

EFEK INDUKSI MIKROPLASTIK TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL DAN LIMFOSIT PADA MENCIT (*Mus musculus L.*)

Ahdiah Imroatul Muflihah^{1*}

*Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi
ahdiah.mufliah553@gmail.com*

Rian Anggia Destiawan^{2*}

*Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi
riananggia12@gmail.com*

Sholihatil Hidayati^{3*}

*Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi
sholihatilhidayati@yahoo.co.id*

*Corresponding Author

ABSTRAK

Pendahuluan Mikroplastik adalah polimer yang sulit atau tidak bisa di degradasi secara sempurna sehingga akan menyisakan partikel plastik yang kecil serta akan berdampak pada lingkungan dalam jangka waktu yang lama, salah satu dampak dari mikroplastik adalah terjadinya kerusakan jaringan yang mempengaruhi jumlah sel leukosit, diantaranya sel neutrofil dan limfosit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek mikroplastik terhadap jumlah sel neutrofil dan sel limfosit pada mencit jantan (*Mus musculus*). **Metode** Metode penelitian ini terdiri dari pembuatan mikroplastik dengan memanaskan air botol kemasan di oven dengan suhu 60°C selama 2 jam, kemudian pengujian partikel mikroplastik menggunakan mikroskop elektron Hitachi TM 3000. Dilanjutkan dengan proses pengelompokan mencit dibagi menjadi 3 yaitu kelompok negatif, kelompok positif, dan kelompok perlakuan. Setelah itu, dilanjutkan induksi mikroplastik pada mencit kelompok positif dan perlakuan dari hari ke-1 sampai hari ke-14. Kemudian, dilanjutkan dengan pemeriksaan sel neutrofil dan sel limfosit metode apusan darah dengan pewarnaan giemsa. Kemudian dilakukan hitung sel neutrofil dan limfosit dengan cara melihat jumlah sel pada setiap lapang pandang dengan jumlah total sel 100 sel. Terakhir adalah analisa data menggunakan independent T Test dengan nilai signifikansi 95% ($p < 0,05$). **Hasil** Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada rata-rata jumlah sel neutrofil didapatkan terjadi peningkatan yang signifikan ($0,004 < 0,05$) sel neutrofil pada kelompok positif dengan rata-rata jumlah $47,50 \pm 7,62$ dibandingkan dengan rata-rata jumlah pada kelompok negatif adalah $32,5 \pm 5,99$. Pada sel limfosit kelompok positif rata-rata jumlah sel limfosit adalah $46 \pm 15,148$ sedangkan pada sel limfosit kelompok negatif adalah $61 \pm 11,118$ sehingga terjadi penurunan namun tidak terjadi perbedaan yang signifikan ($0,07 > 0,05$). **Kesimpulan** Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa efek mikroplastik dapat meningkatkan sel neutrofil dan dapat menurunkan sel limfosit.

Kata Kunci: Mikroplastik; Neutrofil; Limfosit

ABSTRACT

Introduction Microplastics are polymers that are difficult or cannot be degraded completely so that they will leave small plastic particles and will have an impact on the environment for a long time, one of the impacts of microplastics is the occurrence of tissue damage that affects the number of leukocyte cells, including neutrophil cells and lymphocytes. The purpose of this study was to investigate the effects of microplastics on the number of neutrophil cells and lymphocyte cells in male mice (*Mus musculus*). **Method** This research method consists of making microplastics by heating bottled water in an oven with a temperature of 60oC for 2 hours, then testing microplastic particles using a Hitachi TM 3000 electron microscope. Followed by the process of grouping mice divided into 3 groups, namely negative groups, positive groups, and treatment groups. After that, microplastic induction was continued in mice in the positive group and treatment from day 1 to day 14. Then, it was followed by the examination of neutrophil cells and lymphocyte cells using the blood smear method with giemsa staining. Then the neutrophil cells and lymphocytes are counted by looking at the number of cells in each field of view with a total number of 100 cells. Finally, data analysis using an independent T Test with a significance value of 95% ($p < 0.05$). **Result** Based on the results of the research that has been carried out, it is shown that on average the number of neutrophil cells obtained there is a significant increase ($0.004 < 0.05$) of neutrophil cells in the positive group with an average number of $47.50 + 7.62$ compared to the average number in the negative group of $32.5 + 5.99$. In the positive group of lymphocyte cells, the average number of lymphocyte cells was $46 + 15.148$, while in the negative group of lymphocyte cells was $61 + 11.118$, so there was a decrease but there was no significant difference ($0.07 > 0.05$). **Conclusion** Based on these data, it can be concluded that the myrkopalstic effect can increase neutrophil cells and can decrease lymphocyte cells.

