



PERBANDINGAN PENGARUH ANTARA L-ARGININ DENGAN NIFEDIPIN TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS SPRAGUE-DAWLEY YANG DIBERI
MEDIA KONTRAS IOPAMIDOL INTRAVENA

ARTIKEL ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan
melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun oleh:

Matrissya Hermita

NIM: G2A 002 114

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

SEMARANG

2006

LEMBAR PENGESAHAN

ARTIKEL ILMIAH

**PERBANDINGAN PENGARUH ANTARA L-ARGININ DENGAN NIFEDIPINE TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS SPRAGUE-DAWLEY YANG DIBERI MEDIA KONTRAS IOPAMIDOL
INTRAVENA**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Matrissya Hermita
NIM. G2A 002 114

Telah dipertahankan dihadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
pada tanggal 28 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Tim penguji

Ketua Penguji

Penguji

dr.Neni Susilaningsih, M.Si.
NIP. 131 832 243

dr. Hardian
NIP. 131 875 466

Mengetahui,
Pembimbing

dr.Hermina Sukmaningtyas, M.Kes
NIP. 132 205 006

Comparison of L-arginine and Nifedipine Effects on Kidney's Histopathological Appearance in Sprague-Dawley Rats Administered by Intravenous Radiological Contrast Iopamidol

Matrissya Hermita¹⁾, Hermina Sukmaningtyas²⁾

ABSTRACT

Background: Iopamidol may cause Contrast Nephropathy (CN) as a result from direct tubular epithelial cell toxicity and ischemia. Tubular epithelial cell has a low tolerability from both anoxia and toxic. Ischemia results from vasoconstriction caused by alterations in the NO level and calcium ions overload. L-arginine increases NO level. Nifedipine disrupts the role of calcium ions in smooth muscles.

Objectives: To investigated the effects of iopamidol administration, L-arginine and nifedipine pre-administration on kidney's histological appearance in Sprague-Dawley rats also to compare the effects between L-arginine and nifedipine

Methods: This research was an experimental study, with post test only control group design. Research samples were 24 male aged 8 weeks Sprague-Dawley rats, were randomly divided into 4 groups. K(-) group, didn't receive any treatments; K(+) group, received iopamidol; P1 group, received 8,4% (W/V) L-arginine on their drink during the 1st 7 days, P2 group received 0,2 mg nifedipine orally on the day 7. Dose of iopamidol used was 0,63 cc/200gr body weight given on the day 8. On day 9, the decapitations were done and the kidneys were proceeding with HE staining. Within group differences of data were analyzed by ANOVA. Difference among groups was analyzed by Post Hoc Test Bonferroni.

Results: The averages of the percentages of the proximal tubules's edemas on K(-) was $23.02 \pm 0.79\%$; K(+) group was $62.57 \pm 0.78\%$; P1 group was $54.53 \pm 1.37\%$; P2 group was $44.65 \pm 1.66\%$. And there was a significant difference between all groups, $p=0.001$.

Conclusion: Iopamidol caused the edemas of proximal tubules. L-arginine and nifedipine decreased the percentages of the proximal tubules's edema caused by iopamidol and there was significant differences in effects between L-arginine and nifedipine.

Keywords: iopamidol, the edemas of proximal tubules, L-arginine, nifedipine

Perbandingan Pengaruh antara L-arginin dengan Nifedipin terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Sprague-Dawley yang Diberi Media Kontras Iopamidol Intravena

Matrissy Hermita¹⁾, Hermina Sukmaningtyas²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang: Injeksi iopamidol akan menyebabkan *Contrast Nephropathy* (CN) yang disebabkan oleh toksisitas direk sel epitel tubulus dan iskemik ginjal. Sel epitel tubulus merupakan sel yang rentan terhadap anoksi dan toksin. Iskemi timbul akibat vasokonstriksi karena turunnya kadar NO dan meningkatnya kadar ion kalsium darah. L-arginin meningkatkan kadar NO, nifedipin menghambat kerja ion kalsium pada otot polos pembuluh darah

Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian iopamidol, mengetahui serta membandingkan pengaruh antara L-arginin dan nifedipin sebelum injeksi iopamidol terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus Sprague-Dawley.

