

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Istilah Mikroplastik dipakai untuk membedakan antara mikroplastik dan sampah plastik yang lebih besar, seperti botol plastik. Ada dua jenis mikroplastik yang saat ini dikenal, yaitu mikroplastik primer dan mikroplastik sekunder. Mikroplastik primer mencakup setiap potongan atau partikel plastik yang berukuran 5,0 mm atau lebih kecil sebelum berakhir di lingkungan dan ini meliputi jenis *microfibers* dari pakaian, *microbeads*, dan pelet plastik (*nurdles*). Mikroplastik sekunder muncul akibat degradasi (pemecahan) dari produk plastik yang lebih besar melalui proses pelapukan alami setelah memasuki lingkungan. Beberapa sumber mikroplastik sekunder termasuk botol air dan soda, jaring ikan, kantong plastik, wadah *microwave*, kantong teh, dan ban bekas (Boucher & Friot, 2017; Campanale et al., 2020). Kedua jenis mikroplastik tersebut dikenal tahan lama di lingkungan pada tingkat yang signifikan, khususnya di ekosistem air dan laut, yang menyebabkan kontaminasi air. 35% dari total mikroplastik di laut berasal dari proses pencucian tekstil/pakaian, terutama disebabkan oleh erosi dari pakaian berbahan polyester, akrilik, atau nilon. Namun, mikroplastik juga menumpuk di ekosistem udara dan darat (Kastilon et al., 2024).

Ftalat merupakan senyawa kimia yang sering ditemukan sebagai polutan di berbagai bagian lingkungan dan bahkan telah terdeteksi dalam jaringan tubuh. Menurut Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat (U.S. EPA), ftalat digolongkan sebagai senyawa beracun yang dapat menyebabkan gangguan pada fungsi kelenjar endokrin (Laelasari et al 2021). Istilah endokrin berasal dari bahasa Yunani, di mana kata “endo” berarti “dalam” dan “crinis” berarti “mengeluarkan”. Endokrin adalah sekumpulan kelenjar atau jaringan yang memproduksi hormon untuk mengatur berbagai proses seperti pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, fungsi seksual dan metabolisme. (Syamsul dan Natzir, 2023). Gangguan pada hipotalamus dapat memengaruhi berbagai keseimbangan hormon yang ada didalam tubuh, yang berdampak pada kesehatan. Paparan DEHP pada tikus percobaan mengakibatkan terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) di hipotalamus, yang kemudian menyebabkan stres oksidatif pada organ tersebut, akhirnya mengakibatkan penurunan perkembangan organ hipotalamus hingga mengalami kerusakan yang parah (Laelasari et al 2021).

Penelitian tentang tikus telah dilakukan selama berabad-abad, dan landasan sejarah penelitian ini dapat ditelusuri kembali ke zaman kuno. Tikus, khususnya tikus putih laboratorium, telah menjadi subjek populer dalam banyak bidang penelitian, termasuk biologi, farmakologi, kedokteran, dan kesehatan. Salah satu alasan mengapa tikus menjadi subjek penelitian yang umum adalah karena kesamaan genetik mereka dengan manusia (Shimoyama et al., 2016). Tikus memiliki sekitar 90% gen manusia yang identik, yang memungkinkan para peneliti untuk mempelajari berbagai penyakit manusia dan mencari obat-obatan baru dengan menggunakan tikus sebagai model eksperimental (Wati, 2024). Tikus digunakan untuk

mengevaluasi efek ftalat yang ada di mikroplastik pada hipotalamus, termasuk dampak pada siklus hormonal, yang penting untuk memahami potensi risiko bagi kesehatan (Zhao *et al.*, 2023).

Berdasarkan dari penjelasan yang ada di atas, maka penulis mengangkat judul “Pengaruh Paparan Ftalat Terhadap Gambaran Makroanatomi Dan Mikroanatomi Hipotalamus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” agar dapat meneliti mengenai pengaruh dari paparan ftalat pada mikroplastik terhadap hipotalamus berdasarkan makroskopis dan mikroskopis. Penelitian ini akan berfokus untuk melihat perubahan dari histopatologi hipotalamus yang dipengaruhi oleh ftalat yang terkandung didalam mikroplastik dengan rumusan masalah yaitu Bagaimana gambaran makroanatomi dan mikroanatomi histopatologi hipotalamus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar mikroplastik yang mengandung ftalat dan berapa dosis paparan yang dapat mempengaruhi organ hipotalamus tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.2 Teori

