar plasenta, sehingga karena fetus belum mempunyai enzim yang dapat memetabolisir doksisiklin secara sempurna, maka terjadilah akumulasi obat ini dalam hepar fetus. Toksisitas obat ini menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hepar fetus.

Analisis statistik dengan Kai Kuadrat terhadap nekrosis sel hepar fetus mencit menunjukkan ada perbedaan yang bermakna mulai dari kelompok III, yakni pemberian doksisiklin secara oral 52 mg/kg bb/hari dengan kelompok kontrol.

Perhitungan lebih terperinci dengan membandingkan tiap kelompok perlakukan menghasilkan perbedaan tidak bermakna antara kelompok kontrol (I) dan kelompok II (dosis 26 mg/kg bb/hari) dan juga antara kelompok III (52 mg/kg bb/hari) dan kelompok IV (104 mg/kg bb/hari). Ada perbedaan bermakna antara kelompok II (26 mg/kg bb/hari) dengan kelompok III (52 mg/kg bb/hari). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian doksisiklin per oral 52 mg/kg bb/hari pada induk mencit bunting telah mengakibatkan nekrosis sel hepar fetus. Pada dosis yang lebih tinggi yaitu 104 mg/kg bb/hari kerusakan semakin berat, tetapi secara statistik terjadi perbedaan yang tidak bermakna dengan kelompok dosis 52 mg/kg bb/hari.

Tabel 1. Derajat luas Nekrosis Hepar Fetus Mencit dari Induk setelah diberi doksisiklin secara Oral

Perlakuan	Dosis (mg/kg bb/hari)	Jumlah Fetus (ekor)	Derajat Luas Nekrosis **				Nilai P***
			1	2	3	4	
Kontrol (I)	0	37	37	0	0	0	P1 > 0,05
II	26	36	31	5	0	0	P2 < 0,05
III	52	35	1	15	15	4*	P3 > 0,05
IV	104	35	1	14	14	6*	

* Perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol

** 1 = derajat nekrosis 0-5%
2 = derajat nekrosis 6-25%
3 = derajat nekrosis 26-50%
4 = derajat nekrosis > 50%

*** P1 = perbedaan antara kelompok I & II
P2 = perbedaan antara kelompok II & III
P3 = perbedaan antara kelompok III & IV

Struktur Histologis Ren Fetus

Hasil pengamatan pada struktur histologis ren fetus menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan II belum ditemukan adanya perubahan struktur baik pada epitel glomerulus maupun pada epitel tubulus jika dibandingkan dengan kontrol. Pengaruh pemberian doksisiklin baru tampak pada perlakuan III yaitu beberapa fetus memperlihatkan adanya degenerasi sel tubuler pada tubulus proximalis dan distalis. Pada perlakuan IV tampak nekrosis sel tubulus yang semakin luas.

Menurut Agoes (1994) doksisiklin dapat menambah parah keadaan penderita gagal ginjal. Golongan obat ini dapat menimbulkan imbang nitrogen negatif dan meningkatkan kadar ureum darah, sehingga pada keadaan gagal ginjal dapat menimbulkan azotemia (Ganiswara, 1995).

Degenerasi dan nekrosis pada sel tubulus renalis fetus, disebabkan akumulasi zat toksik doksisiklin dalam organ ren fetus. Akumulasi ini terjadi karena fetus belum mempunyai enzim untuk memetabolisir doksisiklin secara sempurna.

Analisis Kai Kuadrat terhadap kerusakan sel epitel tubulus renalis fetus mencit menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna mulai dari kelompok perlakuan III (doksisiklin secara oral 52 mg/kg bb/hari) dengan kelompok kontrol.

Perhitungan lebih terperinci dengan membandingkan tiap kelompok menghasilkan perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok II dan juga antara kelompok III dan kelompok IV. Ada perbedaan bermakna antara kelompok II dan kelompok III. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian doksisiklin secara oral 52 mg/kg bb/hari pada induk mencit bunting telah dapat mengakibatkan kerusakan sel epitel tubulus renalis fetus. Pada dosis 104 mg/kg bb/hari terjadi kerusakan yang semakin luas dan berat walaupun terjadi penurunan kerusakan pada derajat kerusakan 3. Pada dosis ini juga terjadi kerusakan sel epitel tubulus renalis secara luas dan merata yaitu dengan terjadinya kerusakan sel epitel mulai dari derajat I sampai dengan derajat IV.