Keywords: Microplastics; Neutrophil; Lymphocyte

PENDAHULUAN

Kemasan plastik sangat banyak digunakan oleh masyarakat, seiring dengan bertambahnya jumlah pemakaian plastik maka ditemukan partikel-partikel plastik di lingkungan pun makin meningkat dari waktu ke waktu. Berbagai proses kimia di lingkungan menyebabkan plastik dapat terurai menjadi mikroplastik (Supriyo & Noviana, 2023a) . Berdasarkan gayer bersama temannya meneliti bahwa terdapat 8,3 miliar ton sampah plastik sampai tahun 2017 serta diperkirakan menghasilkan 12 miliar ton sampah plastik pada tahun 2050 (Geyer et al., 2024).

Peningkatan jumlah sampah dapat berdampak pada lingkungan, ekosistem perairan, serta manusia. Salah satu plastik

yang menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia adalah mikroplastik. Mikroplastik adalah polimer yang sulit atau tidak bisa didegradasi secara sempurna sehingga akan menyisakan partikel plastik yang kecil serta akan berdampak pada lingkungan dalam jangka waktu yang lama (Supit et al., 2022) . Mikroplastik memiliki ukuran $< 5\text{mm}$.

Akumulasi mikroplastik terdeposit pada beberapa organ diantaranya adalah hepar, ginjal dan pembuluh darah. Efek yang ditimbulkan mikroplastik adalah neurotoksisitas, perkembangan stres oksidatif, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan peredaran darah, serta terjadinya resistensi insulin, resistensi insulin dapat menyebabkan penyakit metabolik salah satunya adalah peningkatan kadar

glukosa darah yang menyebabkan terjadinya diabetes (Huang et al., 2022). Selain itu, efek mikroplastik juga berdampak pada sistem imunitas tubuh, sehingga nantinya dapat mempengaruhi fungsi fisiologis tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek mikroplastik terhadap jumlah sel neutrofil dan sel limfosit pada mencit jantan (*Mus musculus*).

METODE PENELITIAN

Metode pada penelitian ini adalah pembuatan mikroplastik, pengukuran mikroplastik, dan induksi mikroplastik, pengamatan jumlah sel neutrofil dan jumlah sel limfosit, serta yang terakhir adalah analisa data.

Pembuatan Mikroplastik

Pembuatan mikroplastik modifikasi dari penelitian (Supriyo dan Siti, 2023) Sampel air minum dimasukkan ke dalam botol air kemasan 600 ml, dipanaskan di dalam oven pada suhu 60°C. Kemudian sampel diambil sebanyak 500 mL dan dihomogenkan. Ditimbang *membrane filter PTFE hydrophilic*, Selanjutnya disaring menggunakan *membrane filter PTFE hydrophilic* dengan pori-pori 0,22 µm. Kertas saring yang sudah digunakan kemudian dikeringkan dalam desikator selama 24 jam. Kertas saring hasil residu mikroplastik kemudian diamati dibawah mikroskop elektron (Supriyo & Noviana, 2023b).

Pengamatan Mikroplastik

Pengamatan mikroplastik dilakukan dibawah mikroskop elektron merk Hitachi TM 3000 dengan perbesaran 300µm dan 30 µm.

Pengelompokan Mencit

Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan adalah *strain Balb/c* sebanyak 12 ekor dengan berat 20-25 gram, kemudian diaklimatisasi di laboratorium hewan coba Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi selama 7 hari. Setelah dilakukan

proses aklimatisasi, mencit dibagi menjadi 2 kelompok yaitu Kontrol negatif (mencit tanpa diberikan mikroplastik), kontrol positif (mencit diinduksi mikroplastik).

Induksi Mikroplastik

Pada penelitian ini induksi mikroplastik berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Choi et al., 2021), yaitu induksi mikroplastik dilakukan selama 14 hari melalui per oral dengan volume 0,5 ml/hari pada mencit kelompok positif dan perlakuan.

