

**PENGARUH INFILTRASI NANOGOLD TERHADAP PENINGKATAN KUALITAS KONTEN KOLAGEN DAN KUANTITAS MERKURI PADA KULIT MENCIT (*Mus Musculus*) SETELAH TERPAPAR MERKURI**

**THE INFLUENCE OF INCREASED INFILTRATION OF NANOGOLD COLLAGEN CONTENT QUALITY AND QUANTITY OF MERCURY ON THE SKIN OF MICE**

**(*Mus Musculus*) AFTER EXPOSURE TO MERCURY**

**Wenda Ringga Risnata\* dan Titik Taufikurrohmah**

Jurusan Kimia FMIPA, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

\*e-mail: wen\_friendly@yahoo.co.id

**Abstrak.** Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh infiltrasi nanogold terhadap kualitas konten kolagen dan kuantitas merkuri pada kulit mencit (*Mus Musculus*) setelah terpapar merkuri. Tujuan dari penelitian ini untuk Mengetahui pengaruh infiltrasi nanogold terhadap peningkatan kualitas konten kolagen pada kulit mencit (*Mus Musculus*) setelah terpapar merkuri dan Mengetahui pengaruh infiltrasi nanogold terhadap kualitas merkuri pada kulit mencit (*Mus Musculus*) setelah terpapar merkuri. Dalam penelitian ini mencit dipapar dengan krem merkuri 2 ppm selama 1 minggu dan dilakukan pemulihan dengan infiltrasi nanogold dalam bentuk krem pada konsentrasi 10 ppm selama 1-4 minggu. Untuk mengetahui kadar merkuri dilakukan uji dengan metode voltametri, sedangkan untuk mengetahui struktur jaringan kulit dilakukan dengan teknik pewarnaan histokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanogold dapat menurunkan konsentrasi merkuri pada kulit yang dipapar merkuri 2 ppm selama 1 minggu dan pemulihan dengan nanogold 10 ppm dari minggu ke 1-4 dengan hasil berturut-turut adalah 17,952 ppm; 16,454 ppm; 15,954 ppm; 14,270 ppm dan 13,856 ppm. Berdasarkan teknik pewarnaan histokimia, pemulihan kulit dengan nanogold selama 4 minggu menunjukkan kerapatan kolagen yang semakin meningkat.

**Kata kunci:** infiltrasi nanogold, histokimia, voltametri, merkuri, Nanogold, mencit (*Mus Musculus*)

**Abstract.** Research has been done on the effect of infiltration nanogold the quality of the content of collagen and quantity mercury on the skin mice (*mus musculus*) after exposure of mercury. The purpose of this research was to determine levels of mercury that is absorbed by the skin of mice (*Mus musculus*), knowing the structure of the skin of mice (*Mus musculus*) is caused by exposure to mercury histochemical and after recovery by nanogold. In this research, mice were exposed to 2 ppm mercury cream for 1 week and made recovery with nanogold infiltration in the form of cream at a concentration of 10 ppm for 1-4 weeks. To determine mercury levels using voltammetry method, while to figure out the structure of the skin have done analyzed using histochemical staining techniques. The results seen that nanogold can reduce mercury concentrations in the skin were exposed to 2 ppm mercury for 1 week and made recovery with nanogold 10 ppm for 1-4 weeks with the result 17,952 ppm, 16,454 ppm, 15,954 ppm, 14,270 ppm and 13,856 ppm. Coloring techniques based on histochemical properties of skin, recovery with nanogold for 4 weeks demonstrates the increasing collagen density.

**Keywords:** infiltration nanogold, histokimia, voltammetry, Mercury, nanogold, Mice (*Mus musculus*).

## PENDAHULUAN

Penggunaan merkuri sebagai pemutih dalam campuran kosmetik kini semakin banyak dan menjanjikan kulit konsumen menjadi lebih putih dalam waktu yang relatif singkat dengan menambahkan bahan keras merkuri (Hg) dengan

jumlah yang melebihi ambang batas normal. Tanpa memperhatikan efek yang terjadi pada kulit konsumen.

Unsur merkuri yang ada di kosmetik akan diserap melalui kulit dan bisa menyebabkan flek-flek hitam, kemerahan pada kulit dan akan

menimbulkan efek rebound yaitu memberikan respon berlawanan, kulit akan menjadi gelap/kusam saat pemakaian kosmetik dihentikan. Kosmetik bermerkuri juga dapat menimbulkan penuaan dini dan bahkan menyebabkan kanker kulit atau bersifat karsinogenik.[1]

Merkuri yang terserap di kulit akan dialirkan oleh darah melalui peredaran darah masuk ke dalam tubuh (setiowati), selanjutnya didalam tubuh merkuri dapat membentuk ikatan dengan gugus *thiol*, ikatan yang terbentuk sangat kuat dan stabil hal ini disebabkan oleh tingginya konstanta kestabilan merkuri-*thiol*. Dalam pembentukan kompleks merkuri dengan gugus *thiol* (baik itu berasal dari glutathionein, albumin, sistein dan lain-lain) merkuri akan berikatan dengan gugus *thiol* bebas yang tersedia menghasilkan radikal bebas [2]

Adanya merkuri yang terikat pada gugus *thiol* pada residu sistein ini menyebabkan fungsi dari sistein tidak berjalan dengan semestinya. Sebab gugus *thiol* sangat berperan dalam metabolisme tubuh, diantaranya adalah sebagai pusat aktif dari enzim. Adanya atom merkuri menyebabkan enzim tidak berfungsi sebab enzim bekerja secara spesifik. Ikatan merkuri yang lain adalah antara merkuri dengan disulfida. Pengaruh merkuri pada ikatan disulfida dapat menyebabkan dua hal. Pertama metil merkuri menyebabkan ikatan disulfida putus. Ikatan disulfida merupakan pembentuk struktur tersier dari suatu protein. Putusnya ikatan disulfida ini mengakibatkan protein kehilangan sifat biologisnya (denaturasi protein).