Tabel 2. Derajat Kerusakan Sel Epitel Tubulus Renalis Fetus Mencit dari Induk setelah diberi Doksisiklin secara Oral

Perlakuan	Dosis (mg/kg bb/hari)	Jumlah Fetus (ekor)	Derajat Luas Nekrosis **				Nilai P***
			1	2	3	4	
Kontrol (I)	0	37	37	0	0	0	P1 > 0,05
II	26	36	31	5	0	0	P2 < 0,05
III	52	35	9	9	17*	0	P3 > 0,05
IV	104	35	9	10	8*	8	

* Perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol

** 1 = derajat nekrosis 0-5%
2 = derajat nekrosis 6-25%
3 = derajat nekrosis 26-50%
4 = derajat nekrosis > 50%

*** P1 = perbedaan antara kelompok I & II
P2 = perbedaan antara kelompok II & III
P3 = perbedaan antara kelompok III & IV

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian doksisiklin pada induk mencit bunting selama masa organogenesis dapat menyebabkan perubahan struktur histologi organ hepar dan tubulus ren fetus mencit.
2. Pada pemberian dosis 52 mg/kg bb/hari dan 104 mg/kg bb/hari dapat menyebabkan nekrosis sel hepar dan degenerasi sel tubulus renalis fetus mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Forum HEDS yang telah mendanai penelitian ini dalam tahun anggaran 2005.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, A. 1994. *Catatan Kuliah Farmakologi*. Bagian III. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Anonim. ----. *Tetracycline hydrochloride.* http://www.thedoctorslounge.net/pharmalounge/drugs/antibiotics/tetracyclines/tetracycline.htm. Diakses tanggal 18 November 2005.

Ayres, J C & J C Kirschman. 1981. *Impact of toxicology on food processing,* Avi Publishing.

Craig, C R & R E Stitzel. 1986. *Modern Pharmacology*. Litle Brown, USA.

Craigmyle, M.B.L.1990. *A colour atlas of histology*. 2nd ed. Wolf Medical Publication Ltd, Netherlands.

Doerge, R F. 1982. *Kimia Farmasi dan Medisinal Organik.* Bag 1. IKIP Semarang Press, Semarang.

Gan, S. 1987. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 3. Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta.

Ganiswara, S G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4 (dengan perbaikan). Gaya Baru, Jakarta.

Gaspersz, V. 1991. *Teknik analisis dalam penelitian percobaan*. Tarsito, Bandung.

Gibaldi, M & L Prescott. 1983. *Handbook of clinical pharmacokinetics*. Adis Health Science, New York.

Goodman, L S & A Gillman. 1975. *The pharmacological basic of therapeutics*. 3 ed. The Mc Millan Co, New York.

Hammersen, F. 1993. *Histology. Colour atlas of microscopic anatomy. Sobotta*, Urban Schwarzenberg, Munich.

Irawan. 1997. Kandungan kimiawi pada produk-produk peternakan. *Kedaulatan Rakyat*, *tanggal 23 Nopember 1997*, hal 4 kolom 1-5.

Katzung, B G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 3. Penerbit Buku kedokteran EGC, Jakarta.

Kaufmann, M H. 1992. *The atlas of mouse development*. Academic Press Limited, London.

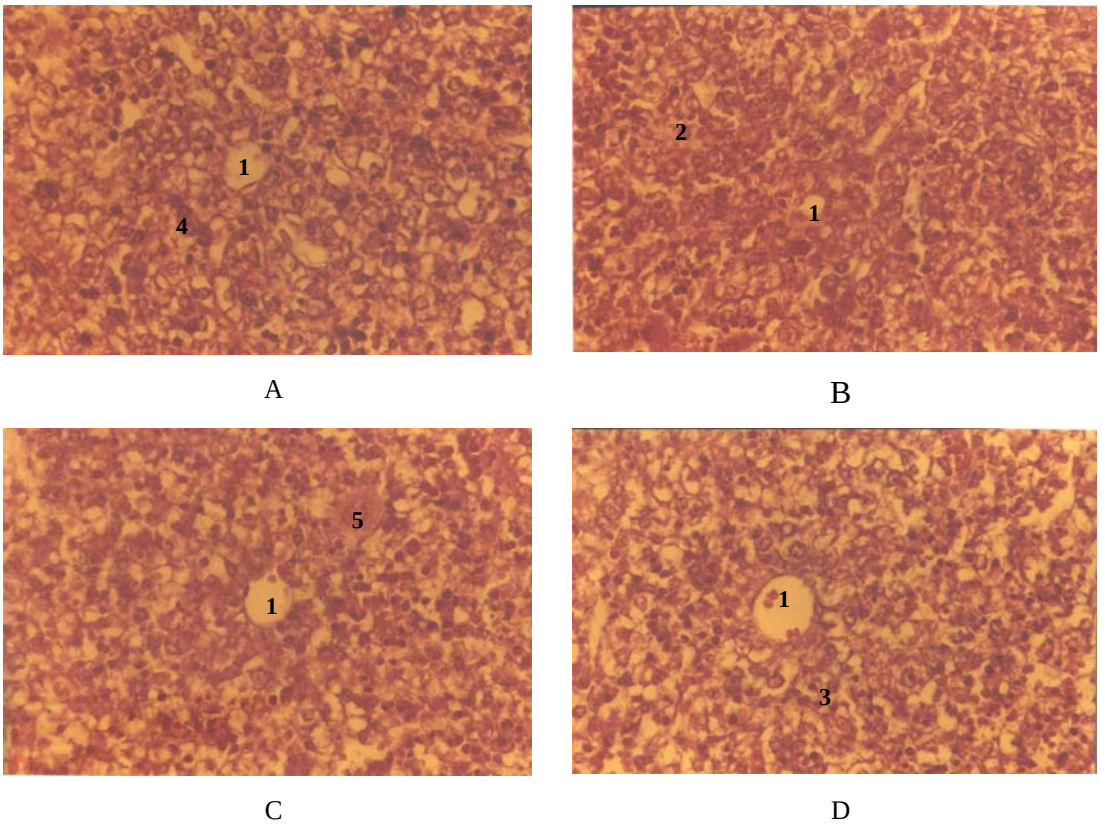
Levy, J., A. Ornoy, I. Atkin. 1952. Influence of tetracycline on the calcification of epiphyseal rat cartilage: transmission & scanning electron microscopic studies. *Acta Anat. 106*: 360-369.