Pemeriksaan Sel neutrofil dan Limfosit

Pewarnaan Giemsa digunakan untuk menentukan morfologi dan jumlah sel leukosit, terutama neutrofil dan limfosit. Metode pewarnaan giemsa adalah dengan meletakkan setetes darah pada objek glass, kemudian dilakukan apusan darah dan biarkan mengering, lalu tambahkan metanol dan tunggu hingga kering. Pewarna Giemsa ditambahkan secara menyeluruh dan diamkan selama 20 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir dan diamati menggunakan mikroskop (Muflihah et al., 2024)

Perhitungan jumlah Neutrofil dan Limfosit

Perhitungan jumlah neutrofil dan limfosit dengan cara membaca bagian kepala dan ekor pada apusan darah dengan menunjukkan counting eritrosit yang tidak bergerombol. Kemudian perhitungan dilakukan dengan melihat jumlah sel pada setiap lapang pandang dengan jumlah total sel 100 sel.

Analisa Data

Analisa data dari penelitian ini adalah menggunakan *Independent T Test* dengan nilai signifikansi 95% ($P < 0,05$).

Etik Penelitian

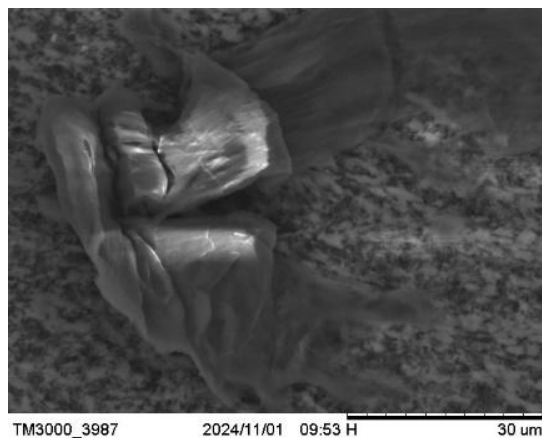
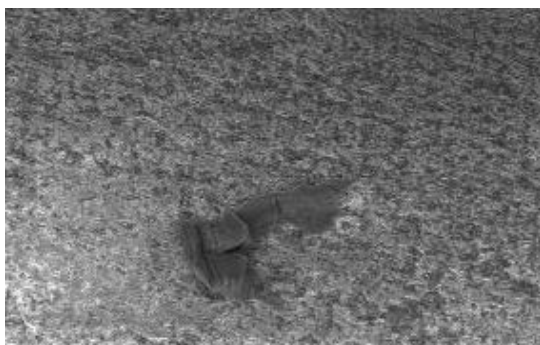
Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Universitas dr. Soebandi dengan nomer 572/KEPK/UDS/IX/2024.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroplastik merupakan partikel padat yang tidak larut dalam air dan dapat mengganggu fungsi fisiologi tubuh. Mikroplastik dapat berasal dari terurainya bagian kecil plastik pada bagian botol yang disebabkan oleh panas sehingga dapat mencemari air yang terdapat di dalam botol. Ukurand ari mikroplastik dibagi menjadi beberapa macam diantaranya nanoplastik (1nm sampai < 100nm), plastik sub-mikron (100 nm sampai 1 μm), mikroplastik kecil (1 μm sampai < 100 μm), mikroplastik besar (100 μm sampai < 5 mm), mesoplastik (5mm sampai < 2,5 cm) dan makroplastik (> 2,5 cm) (Schymanski et al., 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Muhib et al., 2023) , mikroplastik terdiri dari terdiri dari *polypropylene* (PP), *polystyrene* (PS), *polyethylene terephthalate* (PET), *polyvinyl chloride* (PVC), *polyethylene* (PE), *high-density polyethylene* (HDPE), *low-density polyethylene* (LDPE).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan setelah dilakukan pemanasan pada air kemasan botol dan dilakukan uji menggunakan mikroskop elektron, sampel menunjukkan bahwa terdapat mikroplastik pada perbesaran 300 μm (**Gambar 1**).

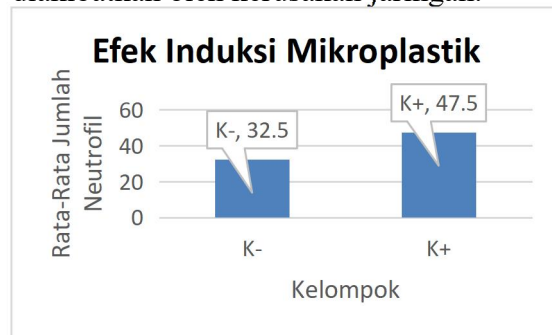


Gambar 1. Gambaran Mikroplastik. Perbesaran 300 μm (atas) dan Perbesaran 30 μm (Bawah)