1.2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih adalah hewan laboratorium yang sering digunakan karena kemampuan reproduksi tinggi (sekitar 10-12 anak/kelahiran), harga dan biaya pemeliharaan relatif murah, serta efisien dalam waktu karena sifat genetik dapat dibuat seragam dalam waktu yang lebih singkat (Kartika *et al.*, 2013) Tikus termasuk sebagai mamalia kecil tergolong dalam ordo rodensia yang beranggotakan banyak spesies tikus. *Rattus norvegicus* yang merupakan “*introduced species*” dari negara lain mempunyai tingkat penyebaran yang cepat (Priyanto *et al.*, 2020). Menurut Wati (2024), tikus putih (*rattus norvegicus*) di klasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Family	: Muridae
Superfamily	: Muroidea
Subfamily	: Murinae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

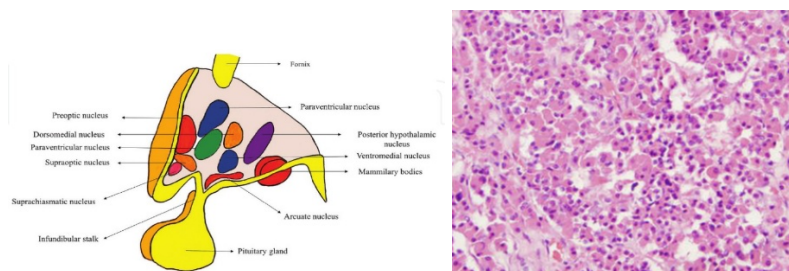


Gambar 1. Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*); A (Mata Merah), B (Hidung Pink), C (Telinga Merah Muda dan Lebar), D (Berbulu putih tebal dan kasar), E (Ekor Panjang dan Tidak Berbulu) (Komang et al, 2014).

1.2.2 Hipotalamus

Hipotalamus adalah bagian dari *diencephalon* otak yang terletak di bagian *ventral* (Colville dan Bassert, 2016). Hipotalamus terletak tepat di atas kelenjar pituitari dan mencakup sekitar 2 persen dari volume otak (Lechan dan Toni, 2016). Hipotalamus terdiri dari beberapa bagian utama yang memiliki fungsi spesifik dan dapat dibagi menjadi tiga wilayah utama yaitu area *preoptic* yang terletak di bagian paling depan, tepat di atas kiasma optik, bertanggung jawab atas termoregulasi, keseimbangan elektrolit, ritme sirkadian, dan perilaku seksual, hipotalamus tuberal, wilayah tengah yang berada di atas batang pituitari (infundibulum), mencakup area *anterior* dan *lateral* hipotalamus serta berbagai inti seperti *dorsomedial*, *ventromedial*, dan *paraventricular*, yang berperan dalam regulasi makan dan perilaku seksual, dan hipotalamus *posterior*, yang mencakup tubuh mamilaris serta area di sekitarnya, termasuk inti *tuberomammillary* dan *supramammillary*, yang berperan dalam fungsi kewaspadaan. Selain itu, hipotalamus memiliki batasan anatomi yang jelas, dengan kiasma optik di bagian depan, traktus optikus di sisi lateral, dan tubuh mamilaris di bagian belakang (Saper dan Lowell, 2014).

Hipotalamus memiliki struktur yang terdiri dari berbagai kelompok sel dan jalur serabut saraf yang simetris di sekitar ventrikel ketiga. Pada potongan sagital, hipotalamus membentang dari kiasma optik, lamina terminalis, dan komisura anterior di bagian depan (rostral) hingga tangkai otak dan fossa interpedunkular di bagian belakang (kaudal), dengan rongga ventrikel ketiga berada di garis tengah. Pada potongan koronal, dua dinding simetris hipotalamus dapat dibagi menjadi empat permukaan utama: permukaan lateral, yang berbatasan dengan talamus, subtalamus, dan kapsula interna, di mana kapsula interna memisahkan hipotalamus dari korpus striatum; permukaan medial, yang memanjang hingga dinding ventrikel ketiga dan dilapisi oleh sel-sel ependimal; permukaan superior, yang sesuai dengan sulkus hipotalamus sebagai pemisah antara hipotalamus dan massa sentral talamus; serta permukaan inferior, yang berlanjut dengan dasar ventrikel ketiga. Struktur-struktur ini mencerminkan kompleksitas anatomi hipotalamus serta hubungannya yang erat dengan bagian-bagian otak lainnya (Lechan dan Toni, 2016).