Metode: Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan *rancangan The Post-Test Only Control Group Design*. Sampel penelitian adalah 24 ekor tikus Sprague-Dawley jantan berumur 8 minggu, dibagi secara acak menjadi 4 kelompok. Kelompok K(-) tidak diberi perlakuan, kelompok K(+) diinjeksi iopamidol, kelompok P1 diberi 8.4% L-arginin dalam air minum selama 7 hari sebelum injeksi iopamidol, dan kelompok P2 diberi nifedipin 0,2 mg dosis tunggal per oral 24 jam sebelum injeksi iopamidol. Dosis iopamidol yang digunakan adalah 0,63 cc/200 gramBB. Pada hari ke-9, tikus didekapitasi, diambil ginjalnya untuk diproses dengan pengecatan HE. Dilakukan uji ANOVA untuk melihat adanya perbedaan pada keempat kelompok perlakuan. Besarnya perbedaan masing-masing kelompok perlakuan dianalisis dengan Post Hoc Test Bonferroni.

Hasil: Rerata persentase edem tubulus proksimal pada kelompok K(+) sebesar $62.57 \pm 0.78\%$; kelompok P1 $54.53 \pm 1.37\%$; kelompok P2 $44.65 \pm 1.66\%$; kelompok K(-) sebesar $23.02 \pm 0.79\%$. Didapatkan perbedaan bermakna antara semua kelompok dengan $p=0.001$.

Kesimpulan: Iopamidol menyebabkan edema tubulus proksimal. L-arginin dan nifedipin menurunkan persentase edem tubulus proksimal yang disebabkan karena iopamidol dan di antara keduanya terdapat perbedaan pengaruh yang bermakna.

Kata kunci: Iopamidol, Edema Tubulus Proksimal, L-arginin, Nifedipin

PENDAHULUAN

Media kontras yang biasa digunakan pada pemeriksaan pyelografi, angiografi, *CT-scan* dan Urografi Intra Vena merupakan suatu campuran bahan-bahan yang dapat menyerap sinar-X dan meningkatkan radiodensitas dari struktur organ yang mengandung bahan tersebut¹. Iopamidol merupakan media kontras nonionik monomers dengan osmolalitas yang hampir sama dengan cairan plasma sehingga reaksi sistemik yang timbul akan lebih ringan. Efek samping akibat media kontras dapat diklasifikasikan menjadi dua, kategori utama yaitu reaksi sistemik berupa reaksi nonidiosinkratik (vasodilatasi, flushing, takikardi) dan reaksi idiosinkratik (anafilaktoid) serta toksisitas organ². Selain otak dan jantung, ginjal juga merupakan organ yang paling sering mengalami toksisitas dan disebut sebagai *Contrast Nephropathy* (CN). CN adalah peningkatan kadar serum kreatinin lebih dari 0.5 mg% atau lebih dari 50% kadar semula pada 1-3 hari setelah injeksi media kontras³.

Pemberian iopamidol akan menimbulkan CN yang disebabkan oleh kombinasi dari toksisitas direk sel epitel tubulus dan iskemik medula ginjal². Peningkatan adenosin, endotelin dan ion kalsium serta penurunan nitrit oksida (NO) dan prostaglandin akan mengakibatkan vasokonstriksi pembuluh darah renal sehingga terjadi penurunan aliran darah menuju ginjal. Toksisitas direk berupa vakuolisasi sel epitel tubulus dan pelepasan radikal O₂ bebas akan menimbulkan nekrosis tubular akut (NTA). Penurunan aliran darah dan NTA mengakibatkan penurunan GFR yang kemudian berakhir pada keadaan gagal ginjal akut⁴⁻⁷.

Menurut hasil penelitian Rose, dkk., antagonis kalsium menghambat peningkatan kalsium intraseluler pada sel tubulus tikus dan kelinci yang mengalami anoksia⁸. Nifedipin termasuk dalam golongan obat antagonis kalsium yang akan menghambat mobilisasi ion kalsium melewati saluran aktif ion kalsium sehingga dapat mencegah terjadinya vasokonstriksi. Nifedipin juga mengganggu proses kopling eksitasi-kontraksi oleh pengikatan spesifik berafinitas tinggi di plasmalema sehingga memberikan efek vasorelaksasi pembuluh darah ginjal dan pembuluh darah lainnya. Efek lainnya adalah sitoprotektif terhadap sel-sel ginjal di antaranya menghambat "overload" kalsium intraseluler setelah jejas toksis atau iskemik, penurunan pembentukan radikal bebas⁹. Hasil penelitian Dzgoeva, dkk., menunjukkan bahwa obat golongan tersebut juga menghambat penurunan sintesis nitrit oksida yang mengikuti pemakaian media kontras pada manusia⁸.