Selain kosmetik bermerkuri juga ada kosmetik dengan penambahan senyawa anti aging, biasanya berupa vitamin C, vitamin E, hormon dan kolagen. Kosmetik *antiaging* adalah kosmetik yang dapat memperlambat penuaan (*aging*) yang ditandai dengan timbulnya kerutan pada wajah, warna kulit tidak merata dan timbulnya noda hitam. Kerutan pada kulit dan penuaan bermula dari terbentuknya ikatan silang yang terjadi antar serabut kolagen pada saat terkena sinar matahari terutama sinar *ultra violet* (UV). [3]

Senyawa anti aging yang umum digunakan berupa senyawa anti oksidan yang efektif menstimulasi terbentuknya kolagen baru tetapi jugamemiliki kelemahan yaitu mudah teroksidasi, sedangkan yang berupaserum hormon

dan kolagen harganya relatif mahal. Oleh karena itu digantikannya senyawa anti aging berupa emas, berpedoman pada riwayat nenek moyang yang menggunakan emas sebagai susuk untuk kecantikan. Efek logam emas telah diuji dapat meningkatkan kandungan kolagen 50% . [4]

Dalam penelitian ini digunakan nanogold sebagai campuran krim yang diaplikasikan untuk hewan coba berupa mencit (*Mus Musculus*). Nanogold adalah senyawa yang disintesis dari larutan  $\text{HAuCl}_4$ , kation-kation Au direduksi menjadi atom-atom emas ( $\text{Au}^0$ ), yang selanjutnya saling bergabung dan membentuk cluster-cluster dengan ukuran diameter 1-100 nm. Penelitian yang terkait dan pemanfaatan nanopartikel emas dalam kosmetik[5] yaitu tentang sintesis dan karakterisasi nanogold dengan variasi konsentrasi larutan  $\text{HAuCl}_4$  sebagai material antiaging dalam kosmetik, dimana emas dalam bentuk nanomaterial dengan konsentrasi 20ppm positif mempunyai aktivitas antioksidan.

Digunakannya partikel berukuran nano dengan harapan dapat cepat terakumulasi didalam kulit mencit yang telah terpapar merkuri dan dapat memperbaiki kolagen yang telah rusak oleh merkuri. Kolagen merupakan material yang mempunyai kekuatan rentang dan struktur yang berbentuk serat. Protein jenis ini banyak terdapat dalam vertebrata tingkat tinggi. Hampir sepertiga protein dalam tubuh vertebrata berada sebagai kolagen. Semakin besar hewan, semakin besar pula bagian total protein yang merupakan kolagen. Kolagen juga merupakan komponen serat utama dalam tulang, gigi, tulang rawan, lapisan kulit dalam (dermis), tendon (urat daging) dan tulang rawan. Bahan di bagian dalam lensa mata dapat dikatakan tersusun dari kolagen murni. Kolagen ada dalam semua organ yang menampilkan kekuatan dan kekakuan [6]

Untuk melihat struktur jaringan kulit termasuk kolagen digunakan teori pewarnaan histokimia hematoksilin dan eosin yang didukung dengan teori pewarnaan van gieson, yang dibantu dengan mikroskop olimpus perbesaran 400 kali dengan software yang menganalisis kuantitas kolagennya. Dan untuk mengetahui kadar merkuri yang telah terakumulasi di dalam jaringan yang ada di kulit mencit ini digunakannya anodic stripping voltammetry dengan destruksi basah sebagai media pendahuluan.

Kemudian bagaimana pengaruh nanogold dalam bentuk krem yang digunakan secara infiltrasi yaitu dengan dioleskan pada sekitar punggung kepala mencit (*Mus musculus*) yang telah terpapar merkuri. Untuk uji aktivitas emas berukuran nanometer secara *in vivo* terhadap organ otak mencit yang telah terpapar merkuri. Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melihat bagaimana pengaruh infiltrasi nanogold terhadap kualitas jaringan dan kuantitas merkuri pada otak mencit (*Mus musculus*) setelah terpapar merkuri dengan menggunakan metode histokimia dan voltametri dalam menganalisisnya.

#### METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen (*True experimental*) dengan desain penelitian "*Randomized Post test Only Control Group Design*". Populasi penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) dari pasar hewan di daerah BG Junction Mall, Surabaya yang diperoleh dari peternakan mencit dan tikus milik Bapak Suwadi di daerah Jalan Sudimoro, Malang Jawa Timur. Pada penelitian ini konsentrasi krem merkuri 2 ppm dan konsentrasi krem nanogold 10 ppm merupakan variabel kontrol, lama pengolesan krem nanogold 1-4 minggu merupakan variabel manipulasi, dan variabel terikatnya adalah konsentrasi merkuri hasil voltametri dan gambaran histopatologis otak hasil metode histokimia.