Gambar 2. Anatomi dan Histologi Hipotalamus (Anggitha, 2016).

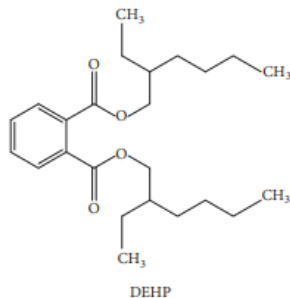
1.2.3 Mikroplastik

Mikroplastik dikenal juga sebagai “cocktail of contaminants” karena keterikatannya dengan zat aditif, logam berat, obat-obatan, pestisida, dan berbagai polutan organik persisten lainnya yang terdapat di lingkungan maupun yang ditambahkan saat proses produksi (Sincihu *et al.*, 2024). Mikroplastik sering kali mengandung zat kimia berbahaya seperti ftalat, yang memiliki potensi serius terhadap kesehatan manusia. Mikroplastik diketahui dapat memengaruhi sistem hormonal dengan menurunkan kadar hormon testosteron dan estrogen dalam tubuh. Selain itu, senyawa ini dapat mengganggu fungsi hormon tiroid, yang berperan penting dalam metabolisme dan keseimbangan hormon tubuh. Dampaknya meluas hingga menjadi racun bagi sistem reproduksi, mengganggu fungsi normalnya, dan berkontribusi terhadap berbagai gangguan reproduksi (Candra, 2023).

1.2.4 Ftalat

Ftalat sering ditemukan sebagai polutan di berbagai bagian lingkungan dan bahkan telah terdeteksi dalam jaringan tubuh. Menurut Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat (U.S. EPA), ftalat digolongkan sebagai senyawa beracun yang dapat menyebabkan gangguan pada fungsi kelenjar endokrin (Laelasari *et al* 2021). Beberapa jenis ftalat yang diketahui dapat membahayakan meliputi DMP (dimetil ftalat), DEP (dietil ftalat), DBP (dibutil ftalat), BBP (benzilbutil ftalat), DEHP (*di(2-etilheksil)* ftalat), dan DOP (*dioctil* ftalat). Varian ftalat yang paling sering dipakai dalam industri adalah *di(2-etilheksil)* ftalat (DEHP), yang banyak digunakan sebagai bahan penambah fleksibilitas (Umma *et al.*, 2020). Secara umum, DEHP ditambahkan ke dalam berbagai bahan seperti resin, plastik, karet, lem, alat kesehatan, furnitur, polimer khususnya PVC atau polivinil klorida, polietilen, polipropilen, produk kosmetik, wadah makanan, mainan anak, serta berbagai peralatan medis plastik seperti kantong penyimpanan darah, kateter, dan mesin hemodialisis (Umma *et al.*, 2020). Paparan DEHP pada tikus percobaan mengakibatkan terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) di hipotalamus, yang kemudian menyebabkan stres oksidatif pada organ tersebut, akhirnya mengakibatkan penurunan perkembangan organ hipotalamus hingga mengalami kerusakan yang parah (Laelasari *et al* 2021). Senyawa *di(2-etilheksil)* ftalat (DEHP) terakumulasi dalam jangka panjang, maka dapat mengakibatkan ketidakseimbangan hormon serta penurunan kekebalan tubuh. Hal ini bisa memberikan efek buruk terhadap sistem reproduksi, endokrin, dan saraf, baik pada manusia ataupun hewan yang terpapar senyawa tersebut, serta dapat menimbulkan hepatotoksik dan

kardiotoksik (Rowdhwai & Chen 2018).



Gambar 3. Struktur Kimia DEHP (Rowdhwai & Chen 2018).

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui gambaran makroanatomi dan mikroanatomi hipotalamus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar mikroplastik yang mengandung ftalat dan mengukur dosis ftalat untuk mengganggu fungsi organ endokrin.

1.3.2 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti mengenai hipotalamus, mikroplastik dan ftalat.