Vasokonstriksi renal setelah injeksi kontras media juga dipengaruhi oleh turunnya kadar NO. Penurunan kadar NO di dalam darah dapat ditanggulangi, salah satunya dengan pemberian prekursor NO yaitu L-arginin. L-arginin merupakan asam amino semi esensial yang dapat ditemukan pada kacang-kacangan, udang dan daging kambing¹⁰. L-arginin merupakan prekursor NO yang juga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Sebagai antioksidan, L-arginin berperan dalam mencegah kerusakan direk sel epitel tubulus akibat pelepasan radikal bebas karena injeksi media kontras. Namun hingga saat ini belum ada yang melaporkan bagaimana pengaruh pemberian L-arginin terhadap kejadian CN terutama pada perubahan gambaran histopatologi ginjalnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui serta membandingkan antara pengaruh pemberian L-arginin dengan nifedipin terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Sprague-Dawley* yang diberi media kontras iopamidol dan juga mengetahui pengaruh pemberian iopamidol terhadap gambaran histopatologi ginjal.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang peranan L-arginin dan nifedipin sebagai sebelum pemakaian media kontras, juga sebagai landasan untuk studi klinis lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only randomized control group design*. Penelitian dilakukan di laboratorium LPPT UGM Jogjakarta untuk perlakuan dan laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP untuk pemeriksaan. Sampel penelitian terdiri dari 24 ekor tikus Sprague-Dawley jantan, umur 8-10 minggu, berat badan 180-200 gram, aktif, tidak ada kelainan anatomi. Kemudian sampel dibagi 4 kelompok. Kelompok satu adalah kelompok kontrol negatif (K-), mendapatkan pakan standar dari awal hingga akhir perlakuan. Kelompok kedua, disebut kelompok kontrol positif (K+), mendapat pakan standar selama 7 hari. Pada hari ke-8 disuntikkan media kontras iopamidol intravena. Kelompok ketiga, disebut kelompok perlakuan 1 (P1), mendapat pakan standar dan diberi L-arginin HCL 8,4 % (W/V) dalam air minum selama 7 hari¹¹. Pada hari ke-8 tikus disuntikkan media kontras iopamidol intravena. Kelompok keempat, disebut kelompok perlakuan 2 (P2), mendapat pakan standar selama 7 hari. Pada hari ke-7 tikus diberi nifedipin dengan dosis 0,2 mg dosis tunggal melalui sonde lambung. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis yang digunakan pada penelitian oleh Russo, dkk.⁷. Pada hari ke-8 disuntikkan media kontras iopamidol intravena. Iopamidol diberikan secara intravena melalui vena ekor dengan dosis 0,63 mg per 200 gramBB tikus. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis yang dicantumkan oleh Grainger, dkk.¹².

Pada hari ke-9, tikus didekapitasi, kemudian organ ginjalnya diambil dan diolah mengikuti metode baku histologi, yaitu dengan cara mengambil jaringan yang dibutuhkan (1 cm^3) lalu dimasukkan dalam larutan fiksasi (formalin 10 %) lalu rehidrasi dengan alkohol 70% dan xylol alkohol 1:1 masing-masing selama 24 jam. Dilanjutkan clearing dengan xylol 1, 2, 3 masing-masing selama 20 menit Setelah itu dilanjutkan dengan proses *embedding* dan *blocking*. Blok parafin yang sudah terbentuk lalu dipotong 5 mikron dengan mikrotom, dicelupkan air, lalu jaringan diambil dengan kaca objek yang sudah diberi albumin, keringkan, lalu panaskan dalam oven. Selanjutnya preparat dibilas dengan xylol 1, 2, 3 masing-masing selama 10 menit. Rehidrasi dengan alkohol xylol, Bilas kembali dengan Alkohol (96% dan 30%) dan aquadest untuk kemudian dicat dengan Hematoksilin Eosin.

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengamatan mikroskopis berupa persentase edem tubulus proksimal dengan ciri yaitu salurannya berwarna merah tersusun atas 6-8 sel kolumnar simpleks, lumen tidak rata atau seperti celah sempit karena permukaan selnya memiliki *brush border*. Data didapatkan dengan

menghitung jumlah tubulus proksimal yang mengalami edem terhadap jumlah seluruh tubulus proksimal dalam satu lapangan pandang. Pengamatan dilakukan pada lima lapangan pandang yaitu empat pada tepi dan satu pada bagian tengah potongan. Dinyatakan edem bila lumen tubulus menutup. Pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x.