#### Alat

Gelas kimia, gelas ukur, timbangan digital, pengaduk kaca, pipet tetes, labu ukur, pemanas listrik, jarum pentul, kertas label, kandang tikus, botol vial, tempat rol film, kaca preparat, kawat, pisau bedah, sarung tangan, penjepit, botol semprot, pembakar spiritus, labu alas bulat 250 mL, seperangkat instrumen voltameter Methrom, mikrotom (pisau mikro), kaca objek, mikroskop Motic B Series dengan perbesaran 400x, oven, *waterbath*, *casset* (tempat organ), satu set alat untuk proses *clearing*, satu set alat untuk proses *embedding*, dan satu set alat untuk proses pewarnaan.

#### Bahan

Logam Hg, asam nitrat pekat, sediaan krem, larutan H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> 1000 ppm, natrium sitrat, aquades, HCl encer, kertas saring, larutan sampel hasil destruksi, aquades, larutan standar (20, 40, 60 dan 80 ppm), buffer formalin, parafin cair, etanol (70 %, 80 %, 96 %, dan absolut), xylol/xylene, etanol asam, zat

warna hematoksilin-eosin, dan zat warna van gieson.

#### Prosedur Penelitian

##### Tahap Persiapan

Pada tahap persiapan ini dilakukan pembuatan krem merkuri dan krem nanogold. Pada persiapan hewan coba dilakukan adaptasi mencit selama 2 minggu.

##### Tahap pembuatan krem merkuri[5]

Satu gram logam Hg ditambah dengan larutan asam nitrat pekat sampai larut. Kemudian ditambah aquades sampai 100 mL, sehingga diperoleh larutan merkuri 10000 ppm. Ambil 1 mL larutan merkuri 10000 ppm dan diencerkan menjadi 100 mL, sehingga diperoleh larutan merkuri 100 ppm. Timbang 1 gram larutan merkuri 100 ppm tadi kemudian ditambahkan 49 gram sediaan krem sehingga dihasilkan 50 gram krem merkuri 2 ppm.

##### Tahap pembuatan krem nanogold[11]

Memasukkan 980 mL aquadest kedalam gelas kimia. Dipanaskan dengan kompor listrik sampai mendidih. Kedalam aquades mendidih ditambah dengan 2 gram natrium sitrat. Ditambah dengan 20 mL larutan induk H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> 1000 ppm, kemudian diaduk. Larutan terus diaduk dan dipanaskan pada suhu 100 °C sampai terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan. Diperoleh koloid nanogold 20 ppm dan didinginkan pada suhu kamar. Setelah nanogold dingin, menimbang 6 gram nanogold 20 ppm. Kemudian dimasukkan dalam 6 gram sediaan krem kosmetik, sehingga diperoleh krem nanogold dengan konsentrasi 10 ppm.

##### Tahap adaptasi mencit

Pada tahap adaptasi, mencit dibiarkan didalam kandang selama 2 minggu tanpa perlakuan. Mencit hanya diberikan makan sebanyak 2 kali dalam sehari, yaitu berupa nasi putih dan sayur gembas.

##### Tahap Pelaksanaan

Dalam tahap pelaksanaan ini mencit (*Mus musculus*) sebanyak 28 ekor dibagi dalam 7 kelompok, selanjutnya 1 kelompok diambil secara acak sebagai control (X0), dan 6 kelompok lainnya sebagai kelompok eksperimen yaitu 1 kelompok menggunakan krem nanogold 10 ppm (X1), dan 5 kelompok lainnya menggunakan krem merkuri 2 ppm selama 1 minggu. Kemudian dari 5 kelompok, 1 kelompok tidak dipulihkan dengan nanogold

(X2) sedangkan 4 kelompok lainnya dipulihkan dengan krem *nanogold* 10 ppm (X3-X6) dengan variasi lama pemberian krem *nanogold* (1, 2, 3 dan 4 minggu) pada permukaan kulit. Untuk kelompok merkuri dilakukan pembedahan setelah perlakuan selama satu minggu, sedangkan untuk kelompok pemulihan *nanogold* dilakukan pembedahan setiap minggu dari minggu 1-4. Pada pembedahan pemulihan *nanogold* ke-4 dilakukan pembedahan juga pada kelompok kontrol dan kelompok krem *nanogold*. Pembedahan ini bertujuan untuk mengambil kulit mencit yang selanjutnya dimasukkan kedalam larutan fiksatif, kemudian dianalisis secara histokimia dan uji voltametri.

#### **Tahap pengolesan krem merkuri dan krem *nanogold*.**

Mencit diambil dari kandang dengan mengangkat ekornya kemudian diletakkan diatas kandang, mencit tetap dipegang ekornya dan kepalanya. Pada saat mengoleskan krem merkuri dan krem *nanogold* sebanyak 0,1 gram pada daerah sekitar punggung kepala mencit, pengolesan harus sampai pada kulit mencit yaitu dengan menggosokkan pada sela-sela bulu mencit. Pada saat pengolesan krem peneliti harus menggunakan sarung tangan dan masker sebagai alat keamanan.

#### **Tahap pembedahan hewan coba mencit (*Mus musculus*) [7]**

Sebelum dilakukan pembedahan mencit terlebih dahulu dimatikan dengan cara dibekap pada hidung dan mulut sampai dipastikan bahwa mencit sudah mati. Setelah itu mencit diterlentangkan pada gabus dan dijepit bagian tangan dan kaki. Mencit mulai dibedah dengan merobek kulit secara perlahan mulai dari atas sampai bawah dengan pisau bedah dan mulai dilakukan pengambilan kulit mencit dengan hati-hati.

#### **Destruksi kulit mencit (*Mus musculus*) [8]**

Sebanyak 0,5 gram sampel kulit mencit dicuci dengan aquades sampai bersih, di tumbuk hingga halus, di tambah dengan 25 mL HCl encer kemudian di saring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan larutan sampel yang selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas kimia dan siap di analisis dengan instrumen Voltametri Methrom.

#### **Tahap pengukuran dengan instrumen Voltametri Methrom [9]**

Pengukuran dengan instrumen voltameter diawali dengan pengukuran larutan standar yang dibuat dari larutan induk  $Hg^{2+}$  100 ppm yang kemudian diencerkan sampai diperoleh konsentrasi larutan merkuri 10, 20, 40 dan 80 ppm. Dilanjutkan dengan menyiapkan sampel hasil destruksi diukur sebanyak 25 mL. Larutan standar dan sampel secara bergantian dimasukkan ke dalam sel voltametri kemudian dicelupkan elektroda kerja (Hg), elektroda pembanding (Ag/AgCl atau SCE), dan elektroda pembantu (Pt). Pada komputer yang terhubung dengan alat voltametri diatur equilibration time (s): 5.000; start potential (V): 0.000; end potential (V): 0.900; Voltage step (V): 0.006; voltage step time (s): 0.400; sweep rate (V/s): 0.015; dan pulse time (s): 0.040. Kemudian pengukuran dimulai dan diperoleh kurva kuat arus dan beda potensial larutan standar dan larutan sampel. Pada hasil pengukuran larutan standar dibuat kurva standar yaitu plot antara kuat arus terhadap konsentrasi merkuri sehingga diperoleh persamaan kurva, kurva standar selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi masing-masing sampel.

#### **Teknik pewarnaan histokimia [7]**

Sampel kulit mencit diambil dari larutan fiksatif diletakkan didalam *casset (tissue tek)* dan di *washing* (dibersihkan dengan air mengalir) selama kurang lebih 2 jam agar formalin yang ada dalam kulit benar-benar bersih. Setelah dilakukan *washing* maka tahap selanjutnya adalah *dehydration* (etanol 70 %, 80 %, 96 % dan absolut). Selanjutnya tahap *clearing* untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan xylol. Setelah kulit dilakukan *clearing* maka tahap selanjutnya adalah *embedding* dimana kulit dibenamkan dalam parafin cair yang kemudian akan membentuk blok parafin. Langkah selanjutnya adalah pemotongan (*sectioning*) adalah proses pemotongan blok parafin dengan menggunakan mikrotom. Ketebalan pemotongan 4 mikrometer. Jaringan yang telah dipotong selanjutnya dimasukkan dalam *waterbath* dengan suhu sekitar 50°C yang kemudian diletakkan pada kaca obyek yang sudah diolesi mayer albumin dan dioven selama  $\pm 2$  jam. Kemudian dilakukan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali/diamati dengan mikroskop. Pewarnaan disini menggunakan pewarna hematoxilin-eosin

dan van gieson. Kaca preparat sampel yang sudah dilakukan pewarnaan kemudian diberi entellan dan ditutup dengan *cover glass* dan dioven selama  $\pm 10$  menit. Pelabelan dilakukan ketika semua preparat organ telah di *mounting*. Selanjutnya sampel dapat diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400x.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Data yang diperoleh terdiri dari data kualitatif dan data kuantitatif, data kualitatif menggunakan teknik pewarnaan histokimia Hematoksin Eosin melihat sel-sel fibroblas dan Van Gieson untuk mengetahui kerapatan kolagen secara kualitatif diamati menggunakan mikroskop *Axiomager A2* dengan kamera *Axiocam /Cc 1* perbesaran 400x yang dibantu pembacaannya menggunakan *software Axiovision Rel 4.8* sedangkan data kuantitatif didapat dari hasil uji menggunakan instrumen volametri, hasil kadar merkuri dalam organ usus halus akan dianalisis statistik dengan menggunakan program (*Statistical Product and Service Solutions*) SPSS menggunakan ANAVA satu arah.

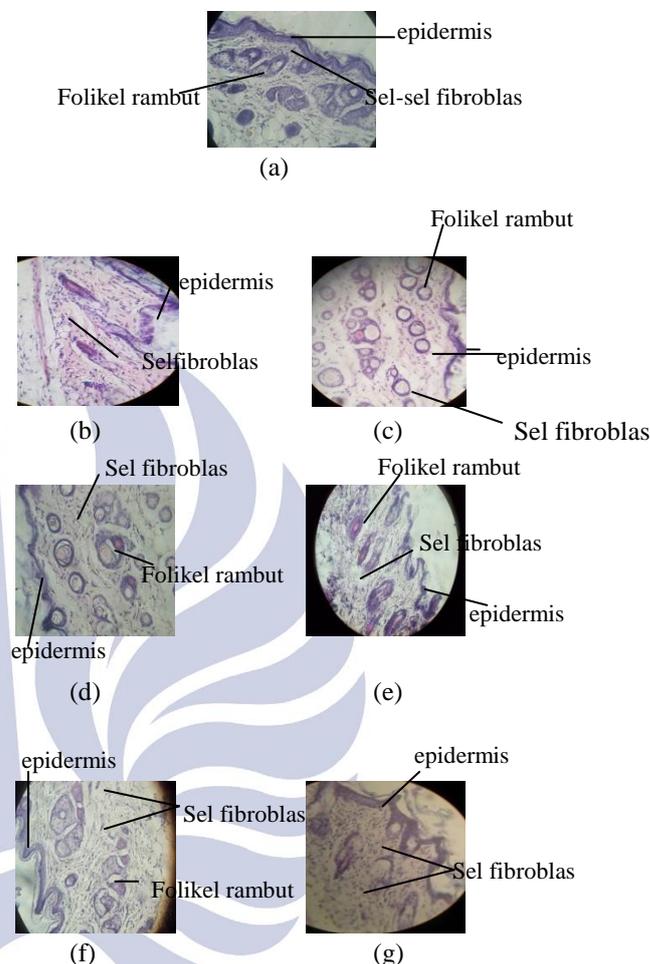
Data yang diperoleh dari pengamatan struktur histologi kulit setelah dipapar oleh merkuri dan dipulihkan dengan *nanogold* dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan gambaran mikroskopisnya dengan perbesaran 400x. Hewan coba yang digunakan adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus*) berumur 3 bulan dengan berat antara 30 sampai 40 gram yang dikelompokkan kedalam 7 perlakuan berbeda (X0, X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7) dengan 4 ekor mencit pada setiap kelompok perlakuan.

Dibawah ini adalah hasil analisis kualitas sel-sel fibroblast dan kolagen kulit mencit, baik kontrol, perlakuan dengan pemberian *nanogold* 10 ppm, pemberian merkuri 2 ppm dan pemulihan dengan *nanogold* selama 4 minggu dengan perbesaran 400x menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin.

#### Peningkatan Kualitas Sel-sel Fibroblas

Berdasarkan gambar 1 dapat dijelaskan bahwa : Pada gambar 1a yaitu mencit kelompok normal, sel-sel fibroblas berukuran rapat dan teratur, pada gambar 1b yaitu mencit kelompok *nanogold* 10 ppm, terlihat sel-sel fibroblas nya juga rapat karena *nanogold* dapat meredam radikal-radikal bebas merkuri dan melengkapi kekurangan

elektron yang dimiliki protein, mengaktifkan ikatan-ikatan sehingga rantai-rantai polimer baru tersusun kembali

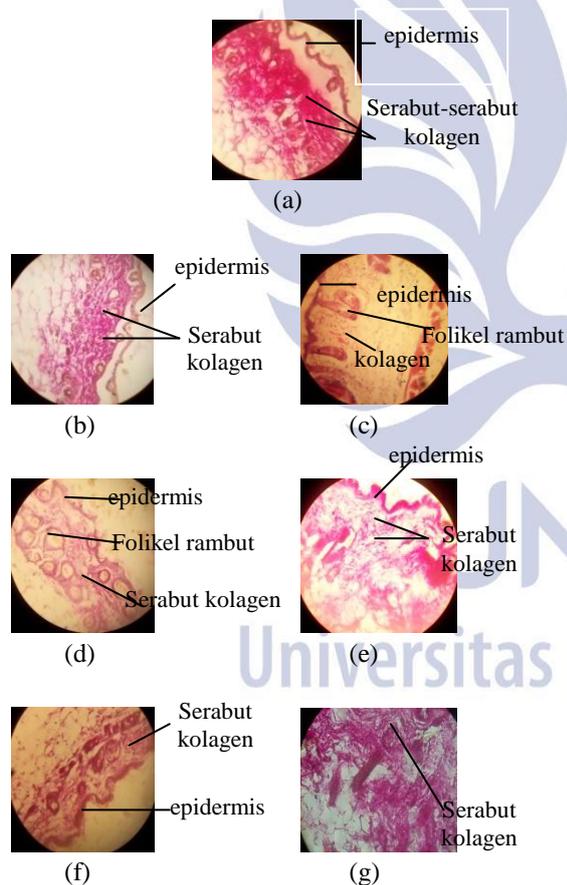


Gambar 1. Struktur jaringan kulit dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin pada perbesaran 400x.

Pada gambar 1c yaitu mencit kelompok merkuri 2 ppm, terlihat bahwa terjadi lisis sel akibat paparan merkuri karena merkuri dapat berikatan dengan gugus aktif enzim yaitu gugus thiol sehingga enzim tidak berfungsi dengan semestinya dan protein di tandai kemudian dihancurkan oleh sistem proteasom yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein-protein di kulit, Pada gambar 1d yaitu mencit kelompok pemulihan *nanogold* 10 ppm 1 minggu, terlihat sel-selnya, yang berarti belum terjadi pemulihan yang signifikan dari *nanogold*, Pada gambar 1e yaitu mencit kelompok pemulihan *nanogold* 10 ppm 2 minggu, terlihat (+) dan mulai meningkatnya kerapatan sel-sel fibroblas. Pada gambar 1f yaitu

mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 3 minggu, terlihat kerapatan sel fibroblas semakin rapat (++). Mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 4 minggu kerapatan antar sel semakin baik (mendekati normal). Pada saat yang sama terjadi proses reparasi, proses pembentukan kembali jaringan rusak atau proses penyembuhan jaringan rusak. Proses ini baru selesai sempurna sesudah agen penyebab kerusakan sel dinetralkan. Selama proses reparasi berlangsung, jaringan rusak diganti oleh regenerasi sel parenkimal asli dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan *fibroblast* (proses *scarring*)[10]. Dengan bertambahnya waktu pemulihan nanogold maka kualitas jaringan kulit semakin baik dan mengalami pemulihan yang signifikan.

#### Peningkatan kualitas Kolagen



Gambar 2. Struktur jaringan kulit dengan pewarnaan Van-Gieson pada perbesaran 400x. Memberikan warna merah pada jaringan kolagen. 2a Mencit kelompok normal, 2b mencit kelompok nanogold 10 ppm, 2c mencit kelompok merkuri 2

ppm, dan 2d-2g mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 1-4 minggu.

Berdasarkan gambar 2 dapat dijelaskan: Pada gambar 2a yaitu mencit kelompok normal, benang-benang fibril penyusun kolagen masih terlihat pada keadaan normal, pada gambar 2b yaitu mencit kelompok nanogold 10 ppm, terlihat kerapatan kolagen semakin baik. Pada gambar 2c yaitu mencit kelompok merkuri 2 ppm, terlihat kerapatan konten kolagen berkurang terlihat kolagen-kolagen merenggang. Pada gambar 2d yaitu mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 1 minggu, sudah terlihat pertumbuhan kolagen baru. Pada gambar 2e yaitu mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 2 minggu, terlihat kolagen mulai rapat (+). Pada gambar 2f yaitu mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 3 minggu, kerapatan kolagen bertambah (++). Pada gambar g yaitu mencit kelompok pemulihan nanogold 10 ppm 4 minggu, terlihat kolagen yang semakin rapat, yang berarti bahwa jaringan kulit telah terpulihkan dengan nanogold dan lamanya waktu pemulihan nanogold sangat berpengaruh terhadap peningkatan kualitas jaringan kulit yaitu konten kolagen sehingga elastisitas kulit dapat kembali lagi.

*Fibroblast* muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7[10]. Peningkatan jumlah *fibroblast* pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. *Fibroblast* ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal, terutama yang berhubungan dengan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. *Fibroblast* merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. *Fibroblast* juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3[10]. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Penumpukan kolagen pada saat awal terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka.

.Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matrik. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel-bundel

fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matrik sebagian besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan tahanan luka karena fibrogenesis kolagen[10]. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir penyembuhan luka tetap kurang dibanding dengan kulit yang tidak pernah terluka, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh. Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundel-bundel kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking* inter molekuler. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase . Kecepatan tinggi sintesis kolagen mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun. Remodeling aktif jaringan parut akan terus berlangsung sampai 1 tahun dan tetap berjalan dengan lambat seumur hidup. Pada proses remodeling terjadi reduksi secara perlahan pada vaskularisasi dan selularitas jaringan yang mengalami perbaikan sehingga terbentuk jaringan parut kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler.

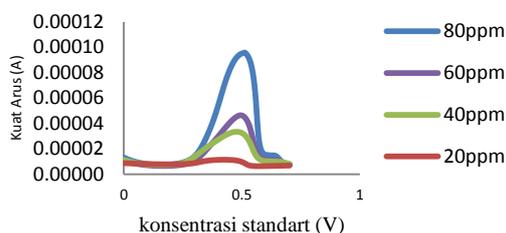
Merkuri yang digunakan dalam penelitian ini adalah merkuri anorganik. Merkuri dalam bentuk anorganik dapat mengalami reduksi menjadi merkuri elemental sehingga mengganggu sistem pernapasan dan apabila dalam bentuk merkuri anorganik akan mudah sekali berikatan dengan gugus thiol yang ada didalam tubuh. Merkuri elemental dapat berpotensi menjadi radikal bebas. Radikal bebas akan menyebabkan kerusakan jaringan akibat proses oksidasi pada lipoprotein membran sel yang ditunjukkan dengan kerusakan yang terjadi pada kolagen kulit, sehingga menyebabkan pembengkakan sel dan kualitas konten kolagen. Berkurangnya kualitas kolagen dapat disebabkan oleh ikatan kovalen antara merkuri dengan gugus thiol yang merusak protein

penyusun jaringan ikat. Dalam hal ini peranan Nanopartikel emas (*nanogold*) adalah menggantikan merkuri yang berikatan dengan gugus thiol, memulihkan pemutusan ikatan disulfida oleh merkuri yang dapat menyebabkan denaturasi protein, dan sebagai antioksidan. *Nanogold* maupun merkuri memiliki kemampuan mengikat gugus S dalam residu sistein dan metionin, baik dalam keadaan bentuk thiol bebas maupun dalam bentuk ikatan disulfida. Dengan demikian akan terjadi kompetisi antar *nanogold* dan merkuri untuk melakukan ikatan dengan gugus S. Bila pemaparan merkuri dihentikan dan infiltrasi *nanogold* dilakukan secara terus menerus maka terbukti *nanogold* mampu menggantikan posisi merkuri dalam jaringan yang telah terpapar merkuri. Selain itu material berukuran nano memiliki aktivitas 200-400x dibandingkan aktivitas material dalam bentuk padatan. Mekanisme kerja antioksidan adalah meredam spesies oksigen reaktif dan meningkatkan potensi antioksidan sehingga mengurangi kerusakan akibat proses oksidasi pada lipoprotein dan membran.

Dalam penelitian ini terbukti bahwa pemberian infiltrasi *nanogold* pada daerah punggung mencit mampu meningkatkan sintesa kolagen dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan infiltrasi *nanogold*. Namun demikian masih banyak keterbatasan yang dihadapi penulis dalam penelitian ini antara lain dalam menentukan makna kualitatif gambaran kolagen hanya ditentukan dengan membandingkan kualitas konten kolagen dengan gambar normal (netral) dan hal ini hanya dapat diketahui setelah ada pembacaan hasil, sehingga tidak dapat dijadikan pedoman untuk penggolongan kualitas secara umum.

#### **Penentuan Kadar Merkuri Menggunakan Instrumen Voltametri**

Pada analisis dengan metode voltametri diawali dengan pengukuran larutan standar konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm. Masing – masing larutan standar diukur harga kuat arus dan potensial reduksinya sehingga mendapatkan grafik standar yaitu antara kuat arus terhadap potensial reduksi seperti gambar 3.



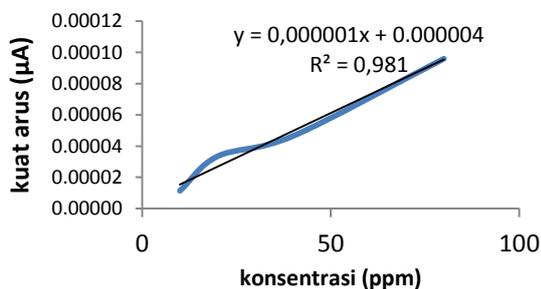
Gambar 3. Grafik standar merkuri (Hg)

Dari grafik standar pada gambar 3 tersebut dapat diperoleh harga kuat arus maksimum pada masing-masing konsentrasi larutan standar. Pada tabel 1 menunjukkan hubungan antara konsentrasi dan kuat arus maksimum dari standar:

Tabel 1. Data hasil pengukuran larutan standar merkuri.

No	Konsentrasi standar merkuri (ppm)	Kuat Arus Maksimum
1.	10	0.000011413
2.	20	0.000033472
3.	40	0.000046429
4.	80	0.000095888

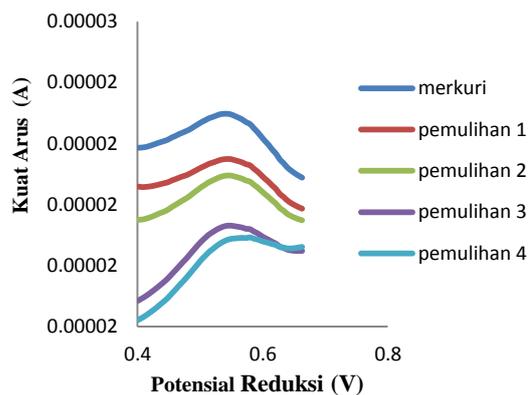
Selanjutnya akan dibuat kurva standar antara konsentrasi dan kuat arus maksimum, dari kurva standar tersebut akan diperoleh persamaan  $y = Ax + B$  yang akan digunakan untuk penentuan konsentrasi merkuri dari sampel.



Gambar 4. Kurva Standar Merkuri (Hg)

Pada kurva gambar 4 ditunjukkan hubungan antara konsentrasi standar merkuri dan kuat arus maksimum didapatkan persamaan  $y = 0.000001 x + 0.000004$ . Dari persamaan tersebut akan digunakan untuk penentuan konsentrasi merkuri pada sampel yang telah diukur kuat arus

maksimumnya menggunakan instrumen Voltmeter Metrhom pada *equilibration time* (s) : 5.000, *start potential* (V) : 0.000, *end potential* (V) : 0.900, *voltage step* (V) : 0.006, *voltage step time* (s) : 0.400, *Sweep rate* (V/s) : 0.015, *pulse amplitude* (V) : 0.050, *pulse time* (s) : 0.040. Berikut akan disajikan tabel berisi data hasil pengukuran kuat arus maksimum dari sampel:



Gambar 5. Kurva hubungan pemaparan merkuri dan pemulihan kulit mencit dengan nanogold

Pada gambar 5 hasil pengukuran terhadap sampel mencit dari berbagai kelompok perlakuan maka dibuat tabel hubungan antara konsentrasi sampel dengan kuat arus maksimum sehingga menghasilkan persentase kadar merkuri yang ditunjukkan pada tabel 2 :

Tabel 2. Data hasil pengukuran sampeldan kuat arus

No	Kelompok Perlakuan	konsentrasi	Kuat Arus Maksimum
1	Merkuri	17,952ppm	0,000021952
2	Pemulihan minggu ke-1	16,454ppm	0,000020454
3	Pemulihan minggu ke-2	15,954ppm	0,000019954
4	Pemulihan minggu ke-3	14,270ppm	0,00001827
5	Pemulihan minggu ke-4	13,856ppm	0,000017856

Berdasarkan hasil tersebut dapat dibuat kesimpulan secara deskriptif bahwa nanogold dapat menurunkan kadar merkuri pada kulit mencit yang terpapar merkuri, semakin lama waktu pemulihan dengan nanogold dapat menurunkan kadar merkuri

semakin banyak hal ini terlihat pada pemulihan dengan nanogold selama 4 minggu diperoleh kadar merkuri paling rendah yaitu 13,856 ppm. Adanya kandungan merkuri dalam kulit mencit tersebut dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada kulit mencit.

Kemudian data dianalisis dengan menggunakan anava satu arah yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pemulihan nanogold terhadap kadar merkuri pada kulit mencit (*Mus musculus*). Hipotesis dalam penelitian ini adalah ada pengaruh pemberian nanogold terhadap penurunan kadar merkuri. Persyaratan untuk melakukan uji anava satu arah adalah data dimiliki berdistribusi normal dan homogen (diuji dengan program SPSS).

Hasil uji anava satu arah memperoleh nilai signifikan ( $\alpha$ ) kurang dari 0,05 yaitu 0,000 memberi petunjuk kepada peneliti untuk menolak  $H_0$ , artinya pemberian nanogold 10 ppm dalam lama waktu yang berbeda (1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu) memberikan perbedaan terhadap nilai kadar merkuri.

Untuk mengetahui pemulihan mana yang paling berpengaruh terhadap penurunan kadar merkuri maka dilanjutkan dengan uji lanjutan menggunakan *Post Hoc Test (LSD)*, didapatkan nilai signifikan ( $\alpha$ ) kurang dari 0,05 yaitu 0,000 memberi petunjuk kepada peneliti untuk menolak  $H_0$ , artinya pemberian nanogold 10 ppm dalam lama waktu yang berbeda (1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu) memberikan perbedaan terhadap nilai kadar merkuri.

## PENUTUP

### Simpulan

1. Infiltrasi nanogold pada kulit mencit (*Mus Musculus*) berpengaruh terhadap peningkatan kualitas sel serta pemulihan pada jaringan kolagen mencit. Hal ini dibuktikan dari hasil uji histokimia menggunakan pewarnaan Van Gieson untuk mengamati kerapatan kolagen dan Hematoxylin Eosin dengan bantuan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali, diketajui bahwa kulit mencit yang terpapar merkuri mengalami denaturasi protein sehingga menyebabkan penurunan kualitas sel-sel fibroblast dan kerapatan kolagen.
2. Infiltrasi nanogold berpengaruh terhadap konsentrasi merkuri di dalam kulit mencit. Kemampuan nanogold sebagai penurunan konsentrasi merkuri dengan variasi waktu lama pemulihan dapat dilihat dari penurunan konsentrasi perlakuan merkuri untuk kelompok kontrol negatif sebesar 17,952 ppm, sedangkan untuk pemulihan selama 1, 2, 3 dan 4 minggu sebesar 16,454 ppm; 15,454 ppm; 14,270 ppm dan 13,856 ppm.

### B. Saran

1. Melakukan variasi konsentrasi dan lama waktu pemaparan nanogold untuk mendapatkan data terhadap pemulihan kulit mencit yang terpapar oleh merkuri atau logam berat lain.
2. Dilakukan penelitian pengaruh nanogold terhadap bahan-bahan berbahaya lain yang terdapat dalam kosmetik.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Taufikurrohmah, T., setiarso, P. dan Rusmini.2012.*Analisis Kadar Merkuri Dalam Kosmetik Tanpa Merk yang Beredar di Surabaya Menggunakan Instrumen Voltametri*.Prosiding Seminar Nasional FMIPA Universitas Negeri Surabaya.
2. Sumitro, S. B., & Zahar, G. (2010). *The relativistic character of mercury is important factor in deteriorating the living system*. ICEME, April 6-9. Orlando, Florida USA: ICEME Inc
3. Sharma, S., Poddar, R., Sen, P., & Andrews. 2008. Effect of vitamin C on collagen biosynthesis and degree of birefringence in polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT). *African Jurnal of Biotechnology*, 2049-2054
4. Ronald L, G., Stephen R, K., & George C, F. 1983. *Effect of heavymetalsnon humanrheumatoidsynovialcellproliferation and collagensynthesis*. *Science Direct Elsevier Inc*.
5. Arya, Rhesma. 2012. *Sintesis dan Karakterisasi Nanogold Dengan Variasi Konsentrasi Larutan H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub> Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik*. Skripsi. Surabaya: FMIPA Universitas Negeri Surabaya.
6. Abdullah, M. 2009. *Pengantar Nano sains*. Bandung : ITB
7. Zulham.2009.*Penuntunpraktikum histoteknik*.Departmen Histologi FKUSU.
8. [AOAC] Association of Official Analytical Chemysts. 1984. *Official Methods of*

- Analysts of the Association of Official Analytical Chemists*. Virginia: AOAC Inc.
9. Wurdianto, Gatot. 2007. *Merkuri, Bahayanya Dan pengukurannya*. Divisi Jasa Teknologi Kostranda, Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN.
  10. Triyono, B. (2005). *The difference of collagen appearance around wound incision between infiltrated and non infiltrated levobupivacaine pain-relief on Wistar rats Histochemistry study*. Semarang: Universitas Diponegoro Press.
  11. Taufikurrohmah, Titik. 2013. *Sintesis, karakterisasi, penentuan mekanisme dan uji prelinik nanogold sebagai material esensial dalam kosmetik anti aging*. Disertasi. Surabaya: Universitas Airlangga..