Lu, F C. 1995. *Toksikologi dasar; Asas, Organ sasaran dan penilaian resiko*. Edisi 2, UI Press, Jakarta.

Ngatijan. 1991. Metode laboratorium dalam toksikologi. *Petunjuk Laboratorium*, PAU Bioteknologi UGM, Yogyakarta.

Robbin, S L & V M D Kumar. 1995. *Patologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

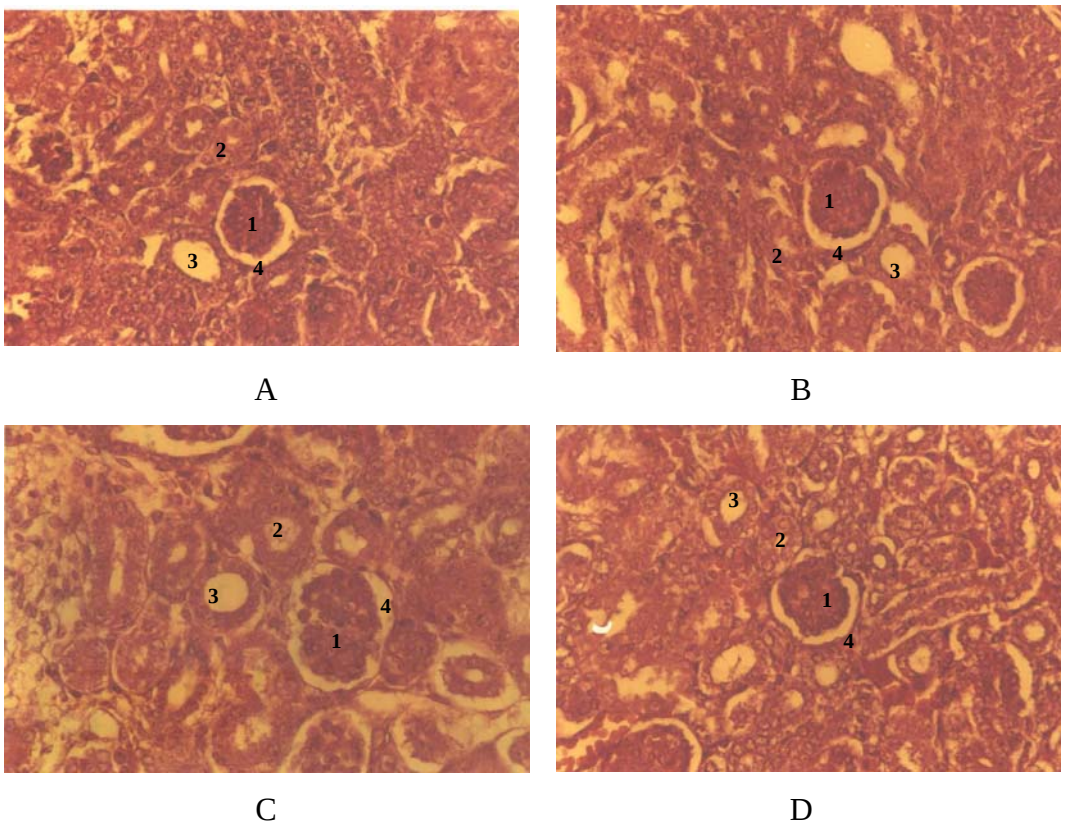
Suntoro, S H. 1983. *Metode pewarnaan (Histologi & Histokimia).* Penerbit Bhratara Karya Aksara, Jakarta.



Gambar 1. Gambaran histologis hepar fetus mencit (perbesaran 100 X).
A = Kontrol; B = 26mg doksisiklin/kg bb/hari; C = 52mg doksisiklin/kg bb/hari; D = 104mg doksisiklin/kg bb/hari

Keterangan :

1. Vena sentralis
2. Sel normal
3. Sel nekrosis
4. Inti sel
5. Sel yang mengalami pembengkakan



Gambar 2. Gambaran histologis ren fetus mencit (perbesaran 100 X).
A = Kontrol; B = 26mg doksisiklin/kg bb/hari; C = 52mg doksisiklin/kg bb/hari; D = 104mg doksisiklin/kg bb/hari

Keterangan :

1. Glomerulus
2. Tubulus proksimalis
3. Tubulus distalis
4. Kapsula Bowman