Berdasarkan pengamatan tersebut, menunjukkan bahwa air panas dapat menyebabkan terkelupasnya lapisan plastik pada botol sehingga, air pada botol tersebut akan tercemar mikroplastik. Mikroplastik dapat ditemukan pada bahan plastik yang digunakan untuk makanan dan minuman panas. Akibat adanya mikroplastik yang dikonsumsi sehari sehari dapat berbahaya bagi manusia, diantaranya adalah kerusakan jaringan, meningkatkan resistensi bakteri, meningkatkan kerentanan tubuh terhadap virus, mengganggu flora normal di intestinal, mengganggu sistem imunitas (Yin et al., 2022) (Liu et al., 2022) (Zhi et al., 2024) . Kerusakan jaringan dapat mempengaruhi sel leukosit, terutama neutrofil dan sel limfosit. neutrofil akan meningkat ketika terjadi kerusakan jaringan untuk bermigrasi ke tempat terjadinya kerusakan jaringan (Yang et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada paparan mikroplastik dapat menyebabkan terjadinya peningkatan neutrofil pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif (**Gambar 2**)

Peningkatan ini diakibatkan karena mikroplastik dapat merusak jaringan sehingga dapat menginduksi proliferasi secara berlebihan dari sel neutrofil. Selain itu, peningkatan sel neutrofil juga disebabkan oleh produksi *Reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan yang diakibatkan oleh kerusakan jaringan.



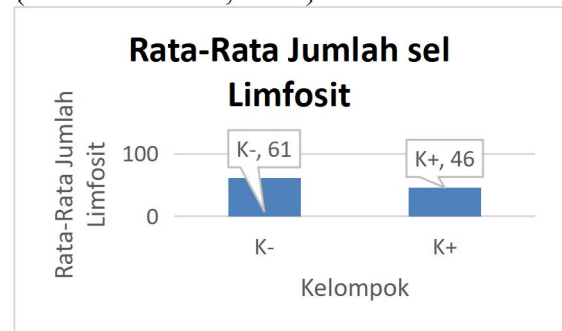
Gambar 2. Efek Induksi Mikroplastik terhadap rata-rata jumlah neutrofil

Berdasarkan analisa statistika menggunakan *Independent T Test* menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang signifikan rata rata jumlah peningkatan neutrofil kontrol positif dan kontrol negatif ($0,004 < 0,05$) dengan nilai rata-rata pada kelompok positif $47,50 \pm 7,62$ dan rata rata jumlah pada kelompok negatif adalah $32,5 \pm 5,99$. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa induksi mikroplastik selama 14 hari dapat menginduksi peningkatan rata-rata jumlah neutrofil yang signifikan.

Terjadinya perbedaan peningkatan yang signifikan antara kontrol negatif dan kontrol positif dikarenakan mikroplastik dapat merusak jaringan dan meningkatkan stres oksidatif (Teng et al., 2021) , peningkatan stres oksidatif menyebabkan peningkatan sel neutrofil (Schönrich et al., 2020) , sehingga terjadi peningkatan yang signifikan dari kontrol negatif ke kontrol positif.

Selain itu, pada sel limfosit terjadi penurunan, namun penurunan ini tidak signifikan ($0,07 > 0,05$) antara kontrol

positif dan kontrol negatif (**Gambar 3**). Pada kontrol positif rata-rata jumlah sel limfosit adalah $46 \pm 15,148$ dan rata-rata jumlah sel limfosit pada kelompok negatif adalah $61 \pm 11,118$. Penurunan sel limfosit terjadi karena meningkatnya sel neutrofil membentuk *neutrophil extracellular traps* (NETs) yang disebabkan oleh induksi mikroplastik. NETs dapat menekan sistem imunitas adaptif, yaitu sel limfosit (Schönrich et al., 2020).



Gambar 3. Efek Induksi Mikroplastik terhadap rata-rata jumlah limfosit

Peningkatan *Reactive oxygen species* (ROS), peningkatan fagositosis, menyebabkan peningkatan pembentukan NETs (Blanco-Camarillo et al., 2021) , serta menyebabkan penekanan proliferasi dari sel limfosit T (Hassani et al., 2020).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di atas menunjukkan bahwa induksi mikroplastik dapat menyebabkan terjadinya Peningkatan rata-rata jumlah sel neutrofil dan penurunan rata-rata jumlah sel limfosit.

SARAN

Pada penelitian ini adalah dengan meningkatkan mengembangkan parameter-parameter yang digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kemenristek DIKTI yang telah memberikan Dana Hibah

Penelitian pada batch 3 dengan nomer surat keputusan 1297/D4/AL.04/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Blanco-Camarillo, C., Alemán, O. R., & Rosales, C. (2021). Low-Density Neutrophils in Healthy Individuals Display a Mature Primed Phenotype. *Frontiers in Immunology*, *12*. <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.672520>
- Choi, Y. J., Kim, J. E., Lee, S. J., Gong, J. E., Jin, Y. J., Seo, S., Lee, J. H., & Hwang, D. Y. (2021). Inflammatory response in the mid colon of ICR mice treated with polystyrene microplastics for two weeks. *Laboratory Animal Research*, *37*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s42826-021-00109-w>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2024). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, *3*(7), e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Hassani, M., Hellebrekers, P., Chen, N., van Aalst, C., Bongers, S., Hietbrink, F., Koenderman, L., & Vrisekoop, N. (2020). On the origin of low-density neutrophils. *Journal of Leukocyte Biology*, *107*(5), 809–818. <https://doi.org/10.1002/JLB.5HR0120-459R>
- Huang, D., Zhang, Y., Long, J., Yang, X., Bao, L., Yang, Z., Wu, B., Si, R., Zhao, W., Peng, C., Wang, A., & Yan, D. (2022). Polystyrene microplastic exposure induces insulin resistance in mice via dysbacteriosis and pro-inflammation. *Science of the Total Environment*, *838*(May), 155937. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155937>
- Muflihah, A. I., Destiawan, R. A., Wijaya, A. F., Yulia, L., Sufi, Q. N., Camelia, L., Azizah, N., Makki, A. A., & Imroatul, A. (2024). *Gambaran Morfologi Sel Neutrofil Pada Pewarnaan Giemsa dengan Variasi Waktu Pada Larutan Pengencer Akuades merah , sel darah putih , trombosit , dan parasit yang ada didalam darah . Granula pada sel yang memberikan warna biru-ungu pada nukleoprotein , gra. 10*(1), 126–135.
- Muhib, Md. I., Uddin, Md. K., Rahman, Md. M., & Malafaia, G. (2023). Occurrence of microplastics in tap and bottled water, and food packaging: A narrative review on current knowledge. *Science of The Total Environment*, *865*, 161274. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161274>
- Schönrich, G., Raftery, M. J., & Samstag, Y. (2020). Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Advances in Biological Regulation*, *77*, 100741.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbior.2020.100741>

<https://doi.org/10.14710/metana.v19i2.58548>

- Schymanski, D., Oßmann, B. E., Benismail, N., Boukerma, K., Dallmann, G., von der Esch, E., Fischer, D., Fischer, F., Gilliland, D., Glas, K., Hofmann, T., Käßler, A., Lacorte, S., Marco, J., Rakwe, M. El, Weisser, J., Witzig, C., Zumbülte, N., & Ivleva, N. P. (2021). Analysis of microplastics in drinking water and other clean water samples with micro-Raman and micro-infrared spectroscopy: minimum requirements and best practice guidelines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413(24), 5969–5994. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y>
- Supit, A., Tompodung, L., & Kumaat, S. (2022). Mikroplastik sebagai Kontaminan Anyar dan Efek Toksiknya terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, 13(1), 199. <https://doi.org/10.26630/jk.v13i1.2511>
- Supriyo, E., & Noviana, S. N. (2023a). Kandungan Mikroplastik Pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) yang Beredar di Semarang, Jawa Tengah. *Metana*, 19(2), 69–78. <https://doi.org/10.14710/metana.v19i2.58548>
- Supriyo, E., & Noviana, S. N. (2023b). Kandungan Mikroplastik Pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) yang Beredar di Semarang, Jawa Tengah. *Metana*, 19(2), 69–78.
- Teng, J., Zhao, J., Zhu, X., Shan, E., & Wang, Q. (2021). Oxidative stress biomarkers, physiological responses and proteomic profiling in oyster (*Crassostrea gigas*) exposed to microplastics with irregular-shaped PE and PET microplastic. *Science of The Total Environment*, 786, 147425. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147425>
- Yang, S. C., Tsai, Y. F., Pan, Y. L., & Hwang, T. L. (2021). Understanding the role of neutrophils in acute respiratory distress syndrome. *Biomedical Journal*, 44(4), 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.09.001>
- Yin, K., Lu, H., Zhang, Y., Hou, L., Meng, X., Li, J., Zhao, H., & Xing, M. (2022). Secondary brain injury after polystyrene microplastic-induced intracerebral hemorrhage is associated with inflammation and pyroptosis. *Chemico-Biological Interactions*, 367, 110180. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110180>
- Zhi, L., Li, Z., Su, Z., & Wang, J. (2024). Immunotoxicity of microplastics: Carrying pathogens and destroying the immune system. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 177, 117817. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117817>