Variabel penelitian ini adalah persentase edem tubulus proksimal sebagai variabel tergantung dan variabel bebasnya berupa pemberian L-arginin (Sigma-Aldrich Pte.Ltd, Singapura), nifedipin (PT. Kimia Farma, Jakarta) serta iopamidol (Iopamiro[®], PT. Dipa Pharmed Internusa, Jakarta). Data yang terkumpul dilakukan analisis deskriptif untuk menghitung kecenderungan sentral dan dispersi, hasil analisis ditampilkan dalam bentuk tabel dan diagram boxplot kemudian dinarasikan. Dilakukan analisis untuk menilai normalitas variabel edema tubulus proksimal dengan memakai uji *Shapiro-Wilk*. Data berdistribusi normal sehingga uji kemaknaan dilakukan dengan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA). Taraf signifikansi diterima bila nilai $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Bonferroni*. Data diolah menggunakan program komputer *SPSS 13.0 for windows*.

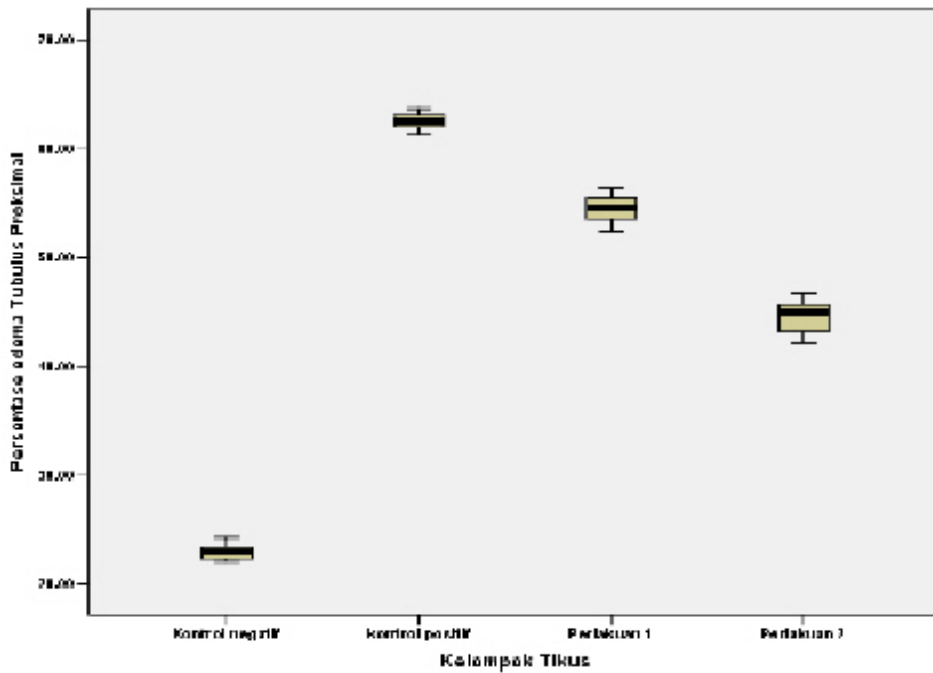
HASIL

Dari tabel 1 didapatkan bahwa semua tikus pada setiap kelompok mengalami edema tubulus proksimal dengan rerata persentase pada kelompok K(-) adalah yang terendah dari seluruh kelompok, yaitu 23.02 ± 0.79 %, sedangkan rerata tertinggi dari seluruh kelompok terdapat pada kelompok K(+), kelompok yang hanya mendapatkan injeksi iopamidol yaitu 62.57 ± 0.78 %. Rerata persentase edem tubulus proksimal kelompok P1, yaitu kelompok yang diberikan L-arginin sebelum injeksi iopamidol, lebih tinggi bila dibandingkan dengan rerata persentase edem tubulus proksimal pada kelompok P2, kelompok yang diberikan nifedipin sebelum injeksi iopamidol, yaitu 54.53 ± 1.37 % untuk kelompok P1 dan 44.65 ± 1.66 % untuk kelompok P2.

Tabel 1. Persentase Edem Tubulus Proksimal Pada Kelompok Penelitian

| Kelompok | n | Rerata | SB | Minimal | Maksimal | ANO VA |
|----------|---|--------|-----|---------|----------|---------|
| K (-) | 6 | 23.0 | 0.7 | 22.10 | 24.30 | P<0.001 |
| K (+) | 6 | 62.5 | 0.7 | 61.50 | 63.70 | |
| P1 | 6 | 54.5 | 1.3 | 52.50 | 56.40 | |
| P2 | 6 | 44.6 | 1.6 | 42.20 | 46.70 | |

K (-) vs K(+): $p < 0.001$
K (-) vs P1: $p < 0.001$
K (-) vs P2: $p < 0.001$
K (+) vs P1: $p < 0.001$
K (+) vs P2: $p < 0.001$
P1 vs P2: $p < 0.001$



Gambar 1. Diagram *Boxplot* Persentase Edem Tubulus Proksimal

Pada diagram 1 ditampilkan diagram *boxplot* dari persentase edem tubulus proksimal ginjal tikus. Dari diagram dapat diketahui nilai median persentase edem tubulus proksimal pada semua kelompok perlakuan, dengan nilai tertinggi pada kelompok K(+) dan yang terendah pada kelompok K(-). Sedangkan nilai median persentase edem kelompok perlakuan P1 maupun P2, lebih rendah bila dibandingkan kelompok K(+) namun tetap tidak lebih rendah dari kelompok K(-).

Hasil uji normalitas Saphiro-Wilk, didapatkan distribusi data normal pada semua kelompok sehingga uji beda dilakukan dengan ANOVA. Dari uji tersebut didapatkan $p < 0.001$ sehingga dapat dilanjutkan dengan analisis Post Hoc Bonferroni untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan secara bermakna terhadap kelompok lain.

Analisis Post Hoc diperoleh hasil yaitu terdapat perbedaan persentase edem tubulus proksimal secara bermakna pada semua kelompok data dengan $p < 0.001$.

PEMBAHASAN

Penyuntikan media kontras akan menyebabkan efek samping, toksisitas organ adalah salah satunya, yang pada ginjal disebut sebagai *Contrast Nephropathy* (CN). CN bisa disebabkan oleh kombinasi dari toksisitas direk sel epitel tubulus dan iskemik medula ginjal². Sel epitel tubulus merupakan sel yang rentan terhadap anoksi dan toksin¹³.

Meskipun iopamidol termasuk dalam golongan media kontras dengan osmolalitas yang hampir sama dengan cairan plasma, namun penyuntikan iopamidol juga memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi ginjal. Penyuntikan iopamidol berdampak terjadinya perubahan pada permeabilitas selaput dan homeostasis osmosa yang pada akhirnya jika sel tidak mampu mempertahankan homeostasisnya akan terjadi edem¹⁴. Edem merupakan manifestasi pertama pada hampir semua bentuk jejas pada sel dan bersifat reversibel¹⁴. Hal tersebut dibuktikan dengan hasil analisa yang menunjukkan bahwa injeksi iopamidol intravena mengakibatkan edem pada tubulus proksimal ginjal, terbukti dengan adanya perbedaan bermakna antara kelompok K(-) dengan kelompok K(+) serta kelompok perlakuan P1 dan P2, dengan $p < 0.05$ ($p=0.001$).

Nifedipin adalah salah satu preparat obat golongan antagonis kalsium generasi kedua. Nifedipin memiliki efek vasodilatasi terhadap arteriol-arteriol aferen di nefron. Efek lainnya adalah sitoprotektif terhadap sel-sel ginjal di antaranya menghambat “overload” kalsium intraseluler setelah jejas toksis atau iskemik, penurunan pembentukan radikal bebas⁹. Hal ini membuat nifedipin dijadikan pertimbangan sebagai sebelum prosedur pemakaian media kontras. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Wang X-YJ, dkk., menunjukkan bahwa pemberian obat golongan antagonis kalsium sebelum pemberian media kontras intravena dapat memberikan perlindungan untuk mencegah penurunan fungsi ginjal akibat media kontras. Terbukti dalam penelitian ini dengan persentase edema tubulus proksimal pada kelompok yang diberikan nifedipin (P2) yang lebih rendah secara bermakna dibandingkan pada kelompok yang hanya mendapat injeksi iopamidol (K+) dengan $p < 0.05$ ($p=0.001$).

Injeksi iopamidol juga akan menyebabkan pembentukan radikal O_2 bebas⁴⁻⁷. L-arginin merupakan substrat pembentukan NO, sintesis fosfokreatin, dan prekursor glutamate, prolin, putresin melalui pembentukan ornitin. Peran sebagai substrat pembentukan NO adalah yang terpenting. L-arginin, sebagai prekursor NO, meningkatkan kadar NO jika kadarnya dalam darah menurun. L-arginin juga dipercaya memiliki kemampuan

menangkap hidrogen peroksida dan anion superoksida untuk membentuk NO secara nonenzimatik. Pada Penelitian ini dibuktikan bahwa pemberian L-arginin bisa mencegah terjadinya edem tubulus proksimal karena pemberian iopamdol.

KESIMPULAN

1. Injeksi iopamidol menyebabkan perubahan secara bermakna pada gambaran histopatologi ginjal berupa edem tubulus proksimal.
2. Persentase edem tubulus proksimal pada kelompok yang diberi L-arginin lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok yang hanya diinjeksi iopamidol intravena.
3. Persentase edem tubulus proksimal pada kelompok yang diberi nifedipin lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok yang hanya diinjeksi iopamidol intravena.
4. Kelompok yang diberi nifedipin memiliki persentase edem tubulus proksimal yang lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok yang diberi L-arginin.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam rangka melengkapi konsep pemikiran penelitian ini, diantaranya bisa dengan memeriksa nekrosis sel tubulus proksimal, memeriksa kadar NO endotel pembuluh darah ginjal serta memeriksa perubahan gambaran histopatologi pembuluh darah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada dr. Hermina Sukmaningtyas, MKes selaku pembimbing, karyawan dan teknisi Laboratorium LPPT UGM, teknisi Laboratorium Patologi Anatomi R.S. Dr. Kariadi Semarang. Serta kepada teman-teman dan keluarga yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan artikel karya tulis ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sutton, David. Textbook of Radiology and Imaging volume II. London: Churchill-Livingstone. 1998; 926-927.
2. Brady HR, Brenner BM, Acute Renal Failure. In : Harisson's principles of internal medicine [Book on CD ROM]. 15 ed. New York: McGraw-Hill Company; 2001
3. Siddiqi NH. Contrast medium reactions, recognition and treatment. [Online]. 2005 [cited 2005 Aug 26]; [11 screens]. Available from: URL:<http://www.emedicine.com/>
4. Hizoh I, Strater J, Schcick CS, Kubler W, Haller C. Radio contrast-induced DNA fragmentation of renal tubular cells in vitro: role of hipertonicity. Nephrol Dial Transplant 1998; 13:911-8.
5. Zhang J, Duarte CG, Ellis S. Contrast medium and mannitol-induced in heart and kidney of SHR rats. Toxicol Pathol 1999; 27:427-35.
6. Goldenberg I, Matetzky S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and prevention strategies. CMAJ 2005; 172 (11).
7. Russo D, Minutolo R, Cianciaruso B, Memoli B, Conte G, De Nicola L. Early effects of contrast media on renal hemodynamics and tubular function in chronic renal failure. J Am Soc Nephrol 1995;

- 6:1451-58.
8. Narang R, Sakhare M, Bahl VK. Contrast-Induced Nephropathy. *IHJ* 2004;56.
 9. Wang YXJ, Jia YF, Chen KM, Morcos SK. Radiographic contrast media induced nephropathy: experimental observations and the protective effect of calcium channel blockers. *Br J Rad* 2001; 74:1103-8.
 10. Zimmermann, M. *Pocket Guide to Micronutrition in Health and Disease*. New York: Thieme. 2001:65-66.
 11. Arginine (L-Arginine). [Online]. 2005 [cited 2004 Jun 3]; Available from: [URL:http://www.mayoclinic.com.htm](http://www.mayoclinic.com.htm)
 12. Grainger DG. Intravascular contrast media. In: Grainger DG, Allison D, editors. *Grainger & Allison's diagnostic radiology: a textbook of medical imaging*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1997. p. 35-47.
 13. Wijaya, I., Ika P.M. *Patologi Ginjal & Saluran Kemih*. Ed.2. Semarang : Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro : 2003.
 14. Robbins SL., Kumar V. *Buku Ajar Patologi I (Basic Pathology)*. Jakarta : EGC, 1995.

LAMPIRAN 1

Data Persentase Edem Tubulus Proksimal

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| K (-) | 23.44 | 22.96 | 22.32 | 23.00 | 24.3 | 22.12 |
| K (+) | 62.44 | 63.12 | 63.72 | 61.48 | 62.7 | 61.98 |
| P1 | 54.62 | 53.58 | 54.58 | 55.58 | 56.38 | 52.46 |
| P2 | 46.7 | 45.18 | 43.2 | 44.88 | 45.68 | 41.18 |

Tabel Uji Normalitas

Tests for Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---------------------------------|----|-------------|--------------|----|-------------|
| | | Statistic | Df | Asymp. Sig. | Statistic | Df | Asymp. Sig. |
| T | K | .128 | 8 | .000 | .940 | 8 | .000 |
| | k | .000 | 8 | .000 | .000 | 8 | .000 |
| | P | .180 | 8 | .000 | .080 | 8 | .000 |
| | P | .222 | 8 | .000 | .222 | 8 | .000 |

Tabel Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

| 1.228 | 3 | 50 | 222. |
|-------|---|----|------|

Tabel Uji Parametrik ANOVA

ANOVA

| E | 22 | 3 | 124. | 1 | .000 |
|---|----|----|------|---|------|
| | 24 | 50 | 142 | | |
| T | 22 | 53 | | | |

Tabel Uji Post Hoc Bonferroni

Multiple Comparisons

| | | Mean | | | | | |
|---|---|-------|---------|--------|--------|--|--|
| K | K | 37.00 | 700.000 | -41.60 | -37.20 | | |
| | F | 37.00 | 700.000 | -33.20 | -20.40 | | |
| | F | 37.00 | 700.000 | -23.20 | -10.20 | | |
| K | K | 30.00 | 700.000 | 37.20 | 41.00 | | |
| | F | 30.00 | 700.000 | 28.20 | 10.00 | | |
| | F | 30.00 | 700.000 | 18.20 | 0.00 | | |
| F | K | 31.00 | 700.000 | 24.00 | 33.20 | | |
| | K | 31.00 | 700.000 | -10.00 | -28.20 | | |
| | F | 31.00 | 700.000 | 7.833 | 11.033 | | |
| F | K | 31.00 | 700.000 | 10.283 | 23.083 | | |
| | K | 31.00 | 700.000 | -10.00 | -12.20 | | |
| | F | 31.00 | 700.000 | -11.00 | -18.33 | | |

LAMPIRAN 2

METODE BAKU PEMBUATAN PREPARAT HISTOPATOLOGI

A. Cara pengambilan jaringan dan fiksasi

1. Mengambil jaringan yang dibutuhkan sesegera mungkin setelah dislokasi tulang leher tikus. (kurang dari dua jam) dengan ukuran $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$, dengan *lege artis*.
2. Kemudian memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebagai berikut
 - a. Fiksasi dalam larutan Bouin maksimal enam jam.
 - b. Pindahkan jaringan ke larutan formalin 10%.
 - c. Jaringan diperkecil ukurannya.
 - d. Jaringan dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 24jam.
 - e. Larutan xylol alkohol 1:1 dengan waktu 24jam.
 - f. Clearing dengan larutan xylol 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang.
 - g. Xylol paraffin 1:1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven 60°C .
 - h. Emeding dan Blocking : paraffin 1,2,3 selama 20 menit, lalu jaringan dicetak blok paraffin, kemudian didinginkan selama 24 jam, sehingga cetakan dapat dibuka.
 - i. Trimming : memotong balok-balok paraffin dengan mikrotom.

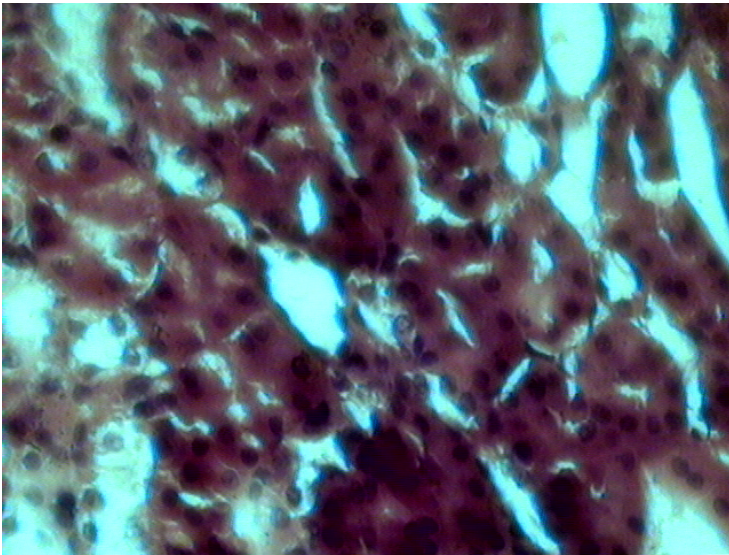
B. Cara Pemotongan Blok

1. Menyiapkan kaca objek glass bersih
2. Kaca objek glass diberi albumin ditengahnya
3. Direkatkan
4. Blok yang sudah disiapkan dipotong dengan ketebalan $5\mu\text{m}$, lalu dimasukkan air panas 60°C . Setelah jaringan mengembang, jaringan diambil menggunakan kaca objek yang sudah diberi albumin
5. kemudian dikeringkan
6. Parafin yang ada pada kaca objek atau jaringan dihilangkan dengan dipanaskan dalam oven 60°C atau dengan tungku.

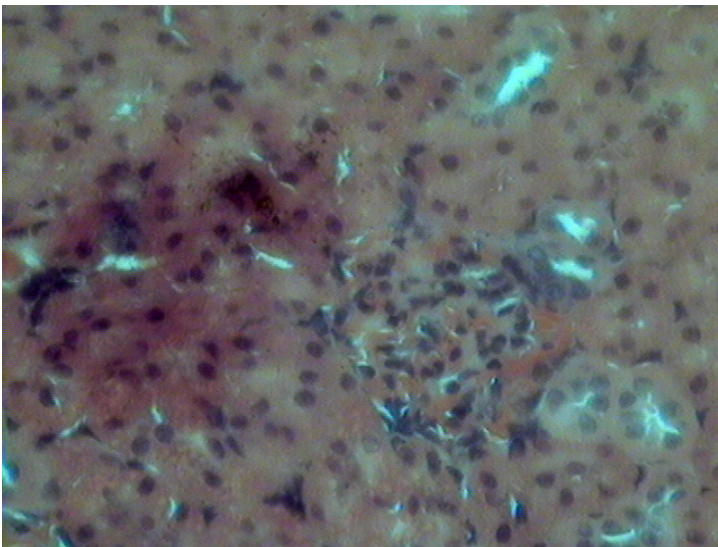
C. Pewarnaan

1. Xylol 1, Xylol 2, Xylol 3, masing-masing 10 menit
2. Rehidrasi dengan alkohol xylol selama 5 menit
3. Bilas alcohol 96% dan 30%, masing- masing selama 30 menit
4. Bilas aquades selama 10 menit
5. Pendam dalam hematoksilin selama 10 menit
6. Bilas dengan air mengalir sampai bersih
7. Bilas aquades, lalu alkohol asam (alkohol+NaCl 0,9%)
8. Bilas alkohol 50% - 96%
9. Eosin selama 2-5 menit
10. Bilas alkohol 96% sebanyak 2x
11. Bilas alkohol xylol
12. Keringkan dengan kertas saring, langsung dibersihkan kotoran-kotoran yang ada di sekitar jaringan
13. Xylol 1 (5 menit), xylol 2 (5 menit), tetesi basam Canada, langsung ditutup kaca penutup.
14. Maka jadilah preparat

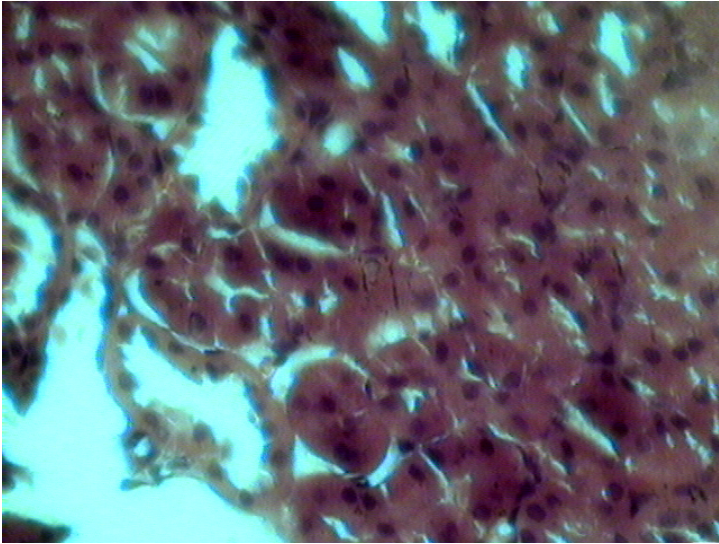
LAMPIRAN 3



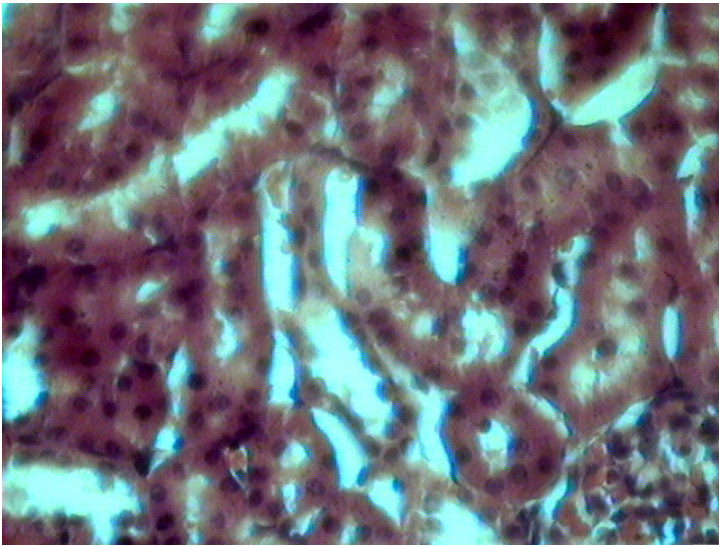
Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok K (-). (400x). HE



Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok K (+). (400x). HE



Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok P1. (400x). HE



Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok P2. (400x). HE