2. Manfaat Akademis

Melatih kemampuan meneliti dan menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei- Oktober 2025 di Rumah Sakit Hewan Pendidikan (RSHP) Universitas Hasanuddin sebagai tempat pemeliharaan serta pemberian perlakuan pada tikus dan Balai Besar Veteriner (BBVET) untuk pembuatan preparat dan pengamatan makroskopis yaitu berat otak dan hasil histopatologi organ otak.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu Kandang tikus, tempat pakan dan minum tikus, alat bedah minor, timbangan analitik, kamera, *box object glass*, cannula, tabung conical 10 ml dan 50 ml, mikropipet 100 µl, Eppendorf tube, spuit 1 cc, mikrotom, cetakan paraffin, mikroskop, *staining jar*, alat tulis, trashbag, *paraffin base mold*, botol cuci, dan kamera (Opti Lab), software image raster dan SPSS 25. Bahan yang digunakan yaitu Diethyl Phtalates (DEHP) (Merck), pakan tikus, sekam, *blade*, tissue, masker, *gloves*, aquades, larutan buffer formalin 10%, paraffin, Hematoxylin, Eosin Y, Xylol, Alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, dan 100%, *object glass*, *cover glass*, dan minyak emers

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk melihat Perbandingan histologihipotalamus tikus putih (*Rattus novergicus*) terhadap paparan ftalat yang ada pada mikroplastik. Penelitian ini juga termasuk dalam penelitian deskriptif kuantitatif, karena mendeskripsikan perubahan makroskopis dan mikroskopis hipotalamus tikus putih (*Rattus novergicus*).

2.4 Materi Penelitian

2.4.1 Populasi dan Sampel

Objek atau materi pada penelitian ini adalah tikus putih dewasa sebanyak 20 ekor, yang akan diberi perlakuan selama 30 hari kemudian dieuthanasia dan diamati perubahan pada organ neuroendokrin reproduksi secara makroskopis dan mikroskopis. Populasi penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) > 15$$

Keterangan:

n : jumlah sampel

t : jumlah kelompok/ perlakuan

Dengan menggunakan rumus di atas, maka dapat diperoleh jumlah sampel perkelompok, yaitu:

$$(n - 1)(t - 1) > 15$$

$$(n - 1)(5 - 1) > 15$$

$$(4n - 4) > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 4,75$$

karena jumlah sampel harus bilangan bulat, maka dibulatkan ke atas, maka :

$$n = 5$$

Dalam penelitian, 25 tikus betina dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, dengan lima tikus putih di setiap kelompok. Perawatan minyak jagung dan ftalat adalah 125 mg/kg/hari, 250 mg/kg/hari, 500 mg/kg/hari, dan 750 mg/kg/hari. Peneliti studi hewan mungkin menghadapi masalah dalam menentukan berapa banyak hewan yang harus digunakan. Menurut Arifin dan Zahiruddin (2017), ukuran sampel yang terlalu kecil dapat menghilangkan nilai nyata dari percobaan, sedangkan ukuran sampel yang lebih besar dari yang diperlukan dapat menyebabkan pemborosan sumber daya dan masalah etika dengan hewan yang dikorbankan. "Rumus "Metode *Equation Resource* (RE)" digunakan untuk mempertimbangkan keselamatan hewan dari sampel tersebut. Rumus ini biasanya digunakan untuk hewan lab atau hewan model. Mengenai jumlah sampel

$$RE = \text{Jumlah sampel} - \text{Jumlah kelompok}$$

$$RE = 25 - 5$$

$$RE = 20$$

Berdasarkan perhitungan RE yang dilakukan, jumlah sampel diambil dari nilai minimum antara 20 yang dapat dibagi 5 sehingga jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok yaitu 4 ekor pada masing-masing kelompok.

2.5 Pelaksanaan Penelitian

2.5.1 Aklimatisasi Hewan Uji Coba

Pemeliharaan hewan uji coba dilakukan sebelum perlakuan. Tujuan aklimatisasi adalah agar tikus betina yang digunakan dalam penelitian ini beradaptasi di fasilitas selama setidaknya dua minggu sebelum perlakuan dimulai. Selama periode ini, mereka dipelihara dalam kondisi yang terkontrol, termasuk suhu, pencahayaan, dan akses ke makanan serta air.

2.5.2 Kelompok Perlakuan

Terdapat 5 kelompok perlakuan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

K1: K1 adalah kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan

K2: K2 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 125 mg/kg/hari

K3: K3 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 250 mg/kg/hari

K4: K4 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 500 mg/kg/hari

K5: K5 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 750 mg/kg/hari

2.5.3 Pemberian Perlakuan

Hewan coba yang telah diaklimatisasi kemudian dibagi menjadi 5 kelompok sesuai dengan jumlah perlakuan. K1 merupakan tikus kontrol negatif yang diberikan pakan dan air minum secara *ad libitum* tanpa penambahan ftalat, K2 merupakan kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 125 mg/kg/hari, K3 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 250 mg/kg/hari, K4 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 500 mg/kg/hari, sedangkan K5 adalah kelompok tikus yang diberikan ftalat dengan dosis 750 mg/kg/hari. Pemberian Ftalat selalu dilakukan pada pagi hari pada pukul 08.00 WITA. Hewan uji kemudian diamati 2 kali sehari dan apabila terdapat tikus yang mati, maka akan langsung dilakukan nekropsi dan organ neuroendokrin akan langsung diamati secara makroskopis. Pada hari ke-30 semua

tikus yang masih hidup akan dieuthanasia menggunakan ketamin dan *xylazine* kemudian dilakukan nekropsi

2.5.4 Pengamatan Makroskopis

Tikus yang telah dinekropsi kemudian diambil bagian hipotalamus untuk dilakukan pengukuran secara makroskopis dengan mengamati berat dari organ, kemudian data yang diperoleh dicatat.

2.5.5 Pengamatan Mikroskopis

2.5.5.1 Pembuatan Preparat Histologi

1. Pertama dilakukan fiksasi terhadap organ, dimana organ direndam di larutan buffer formalin 10% selama 24 jam dan dibenamkan dalam parafin yang dicairkan dan dibuat blok paraffin
2. Jaringan yang telah difiksasi selama 24 jam ditiriskan pada saringan kemudian dipotong menggunakan pisau dengan ketebalan 1x1 cm disusun ke dalam tissue cassette dan diberi label
3. Dilakukan dehidrasi dalam etanol dengan konsentrasi bertingkat
4. Penjernihan (*Clearing*) merupakan tahapan membuat jaringan menjadi jernih dan transparan menggunakan pelarut organik seperti xylene.
5. Infiltrasi parafin (*Embedding*) yaitu proses perendaman jaringan dalam parafin yang dicairkan pada suhu 58-60°C selama 30 menit sampai 6 jam dalam inkubator bertujuan untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin selain itu juga membuat jaringan tahan terhadap pemotongan.
6. Pengeblokan (*Blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom menggunakan parafin.
7. Pemotongan (*Sectioning*) adalah proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom.
8. Evaluasi preparat setelah tahap pemotongan dilakukan untuk melihat preparat jaringan baik atau tidak sebelum dilakukan proses selanjutnya
9. Tahap terakhir adalah pewarnaan preparat jaringan. Secara berurutan masukkan slide ke dalam zat kimia. Untuk pewarnaan, zat kimia yang pertama digunakan xylol I, II, III masing-masing selama 5 menit. Kemudian dilakukan pembilasan dengan menggunakan air mengalir selama 3 menit untuk menghilangkan sisa alkohol. Preparat kemudian direndam dalam Hematoxylin selama 7 menit dilanjutkan masukkan preparat ke dalam larutan eosin 7 kali celup. Preparat kemudian direndam dalam alkohol 70%, 80%, 95%, 100% untuk dehidrasi. Preparat diberi 1 tetes entelan dan ditutup objek glass.

2.5.5.2. Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi dilakukan dengan mengamati ukuran dan jumlah makrofag sel mikroglia hipotalamus dilakukan dengan pembesaran 400x dan di evaluasi dengan scoring hipotalamus (Awadalla et al., 2023).

Tabel 1. Skoring histopatologi hipotalamus (Awadalla et al., 2023)

Kelompok	Skor			
	-	+	++	+++
Apoptosis Sel				
Neuron				
Piknotik				
Nukelus neuron				
Piknotik	Tidak ada	Perubahan	Perubahan	Kerusakan
nucleus	perubahan	Fokal	Multifokal	Difusa
astrocyte	(0%)	(<25%)	(25-50%)	(>50%)
Piknotik				
nucleus				
oligodendrocyte				
Vakuolisasi				
intercellular				

2.6 Analisis Data

Data yang dikumpulkan untuk setiap parameter dievaluasi menggunakan statistik deskriptif untuk memberikan gambaran umum tentang distribusi dan karakteristik data, seperti rata-rata dan deviasi standar. One-way ANOVA digunakan untuk membandingkan perbedaan antara kelompok perlakuan yang berbeda jika data normal dan homogen. Sedangkan kruskal wallis digunakan jika data tidak normal dan tidak homogen. Ini dilakukan untuk menentukan apakah ada perbedaan signifikan dalam parameter yang diukur antara kelompok yang terpapar dan kelompok kontrol.