



**PENGARUH FORMALIN PERORAL DOSIS BERTINGKAT  
SELAMA 12 MINGGU TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGIS OTAK TIKUS WISTAR**

**LAPORAN HASIL  
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian hasil Karya Tulis  
Ilmiah mahasiswa program strata-1 kedokteran umum**

**ERICKO HARTANTO LAYMENA  
G2A008070**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2012**

**LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN KTI**

**PENGARUH FORMALIN PERORAL DOSIS BERTINGKAT  
SELAMA 12 MINGGU TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGIS OTAK TIKUS WISTAR**

Disusun oleh:

**ERICKO HARTANTO LAYMENA  
G2A008070**

Semarang, 31 Juli 2012

**Pembimbing 1**

**Pembimbing 2**

**dr. Gatot Suharto, Sp.F, M.Kes, S.H  
19520220 198603 1 001**

**Dra. Ani Margawati, M.Kes, PhD  
19650525 199303 2 001**

**Ketua Penguji**

**Penguji**

**dr. Erie B.P.S. Andar, Sp.BS, PAK (K)  
19541211 198103 1 014**

**dr. Sigid Kirana Lintang Bhima, Sp.KF  
19800630 200812 1 002**

## **PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Yang bertanda tangan ini,

Nama : Ericko Hartanto Laymena  
NIM : G2A008070  
Program Studi : Program Pendidikan Sarjana Program Studi Pendidikan  
Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro  
Judul KTI : PENGARUH PEMBERIAN FORMALIN PERORAL  
DOSIS BERTINGKAT SELAMA 12 MINGGU  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS OTAK  
TIKUS WISTAR

Dengan ini menyatakan bahwa:

- 1) KTI ini ditulis sendiri tulisan asli saya sendiri tanpa bantuan orang lain selain pembimbing dan narasumber yang diketahui oleh pembimbing.
- 2) KTI ini sebagian atau seluruhnya belum pernah dipublikasi dalam bentuk artikel ataupun tugas ilmiah lain di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- 3) Dalam KTI ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis orang lain kecuali secara tertulis dicantumkan sebagai rujukan dalam naskah dan tercantum pada daftar kepustakaan.

Semarang, 31 Juli 2012  
Yang membuat pernyataan,

Ericko Hartanto Laymena

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur peneliti panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yaitu Yesus Kristus karena berkat rahmat-Nya, Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik. Peneliti menyadari sangat sulit untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terselesaikannya laporan hasil Karya Tulis Ilmiah ini. Bersama ini, peneliti menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat berjalan dengan baik dan lancar
3. dr. Gatot Suharto, Sp.F, M.Kes, S.H dan Dra. Ani Margawati, M.Kes, PhD selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
4. dr. Bambang Endro Putranto, Sp.PA(K); dr. Indra Widjaja T, Sp.PA(K); dr. Vega Karlowee selaku konsultan Patologi Anatomi yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing pembacaan preparat jaringan otak
5. dr. Sigid Kirana Lintang Bima, Sp.F, selaku dosen penguji Karya Tulis Ilmiah ini
6. dr. Erie B.P.S. Andar, Sp.BS.,PAK(K), selaku ketua penguji Karya Tulis Ilmiah ini
7. Kepala Bagian dan seluruh jajaran staf Bagian Forensik atas dukungannya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
8. Ibu Kartika Widyaningrum dan Ibu Istiqomah serta staf Laboratorium Biologi F-MIPA Universitas Negeri Semarang yang telah membantu kami dalam pelaksanaan penelitian ini

9. Orang tua dan seluruh keluarga yang senantiasa memberikan dukungan moral dan spiritual serta material dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
10. Melvika Reza Buwana S.E, selaku teman dekat yang selalu memberi dukungan moral dan spiritual dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
11. Sahabat-sahabat yang selalu memberikan dukungan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
12. Serta pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis ini dapat terselesaikan dengan baik.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga Karya Tulis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, 31 Juli 2012

Ericko Hartanto Laymena

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Permasalahan penelitian.....	3
1.3 Tujuan penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	5
1.5 Keaslian penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1 Formaldehid sebagai racun .....	9
2.1.1 Definisi racun.....	9
2.1.2 Antiseptik, disinfektan, dan sterilan sebagai racun.....	10
2.1.3 Formaldehid dan formalin; definisi, efek, metabolisme .....	11
2.1.3.1 Definisi formaldehid .....	11
2.1.3.2 Efek formalin terhadap kesehatan.....	12
2.1.3.3 Metabolisme formaldehid pada tubuh.....	13
2.2 Toksisitas pada sistem saraf (neurotoksisitas) .....	17
2.2.1 Sistem saraf.....	17
2.2.2 Karakteristik dari sistem saraf.....	18
2.2.2.1 <i>Blood brain barrier</i> .....	18
2.2.2.2 Kebutuhan energi yang tinggi .....	19
2.3 Cedera sel.....	20
2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi kerusakan neuron .....	22

2.4.1 Jenis kelamin.....	22
2.4.1 Degenerasi.....	22
2.4.2 Trauma serebral.....	22
2.4.3 Infeksi sistem saraf pusat .....	22
2.4.4 Penyakit serebrovaskuler .....	22
2.4.5 Racun .....	23
<b>BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, dan HIPOTESIS ....</b>	<b>24</b>
3.1 Kerangka teori.....	24
3.2 Kerangka konsep.....	25
3.3 Hipotesis .....	26
3.3.1 Hipotesis mayor .....	26
3.3.2 Hipotesis minor .....	26
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
4.1 Ruang lingkup penelitian .....	28
4.2 Tempat dan waktu penelitian .....	28
4.3 Jenis dan rancangan penelitian.....	28
4.4 Populasi dan sampel.....	30
4.4.1. Populasi target.....	30
4.4.2 Populasi terjangkau .....	30
4.4.3 Sampel .....	30
4.4.3.1 Kriteria inklusi .....	30
4.4.3.2 Kriteria eksklusi .....	30
4.4.4 Cara pengambilan sampel .....	30
4.4.5 Besar sampel .....	31
4.5 Variabel penelitian .....	31
4.5.1 Variabel bebas.....	31
4.5.2 Variabel tergantung.....	31
4.6 Definisi operasional variabel .....	32
4.7 Cara pengumpulan data.....	34
4.7.1 Bahan .....	34
4.7.2 Alat.....	34

4.7.2.1 Alat untuk memberikan perlakuan.....	34
4.7.2.2 Alat untuk otopsi.....	35
4.7.2.3 Alat untuk pemeriksaan histopatologis .....	35
4.7.3 Jenis data.....	35
4.7.4 Cara kerja.....	35
4.8 Alur penelitian .....	38
4.9 Analisis data.....	39
4.10 Etika penelitian .....	40
4.11 Jadwal penelitian.....	40
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>41</b>
5.1 Analisis sampel .....	41
5.2 Analisis deskriptif .....	41
5.3 Analisis analitik .....	43
<b>BAB VI PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
<b>BAB VII SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>51</b>
7.1 Simpulan .....	51
7.2 Saran .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>58</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Penelitian yang sudah ada tentang efek toksik formalin.....	5
Tabel 4.1 Definisi operasional variabel .....	32
Tabel 4.2 Jadwal penelitian.....	40
Tabel 5.1 Jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang pada sediaan histopatologis otak tikus wistar yang diberi formalin peroral bertingkat selama 12 minggu.....	42
Tabel 5.2 Ukuran pemusatan data dan ukuran penyebaran data jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang pada sediaan histopatologis otak tikus wistar yang diberi formalin peroral bertingkat selama 12 minggu .....	43
Tabel 5.3 Hasil uji <i>post hoc</i> pada setiap kelompok.....	44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Perjalanan dan efek racun dalam tubuh .....	10
Gambar 2.2 (a)rumus kimia formaldehid. (b)formaldehid dalam <i>spacefill model</i> . (c)formaldehid dalam <i>ball and stick model</i> .....	11
Gambar 2.3 Jalur metabolisme formaldehid dan metanol .....	15
Gambar 2.4 Ilustrasi skematis dari <i>blood brain barrier</i> .....	19
Gambar 2.5 Skema cedera sel dan kematian sel .....	20
Gambar 3.1 Kerangka teori penelitian .....	24
Gambar 3.2 Kerangka konsep penelitian .....	26
Gambar 4.1 Rancangan penelitian .....	29
Gambar 4.2 Alur penelitian.....	38
Gambar 6.1 Gambaran histopatologis otak tikus wistar pada kelompok kontrol.....	47
Gambar 6.2 Gambaran histopatologis otak tikus wistar pada kelompok perlakuan I .....	48
Gambar 6.3 Gambaran histopatologis otak tikus wistar pada kelompok perlakuan II.....	49
Gambar 6.4 Gambaran histopatologis otak tikus wistar pada kelompok perlakuan III.....	50
Gambar 9.1 Proses penelitian di laboratorim F-MIPA UNNES.....	73
Gambar 9.2 Urutan proses pembuatan preparat jaringan histologi.....	74
Gambar 9.3 Preparat jaringan histologi setelah dilakukan pengecatan .....	75
Gambar 9.4 Pengamatan jaringan dengan mikroskop .....	75

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i> .....	58
Lampiran 2. Surat keterangan melakukan penelitian.....	60
Lampiran 3. Perhitungan dosis formalin.....	61
Lampiran 4. Metode baku histologis pemeriksaan jaringan .....	63
Lampiran 5. Diagram Consort 2010 .....	66
Lampiran 6. Hasil analisis pengamatan histopatologis sel otak tikus wistar ....	67
Lampiran 7. Dokumentasi penelitian .....	73
Lampiran 8. Biodata Mahasiswa.....	76

## ABSTRAK

**Latar Belakang** Formalin merupakan bahan yang secara luas digunakan dalam pendidikan dan penelitian, pengawet jenazah dan disinfektan. Saat ini formalin sering disalahgunakan sebagai pengawet bahan tambahan makanan, hal ini bertentangan dengan peraturan menteri kesehatan. Formalin dapat mengganggu keamanan, mutu, dan gizi dari makanan yang telah diatur dalam peraturan pemerintah. Sehingga pada akhirnya akan merugikan konsumen. Dewasa ini terdapat beberapa pustaka dan penelitian mengenai formalin, dan pengaruh formalin terhadap gangguan neurologis secara klinis sudah pernah diteliti. Namun penelitian pengaruh formalin terhadap gambaran histopatologi otak masih belum jelas.

**Tujuan** Mengetahui perbedaan gambaran histopatologi otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

**Metode** Penelitian *true experimental laboratorik* dengan *post test only control group design*. Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, kemudian dibagi secara acak dengan *simple random sampling*. Konsumsi formaldehid 0 ml/hari pada kelompok kontrol; 1/16 dosis lethal (0,019-0,025 ml/hari) pada kelompok I; 1/8 dosis lethal (0,038-0,050 ml/hari) pada kelompok II; ¼ dosis lethal (0,075-0,100 ml/hari) pada kelompok III. Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan langsung gambaran histopatologi otak. Uji hipotesis menggunakan uji *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji Post Hoc.

**Hasil** Nilai rerata jumlah kerusakan sel otak yang tertinggi pada kelompok perlakuan III. Uji ANOVA didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ). Uji post-hoc didapatkan perbedaan yang bermakna pada K-I ( $p=0,003$ ), K-II ( $p=0,000$ ), K-III ( $0,000$ ), I-II ( $p=0,030$ ), I-III ( $p=0,003$ )

**Kesimpulan** Pemberian formalin peroral dosis bertingkat pada tikus wistar menyebabkan terjadinya perubahan gambaran histopatologi otak. Perubahan struktur histopatologi otak yang terlihat berupa penurunan jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang.

**Kata Kunci** Formalin, formaldehid, peroral, gambaran histopatologi otak, tikus wistar.

## **ABSTRACT**

**Backgrounds** Formalin is an ingredient widely used in education and research, the body preservatives and disinfectants. Formalin is currently misused as food preservative, it is contrary to the regulations from ministry of health. Formalin can interfere with the safety, quality, and nutrients from the foods that have been set out in government regulations, which would ultimately harm consumers. Today there are several references and research on the formalin, and formalin effects of neurological disorders have been investigated clinically. But the study the influence of formalin on brain histopathologic picture remains unclear.

**Aims** Knowing the histopathological pictures difference of wistar rat brain after peroral gradual dose of formalin administrations for 12 weeks

**Methods** True experimental laboratory research with post test only control group design. Study sample was male wistar rats that has met inclusion and exclusion criteria and were randomized by simple random sampling. Formaldehyde consumption is 0 m/day in control group; 1/16 lethal dose (0.019 to 0.025 ml / day) in group I; 1/8 lethal doses (0.038 to 0.050 ml / day) in group II; 1/4 lethal dose (0.075 to 0.100 ml / day) in group III. Data was collected through direct observation of histopathologic picture of the brain. Hypothesis testing using one-way ANOVA test and Post Hoc test afterwards.

**Results** The highest mean of total brain cells damage was in treatment group III. ANOVA test showed a significant difference ( $p = 0.000$ ). Post-hoc test showed significant differences in K-I ( $p=0,003$ ), K-II ( $p=0,000$ ), K-III ( $0,000$ ), I-II ( $p=0,030$ ), I-III ( $p=0,003$ )

**Conclusion** Gradual doses of formalin administration causes histopathological pictures changes in the wistar rat brain. The histopathological change observed in brain structure was a decrease in the number of nerve cells..

**Keywords** Formalin, formaldehyde, peroral, histopathological picture of the brain, wistar rats.

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar belakang**

Bahan kimia merupakan bagian dari kehidupan kita, dengan kemampuannya untuk meningkatkan kualitas hidup atau sebaliknya, membahayakan nyawa kita. Salah satu bahaya bahan kimia adalah efek toksiknya pada saraf, dan sifat ini disebut neurotoksik.<sup>1,2</sup> Zat yang memiliki sifat neurotoksik ini dikenal dengan nama neurotoksin. Neurotoksin sudah banyak dipelajari baik untuk mengetahui efek toksik pada manusia, atau digunakan untuk mempelajari sistem saraf.<sup>2</sup>

Data menunjukkan bahwa setiap tahun diperkirakan berjuta-juta orang di dunia sedang terpapar oleh neurotoksin, baik berupa logam zat kimia industri, polutan lingkungan, maupun obat. Kelainan morfologi yang timbul oleh neurotoksin secara umum paling nyata ditemukan di substansia alba berupa nekrosis, demielinisasi, gliosis, dan kalsifikasi.<sup>1,2,3</sup>

Formalin, yang secara luas digunakan dalam industri, pendidikan dan penelitian, lebih dikenal masyarakat umum sebagai bahan pengawet jenazah dan disinfektan. Namun sejak tahun 2005, ditemukan kasus formalin yang digunakan sebagai bahan pengawet makanan. Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan bertentangan dengan PERMENKES RI No 1168/MENKES/PER/X/1999 yang melarang formalin sebagai bahan tambahan pada makanan, dan PP No 28 tahun 2004 tentang keamanan, mutu

dan gizi pangan, UU No 7 tahun 1996 tentang pangan serta UU No 8 tahun 1999 tentang perlindungan konsumen.<sup>4,5,6</sup>

Bahan dasar dari formalin adalah formaldehid (IUPAC: methanal), yang merupakan aldehid paling sederhana dan merupakan hasil oksidasi parsial dari methanol. Formaldehid memiliki bau khas dan dapat mengiritasi.<sup>5,7,8,9</sup> *Occupational Safety and Health Administration (OSHA)* menetapkan nilai ambang batas 0.75 *parts per million (ppm)* dalam 8 jam sebagai *Time Weighted Average (TWA)*, 2 *ppm* dalam 15 menit sebagai *Short Term Exposure Limits (STEL)*, 0,5 *ppm* sebagai *Action Level (AL)*. *IDAHO chemical roundup* menyatakan apabila tercium bau formalin, misalnya saat membuka kontainer berisi formalin, maka paparan yang kita terima sudah melebihi nilai ambang tersebut. Pada paparan formaldehid dengan konsentrasi 100 *ppm* dapat membahayakan nyawa secara instan. Anak – anak harus dihindarkan dari paparan formalin mengingat hipersensitifitas dan batas toleransi yang berbeda.<sup>10,11,12,13</sup>

Otak adalah organ yang berperan untuk fungsi luhur, sensori, memori, motorik, dan fungsi vital lainnya. Seiring dengan perkembangan bayi jumlah neuron relatif tetap, namun sel bertambah ukurannya dan koneksinya. Ukuran otak berhenti untuk bertambah setelah usia 6 tahun. Dengan demikian berarti sel otak tidak dapat berproliferasi apabila terjadi kerusakan.<sup>14,15,16</sup>

Keracunan formaldehid baik secara akut, maupun kronis, memiliki efek pada sistem saraf pusat. Hal ini didukung dengan adanya gangguan neurologis secara klinis, dan gangguan fungsi luhur, yaitu memori.<sup>8,9,13</sup>

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efek pemberian formalin dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis otak tikus wistar. Otak dipilih sebagai organ yang diteliti dengan pertimbangan bahwa otak merupakan organ paling sensitif terhadap kekurangan oksigen dan zat toksik.

Waktu pemaparan selama 12 minggu diharapkan efek subakut terlihat pada otak. Penggunaan hewan coba yaitu tikus wistar karena metabolisme tikus wistar tidak jauh berbeda dengan manusia.

## **1.2. Permasalahan penelitian**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: Apakah terdapat perbedaan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu?



### **1.3 Tujuan penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Mengetahui perbedaan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

- 1) Menganalisis gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 0 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 2) Menganalisis gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 50 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 3) Menganalisis gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 100 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 4) Menganalisis gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 5) Membandingkan gambaran histopatologis otak tikus wistar antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan
- 6) Membandingkan gambaran histopatologis otak tikus wistar antar kelompok perlakuan

#### 1.4. Manfaat penelitian

- 1) Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam mendukung dan melengkapi informasi mengenai pengaruh buruk formalin terhadap kesehatan apabila digunakan sebagai bahan tambahan pangan
- 2) Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar atau acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian formalin peroral terhadap kerusakan organ terutama otak
- 3) Dibidang Ilmu Kedokteran Forensik dan Patologi Anatomi, hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu menentukan diagnosis keracunan formalin pada pemeriksaan

#### 1.5 Keaslian penelitian

Penelitian mengenai efek formalin pada hewan coba yang sudah pernah dilakukan sebelumnya oleh penelitian lain adalah sebagai berikut.

**Tabel 1.1** Penelitian yang sudah ada tentang efek toksik formalin

No	Judul penelitian	Peneliti	Metodologi	Hasil
1	<i>Two year drinking water study of formaldehyde in rats.</i>	Til hp, Woutersen RA, Feron VJ, Hollanders VH, Falke HE, Clary JJ <sup>17</sup>	70 ekor tikus wistar jantan dan 70 betina berumur 24 minggu. Masing-masing dipilih acak 10 ekor/jenis kelamin/kelompok diberikan minuman formalin setiap hari dengan	Membuktikan no observed adverse effect level pada dosis 15 dan 21 mg/kgbb/hari baik pada tikus jantan dan betina. Pada dosis 82

					<p>dosis 0,1,2,15,82 dan 109 mg/kgbb/hari untuk tikus berturut-turut jantan dan 0,1,8,21,109 mg/kgbb/hari untuk tikus betina kemudian lambung berupa hiperplasia epitelial setelah 12 atau 18 bulan. tapi tidak menghasilkan tumor lambung ataupun tumor tempat lain</p>
2	<p><i>Pathological effect of formalin (37% formadehid) feeding female Japanese Quails.</i></p>	<p>A Khan, HA Bachaya, MZ Khan, F Mahmood<sup>18</sup></p>	<p>75 ekor burung puyuh (japanese Quails) dibagi dalam 5 kelompok secara acak masing-masing diberikan formalin yang dicampurkan dalam dengan dosis 2.5,5,10,20 ml/kg dan kontrol selama 8 minggu. Dinilai keadaan klinik, parameter hematologi dan biokimia serta histologi organ</p>	<p>Membuktikan pada dosis 2.5 ml/kg tidak adanya gangguan klinis, namun pada dosis 20 ml/kg tampak gejala yang menonjol berupa anoreksia, depresi dan lemah. Pada dosis 10-20 ml/kg ditemukan penurunan berat badan, penurunan produksi telur, penurunan berat organ; jumlah eritrosit, leukosit, hb dan hematokrit menurun. Pada semua kelompok total serum protein dan globulin meningkat dibandingkan kontrol. Pada pemeriksaan histopatologis dosis</p>	

						2,5 ml/kg tidak menunjukkan perubahan secara bermakna.
3	<i>Effect of formalin on blood gases parameter in rats.</i>	oral OK Al Omari, WA Khamas, A Elbeteiha. Tahun 2007 <sup>19</sup>	40 ekor tikus Sprage Dawely jantan dan betina, umur 4-5 bulan, dibagi dalam 3 kelompok, diberikan formalin yang dicampur dalam minuman diberikan ad libitum, selama 8-12 minggu. Kelompok I terdiri dari 14 ekor diberikan dosis formalin 80 mg/KgBB/hari, kelompok II 13 ekor dosis 150 mg/KgBB/hari dan kelompok kontrol diberikan dalam minum air tanpa formalin. Masing-masing kelompok 1 ekor tikus dipilih secara acak untuk pemeriksaan internal organ-organ secara umum. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum. Berat badan ditimbang setiap minggu untuk mengukur dosis pemberian. Parameter yang diukur adalah analisa gas darah dari arteri, hitung retikulosit, anatomi dan	40 ekor tikus Sprage Dawely jantan dan betina, umur 4-5 bulan, dibagi dalam 3 kelompok, diberikan formalin yang dicampur dalam minuman diberikan ad libitum, selama 8-12 minggu. Kelompok I terdiri dari 14 ekor diberikan dosis formalin 80 mg/KgBB/hari, kelompok II 13 ekor dosis 150 mg/KgBB/hari dan kelompok kontrol diberikan dalam minum air tanpa formalin. Masing-masing kelompok 1 ekor tikus dipilih secara acak untuk pemeriksaan internal organ-organ secara umum. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum. Berat badan ditimbang setiap minggu untuk mengukur dosis pemberian. Parameter yang diukur adalah analisa gas darah dari arteri, hitung retikulosit, anatomi dan	Hasil membuktikan berat badan, konsumsi makanan dan minuman relatif lebih rendah dibandingkan kontrol. Tidak ada perbedaan statistik pH dan PCO <sub>2</sub> antar kelompok. Tidak ada perubahan histologi hepar dan ginjal pada kelompok paparan formalin yang diberikan dicampur dalam minum sehingga konsentrasi formalin dalam air 1%, diberikan peronde sehari sekali sehingga pemberian dosis tertakar dengan baik. Bila dicampur dalam minuman dan diberikan ad libitum maka dosis harian belum tentu dapat tercapai seperti yang diharapkan. Untuk menentukan kondisi	

---

histologi hepar dan ginjal.	tikus dalam keadaan sehat dilakukan pemeriksaan fisik secara umum, nafsu makan baik, serta kadar bersihan kreatinin normal.
-----------------------------	---

---

Penelitian-penelitian yang lalu menggunakan hewan coba baik jenis tikus maupun unggas. Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang telah ada dari segi dosis, rute pemberian formalin, lama waktu pemberian formalin serta organ target yang diteliti.

Pada penelitian ini digunakan tikus wistar jantan, pemberian paparan formalin peroral digunakan dengan mencampur dengan makanan dan minuman secara *ad libitum*. Penelitian difokuskan pada perubahan histopatologis otak akibat pemberian formalin peroral dosis 50 mg/KgBB/hari, 100 mg/KgBB/hari, 200 mg/KgBB/hari, serta dibandingkan dengan kelompok kontrol selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis otak. Waktu paparan yang dipilih adalah 12 minggu karena dianggap efek formalin peroral di otak sudah dapat diamati.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Formaldehid sebagai racun**

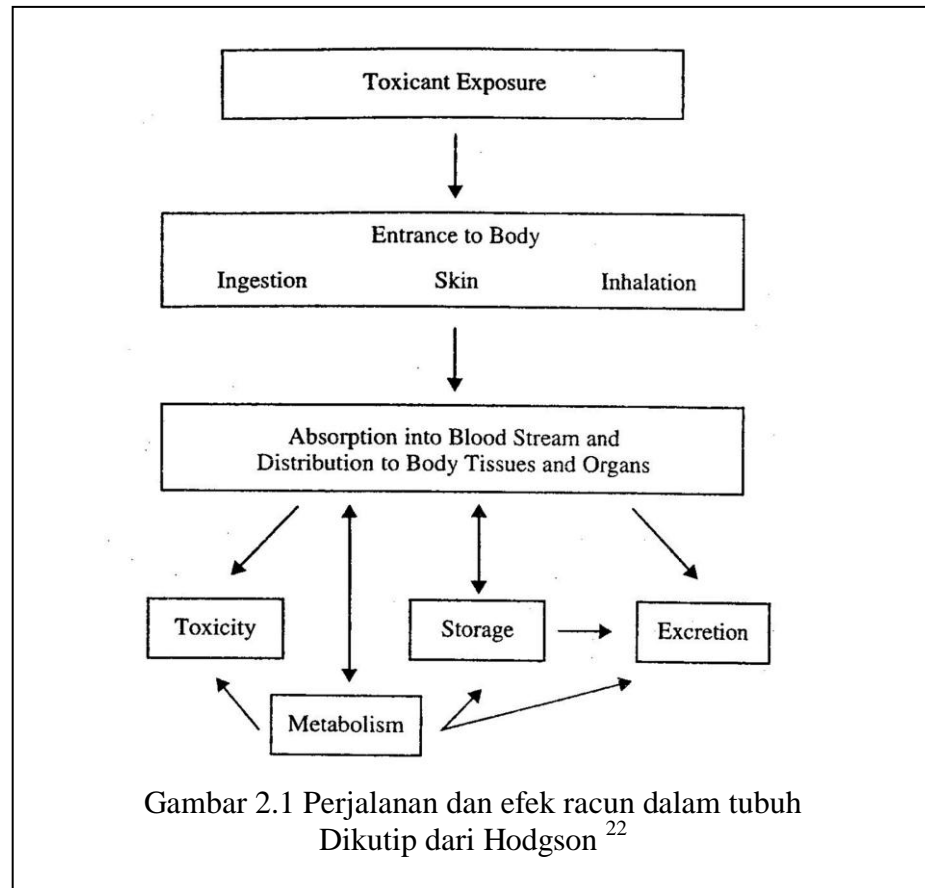
##### **2.1.1 Definisi racun**

Racun (*toxicant* atau *toxic*) didefinisikan sebagai semua substansi bahan kimia yang menyebabkan efek berbahaya apabila diberikan kepada organisme. Hal ini dibedakan dengan racun yang dihasilkan di dalam tubuh organisme atau makhluk hidup sebagai hasil metabolisme yang disebut dengan toksin (*toxin*).<sup>20-22</sup>

Racun adalah konsep kuantitatif, sebagaimana dimaksud hampir semua substansi dapat menimbulkan bahaya pada dosis tinggi di sisi lain dapat juga menimbulkan efek tertentu pada dosis yang lebih kecil. Efek tertentu tersebut dapat berupa efek kronis jangka panjang yang hampir tidak terlihat hingga kematian mendadak. Sebagai contoh adalah *vinyl chlorida* bersifat hepatotoksik pada dosis tinggi, dapat juga bersifat karsinogen dengan dosis yang lebih kecil, dan tanpa efek pada dosis sangat kecil.<sup>22</sup>

Racun juga merupakan konsep kualitatif, yaitu dalam aspek biologis suatu substansi dapat berbahaya bagi satu individu (variasi genetik, ras, spesies) namun bagi yang lain kurang berbahaya. Contohnya adalah kelinci dengan ras tertentu dapat mengkonsumsi *Atropa belladonna* sedangkan ras kelinci lain akan keracunan, pada species lain contohnya kucing juga terjadi keracunan.<sup>22</sup>

Paparan racun pada manusia dapat terjadi melalui berbagai cara: penelanan, resiko kerja, pencemaran lingkungan. Ketiganya dapat secara sengaja maupun tidak sengaja.



### 2.1.2 Antiseptik, disinfektan, dan sterilan sebagai racun

Antiseptik, disinfektan dan sterilan banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Namun demikian kekerapan penggunaan itu malah sering menimbulkan keracunan terhadap zat-zat tersebut.<sup>5</sup>

Formaldehid termasuk disinfektan yang sering digunakan, kadang juga digunakan sebagai antiseptik oleh masyarakat umum. Sebenarnya antiseptik, disinfektan, dan sterilan adalah contoh dari berbagai jenis antimikroba yang digunakan untuk mencegah infeksi. Walaupun kadang istilah-istilah ini sering digunakan menggantikan satu

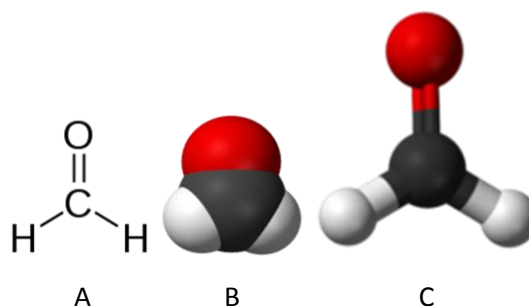
sama lain, namun mengetahui karakteristik yang satu dengan yang lain perlu ditekankan.<sup>23,24</sup>

Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan pada jaringan hidup untuk membunuh atau menghambat mikroorganisme (contohnya adalah: *Iodophors*, *clorhexidine*, *alcohols* baik *ethanol* atau *isopropanol*). Disinfektan adalah bahan kimia atau fisis yang digunakan pada benda mati untuk membunuh mikroorganisme (misalnya: *Sodium hypochlorite* atau *chlorine bleach*, komponen *phenolic*, dan *formaldehyde*). Sedangkan sterilan adalah bahan kimia atau fisis yang digunakan pada benda mati untuk membunuh semua organisme hidup yang ada pada benda itu termasuk spora (berikut contohnya: *ethylene oxide*, *glutaraldehyde*).<sup>23</sup>

### 2.1.3 Formaldehid dan formalin; definisi, efek, metabolisme

#### 2.1.3.1 Definisi formaldehid

Formaldehid (IUPAC: Methanal) yang murni merupakan bahan organik dengan formula  $\text{CH}_2\text{O}$  memiliki sifat tidak berwarna, namun berbau tajam, larut dalam air, alkohol, serta eter (tidak larut dalam pelarut organik yang lain), formaldehid merupakan gas yang reaktif pada suhu kamar. Memiliki berat molekul sekitar 30 g/mol.<sup>5,7-9,25</sup>



**Gambar 2.2** (a)rumus kimia formaldehid. (b)formaldehid dalam *spacefill model*. (c)formaldehid dalam *ball and stick model*.  
Dikutip dari Wikipedia<sup>9</sup>



Formaldehid secara alami merupakan metabolit normal dari mamalia yang mengambil bagian penting dalam proses biologi. Formaldehid diproduksi secara komersial sejak awal 1900 untuk kepentingan industri. Sekarang formaldehid tersedia di pasar dalam bentuk cairan disebut formalin, merupakan campuran formaldehid yang dilarutkan dalam air {biasanya 37% - 50% formaldehid(w/w), 6 - 15% methanol(w/w)} sehingga massa jenisnya lebih tinggi daripada air yaitu 1,08g/cm<sup>3</sup>. Meskipun sudah dilarutkan dalam air hingga konsentrasi yang rendah, bau formaldehid masih dapat dideteksi.<sup>6,8,26</sup>

Selain sebagai disinfektan-fumingant, formaldehid juga digunakan dalam industri tekstil dan produksi resin serta plastik. Walaupun formaldehid digunakan secara luas, tetapi petugas kesehatan adalah orang yang paling sering menggunakan formaldehid baik sebagai fiksasi jaringan, atau pengawet mayat.<sup>27</sup>

### **2.1.3.2 Efek formalin terhadap kesehatan**

Paparan akut formalin 1 ppm dapat mengakibatkan iritasi saluran nafas (hidung tersumbat dan berair, tenggorokan kering dan nyeri), iritasi konjungtiva (mata gatal dan berair), pusing, iritasi kulit dan dermatitis. Kematian dapat terjadi secara akut setelah menelan 1-2 ounces formalin (28,3495231 – 56,6990463gram).<sup>25</sup> Pada paparan kronis formalin dapat terjadi keganasan. Pada paparan berulang dapat terjadi aklimatisasi ditandai dengan gejala yang berkurang atau sebaliknya dapat terjadi sensitisasi yang mengakibatkan alergi dengan gejala yang bertambah.<sup>5,8,28-30</sup> Formaldehid pernah dilaporkan dapat menjadi pemicu *immune-mediated reversible bronchospasm*. Walaupun

mekanisme imunologisnya belum jelas namun diduga formaldehid berfungsi sebagai *hapten*.<sup>31</sup>

Formaldehid adalah racun protoplasma, paparan akut formalin peroral dapat memberikan manifestasi lokal dan sistemik. Efek lokal yang terjadi adalah nekrosis koagulasi, presipitasi, dan fiksasi jaringan. Terjadi luka lambung (*gaster*) yang signifikan, termasuk perdarahan, nekrosis difus, perforasi, striktur.<sup>32-34</sup> Kadang mencapai usus halus (*intestinum tenue*) dan usus besar (*intestinum crassum*). Kelainan pada esophagus tidak terlalu menonjol dan apabila ada biasanya terletak pada sisi distal esophagus.<sup>35</sup> Sedangkan efek sistemik yang paling menonjol adalah asidosis, merupakan hasil konversi dari formaldehid menjadi asam format. Ditambah lagi dengan nekrosis yang luas menyebabkan produksi asam laktat yang juga berkontribusi dalam timbulnya asidosis.

Pasien mengeluh nyeri perut (*severe abdominal pain*) disertai muntah dan diare segera setelah paparan formalin peroral. Selanjutnya dapat terjadi penurunan status mental dan koma. