

# Uji hipersensitivitas kontak dan spesifisitas terhadap merkuri (Hg) pada tikus Wistar

Yustina Andwi Ari Sumiwi<sup>\*</sup>, Wihaskoro Sosroseno<sup>\*\*</sup>, Marsetyawan HNE Soesatyo<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran,

<sup>\*\*</sup>Bagian Kedokteran Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Gadjah Mada

## ABSTRACT

Yustina Andwi Ari Sumiwi, Wihaskoro Sosroseno, Marsetyawan HNE Soesatyo - *Contact hypersensitivity test and specificity to mercury (Hg) in Wistar rat.*

Mercury is one of the potent allergens which can induce contact hypersensitivity. This substance however, is commonly used for cosmetics and medical purposes. The exact mechanisms underlying the mercury-induced hypersensitivity remain unclear. Studies on mercury contact hypersensitivity in human were hampered due to ethical reason. This investigation was, therefore, aimed at studying hypersensitivity reactions in animal model. Thirty five female Wistar rats, aged three months were divided into three groups of treated animals and two groups of controls. The treated groups were sensitized with 2,5%, 5%, and 10% HgCl<sub>2</sub> in petrolatum for 10 days. At day 14, animals were challenged with 5% HgCl<sub>2</sub> in 97% ethanol. Contact hypersensitivity was assessed by measuring the ear swelling before and after ear challenge. Specificity test was carried out by challenging the sensitized animals with K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. The results showed that the peak levels of ear swelling could be achieved by applying 10% HgCl<sub>2</sub> as compared to other groups of animals. Chromium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) ear challenge following 10% HgCl<sub>2</sub> sensitization failed to induce ear swelling. It can be concluded that the mercury hypersensitivity reaction in this animal model is antigen-specific.

Key words: allergy - contact hypersensitivity-mercury - DTH reaction - Wistar rats.

## ABSTRAK

Yustina Andwi Ari Sumiwi, Wihaskoro Sosroseno, Marsetyawan HNE Soesatyo - *Uji hipersensitivitas kontak dan spesifisitas terhadap merkuri (Hg) pada tikus Wistar*

Di Indonesia merkuri (Hg) masih banyak dipakai sebagai campuran pada bahan kosmetik dan restorasi gigi. Di lain pihak merkuri merupakan alergen yang poten untuk menimbulkan hipersensitivitas. Imunopatogenesis hipersensitivitas kontak (HK) terhadap merkuri belum diketahui secara pasti. Untuk mempelajari HK terhadap merkuri sulit dilakukan pada manusia secara tuntas karena alasan etika. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari HK terhadap merkuri pada binatang model. Digunakan tikus Wistar umur 3 bulan sebanyak 35 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Tiga kelompok perlakuan masing-masing diinduksi dengan salep HgCl<sub>2</sub> 2,5%, 5% dan 10% selama 10 hari. Pada hari ke 14 dilakukan paparan ulang pada daun telinga dengan larutan HgCl<sub>2</sub> 5%. Sebelum dan sesudah paparan ulang tebal telinga diukur dengan mikrometer. Uji spesifisitas reaksi dilakukan dengan cara memberi paparan ulang K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> pada tikus yang sebelumnya diinduksi dengan HgCl<sub>2</sub>. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pengolesan merkuri pada kulit tikus Wistar dapat menimbulkan reaksi hipersensitivitas kontak. Reaksi tertinggi dicapai setelah pemberian salep HgCl<sub>2</sub> 10%. Reaksi hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar bersifat spesifik antigen.

(B.I.Ked. Vol. 30, No. 1:1-5, Maret 1998)

## PENGANTAR

Hipersensitivitas kontak merupakan prototipe *Delayed type hypersensitivity* (DTH) atau hipersensitivitas tipe lambat<sup>1,2</sup>. Antigen yang sering menimbulkan hipersensitivitas kontak adalah berupa logam tertentu seperti nikel, kromium dan merkuri (Hg)<sup>3,4,5,6,7</sup>.

Di berbagai negara termasuk Indonesia, merkuri banyak dipakai sebagai campuran pada bahan kosmetik dan restorasi gigi (misalnya amalgam). Sebagaimana hipersensitivitas kontak karena logam lainnya, alergi kontak terhadap merkuri diperkirakan diperantarai oleh sel limfosit T<sup>8</sup>.

Penelitian pada manusia untuk mempelajari imunopatogenesis hipersensitivitas kontak terhadap merkuri sangat terbatas, karena alasan etika. Oleh karena itu perlu dicari alternatif untuk mendapatkan model pada binatang yang cocok untuk mempelajari hipersensitivitas kontak akibat merkuri. Telah diketahui bahwa logam-logam yang dapat menimbulkan hipersensitivitas kontak pada manusia, tidak selalu merupakan alergen yang poten pada binatang. Dari berbagai penelitian dapat disimpulkan bahwa timbulnya reaksi hipersensitivitas kontak pada binatang tergantung pada jenis binatang, jenis logam dan cara masuknya alergen (*route*)<sup>9,10</sup>.

Pada binatang model, manifestasi hipersensitivitas tipe lambat dapat dilihat melalui perubahan pada daun telinga atau telapak kaki, yakni terjadi pembengkakan (*swelling*). Vreeburg<sup>10</sup> berhasil melakukan sensitisasi epikutan pada mencit BALB/c dengan merkuri klorida (HgCl<sub>2</sub>) dalam berbagai konsentrasi diikuti pembalutan kemudian dilakukan paparan ulang (*challenge*) pada telinga. HgCl<sub>2</sub> dengan konsentrasi 5% menghasilkan reaksi hiper sensitivitas kontak yang paling baik yang ditandai dengan meningkatnya ketebalan telinga.

Adanya perbedaan hasil penelitian dari Vreeburg<sup>10</sup> dan Kinnby<sup>11</sup> menunjukkan bahwa reaksi hipersensitivitas terhadap HgCl<sub>2</sub> sangat ditentukan oleh jenis hewan percobaan yang digunakan.

Di Yogyakarta, hewan coba selain mencit dan marmut, tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar banyak digunakan untuk penelitian. Dibanding dengan marmut, tikus putih lebih murah dan sistem imunitas binatang ini telah banyak

dipelajari. Tikus putih lebih besar daripada mencit sehingga untuk penelitian hipersensitivitas kontak, tikus putih lebih mudah ditangani. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari reaksi hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar.

## BAHAN DAN CARA

Digunakan tikus Wistar sebanyak 35 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri atas 7 ekor. Kelompok I dan II diolesi vaselin putih (bahan dasar salep) pada punggung yang telah dicukur bulunya, kemudian dibalut dengan plester hipoalergenik (Hypafix, PT Central Sari Medical Supplies). Kelompok III, IV dan V diolesi salep HgCl<sub>2</sub> (E. Merck, Darmstadt, FR Germany) ± 1,5 mg dengan konsentrasi berturut-turut 2,5%, 5% dan 10%, kemudian dibalut dengan plester selama 10 hari. Pada hari ke 14, telinga tikus kelompok I diolesi etanol 97%, sedang kelompok II-IV diolesi HgCl<sub>2</sub> 5% dalam etanol 97%. Sebelum pengolesan telinga dilakukan, ketebalan telinga diukur dengan mikrometer (Mitutoyo, Japan). Dua puluh empat jam, 48 jam dan 72 jam setelah diolesi, ketebalan telinga kembali diukur.

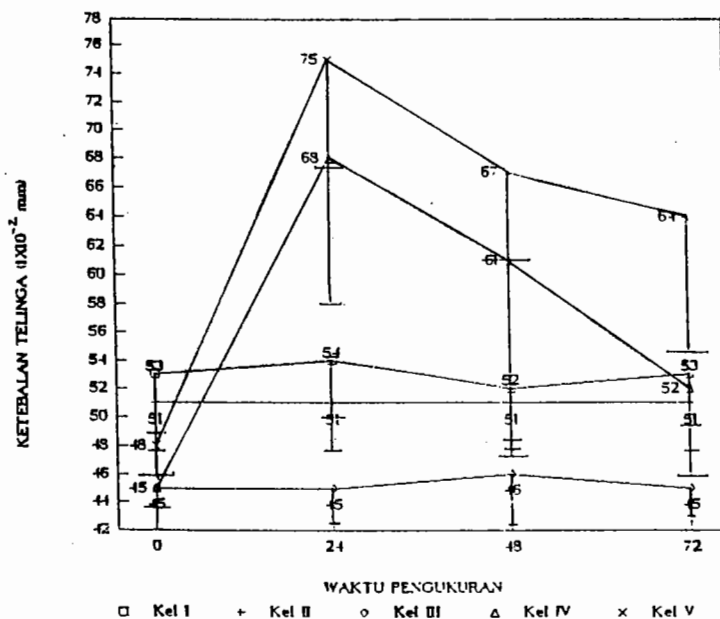
Untuk mengetahui spesifisitas reaksi (yang merupakan salah satu sifat reaksi hipersensitivitas), digunakan 21 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing 7 ekor. Tikus kelompok A diolesi vaselin pada punggung, sedang kelompok B dan C diolesi salep HgCl<sub>2</sub> dengan konsentrasi dipilih di antara 2,5%, 5% dan 10% yang menghasilkan reaksi optimal dan diplester. Pada hari ke 14, telinga tikus kelompok A diolesi etanol 97%, tikus kelompok B diolesi HgCl<sub>2</sub> 5% dan kelompok C diolesi K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,8% dalam dimethyl sulfoxide (DMSO) murni (Difco Lab, Detroit, Michigan, USA). Dua puluh empat jam, 48 jam dan 72 jam kemudian, ketebalan telinga diukur dengan mikrometer. Hasil pengukuran ketebalan telinga dianalisis dengan analisis varian dua jalan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketebalan telinga tikus antar kelompok maupun dalam kelompok berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ). Ketebalan telinga kelompok IV dan V

TABEL 1. - Hasil uji hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar.

Kelompok	Rerata ketebalan telinga (mm)			
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
I	0,53 ± 0,043	0,54 ± 0,041	0,53 ± 0,038	0,53 ± 0,038
II	0,51 ± 0,034	0,51 ± 0,034	0,51 ± 0,034	0,51 ± 0,037
III	0,45 ± 0,030	0,45 ± 0,028	0,46 ± 0,027	0,45 ± 0,023
IV	0,45 ± 0,016	0,68 ± 0,100	0,61 ± 0,144	0,52 ± 0,062
V	0,45 ± 0,020	0,75 ± 0,076	0,67 ± 0,062	0,64 ± 0,092



GAMBAR 1. - Hasil uji hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar. Grafik rerata ketebalan telinga tikus pada saat sebelum paparan ulang (0), 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah paparan ulang. Kelompok I: tanpa induksi dan tanpa paparan ulang, kelompok II: tanpa induksi, dengan paparan ulang, kelompok III: induksi salep HgCl<sub>2</sub> 2,5% dan paparan ulang, kelompok IV: induksi salep HgCl<sub>2</sub> 5% dengan paparan ulang, kelompok V: induksi salep HgCl<sub>2</sub> 10% dengan paparan ulang.

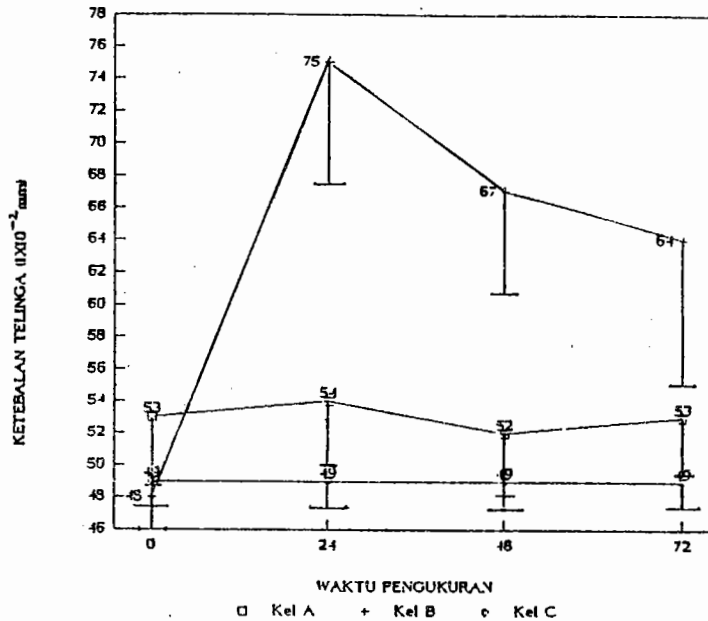
mencapai puncak pada 24 jam setelah paparan ulang yaitu mencapai  $68 \times 10^{-2}$  mm untuk kelompok IV dan  $75 \times 10^{-2}$  mm untuk kelompok V (TABEL 1 dan GAMBAR 1).

Dengan demikian dapat dikatakan induksi dengan salep HgCl<sub>2</sub> 2,5% (kelompok III) tidak membangkitkan reaksi hipersensitivitas pada tikus Wistar. Reaksi hipersensitivitas terjadi pada tikus yang menerima paparan ulang HgCl<sub>2</sub> 5% dan 10%. Pada grafik tampak kenaikan tebal telinga dengan puncak pada 24 jam setelah paparan ulang. Hal ini sesuai dengan sifat reaksi DTH, yaitu reaksi terjadi 24-48 jam setelah paparan ulang. Secara statistik, ketebalan telinga kelompok V (HgCl<sub>2</sub> 10%) 24 jam setelah paparan ulang berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan ketebalan telinga tikus lainnya. Berdasarkan hal itu maka untuk menguji spesifisitas reaksi digunakan HgCl<sub>2</sub> 10% untuk induksi.

Untuk mengetahui spesifisitas reaksi dilakukan uji spesifisitas menggunakan zat selain HgCl<sub>2</sub>, pada penelitian ini dipilih kromium dalam bentuk K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Ketebalan telinga pada saat sebelum paparan ulang, pada 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah paparan ulang disajikan pada GAMBAR 2 dan TABEL 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok yang menerima paparan ulang HgCl<sub>2</sub> berbeda bermakna baik dengan kelompok yang menerima paparan ulang K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> maupun dengan kelompok kontrol. Merkuri klorida (HgCl<sub>2</sub>) sebagai alergen akan membentuk kompleks alergen-molekul MHC kelas II pada permukaan membran *allergen presenting cells* yang ada pada epidermis yaitu sel Langerhans, yang secara spesifik akan dikenali oleh sel limfosit T. Selanjutnya sel T teraktivasi sebagai sel efektor. Tetapi hingga saat ini belum diketahui secara pasti di mana tempat sensitisasi sel T. Urutan peristiwa yang dapat diterima

TABEL 2. - Hasil uji spesifisitas reaksi hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar.

Kelompok	Rerata ketebalan telinga (mm)			
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
I	0,53 ± 0,043	0,54 ± 0,041	0,53 ± 0,038	0,53 ± 0,038
II	0,48 ± 0,020	0,75 ± 0,076	0,67 ± 0,062	0,64 ± 0,092
III	0,49 ± 0,017	0,49 ± 0,017	0,49 ± 0,018	0,49 ± 0,017



GAMBAR 2. - Hasil uji spesifisitas reaksi hipersensitivitas kontak terhadap merkuri pada tikus Wistar. Grafik rerata ketebalan telinga tikus pada jam sebelum paparan ulang (0), 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah paparan ulang. Kelompok A: kontrol, kelompok B: induksi HgCl<sub>2</sub> 10% paparan ulang HgCl<sub>2</sub> 5%, kelompok C: induksi HgCl<sub>2</sub> 10% paparan ulang K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,8%.

secara luas adalah sel Langerhans menangkap antigen dalam epidermis dan membawa antigen tersebut ke nodus limfatikus regional untuk kemudian menyajikan fragmen peptida bersama molekul MHC kelas II kepada sel T.

Sel efektor spesifik HgCl<sub>2</sub> tadi akan cepat bereaksi apabila terjadi kontak ulang dengan HgCl<sub>2</sub>. Sel T efektor spesifik HgCl<sub>2</sub> akan memproduksi limfokin *proinflammatory* dan substansi lain ke jaringan sehingga terjadi proliferasi sel T dan penarikan sel inflamasi dari sirkulasi darah. Sistem koagulasi juga teraktivasi sehingga menyebabkan pembentukan fibrin dan mengumpul di tempat inflamasi. Deposisi fibrin ini menyebabkan indurasi<sup>2</sup>. Bila kontak ulang yang terjadi adalah kontak dengan zat lain, dalam hal ini K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, maka sel efektor spesifik HgCl<sub>2</sub> tidak akan bereaksi karena tidak mengenali alergen tersebut. Dari hasil penelitian tersebut

terbukti bahwa reaksi hipersensitivitas terhadap merkuri pada tikus Wistar merupakan reaksi yang bersifat spesifik antigen.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pengolesan merkuri pada kulit tikus Wistar dapat menimbulkan reaksi hipersensitivitas kontak. Reaksi hipersensitivitas tertinggi dicapai setelah pemberian salep HgCl<sub>2</sub> 10%. Pengolesan merkuri pada kulit tikus Wistar, menimbulkan reaksi hipersensitivitas kontak yang bersifat spesifik antigen.

## KEPUSTAKAAN

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: Saunders, 1991.

2. Terr AI. Inflammation. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, editors. Basic and clinical immunology. 8<sup>th</sup> ed. London: Prentice-Hall International, 1994.
3. Kusaka Y. Occupational disease caused by exposure to sensitizing metals. *Sangyo-Igaku* 1993; 35: 75-87.
4. Sun CC. Allergic contact dermatitis of the face from contact with nickel and ammoniated mercury in spectacle frames and skinlightening creams. *Contact Dermatol* 1987; 17: 306-9.
5. Berova N, Stransky L, Krasteva M. Studies on contact dermatitis in stomatological staff. *Dermatol-Monatsschr* 1990; 176: 15-8.
6. Nordlind K, Liden S. Patch test reaction to metals salts in patients with oral mucosal lesions. *Contact Dermatol* 1992; 27: 157- 60.
7. Kanerva L, Komulainen M, Estlander T, Jolanski R. Occupational allergic contact dermatitis from mercury. *Contact Dermatol* 1993; 28: 26-8.
8. Warvinge G, Larsson A. Contact stomatitis to mercury associated with spontaneous mononuclear cell infiltrates in Brown Norway (BN) rats with HgCl<sub>2</sub>-induced autoimmunity. *J Oral Pathol Med* 1994; 23:441-5.
9. Warfvinge G, Larsson A. Spontaneous lymphocytic infiltrates of oral mucosa in HgCl<sub>2</sub> induced autoimmunity of BN rats: Phenotypic characteristics and contact hypersensitivity to Hg. *Reg Immunol* 1990; 3:88-96.
10. Vreeburg KJJ. Experimental metal allergy. Immunological consequences of the use of metals in dentistry [PhD Thesis]. Vrije Universiteit, Amsterdam. 1989.
11. Kinby B, Konsberg R, Larsson A. Immunogenic potential of some mercury compounds in experimental contact allergy of the rat oral mucosa. *Scand J Dent Res* 1988; 96: 60-8.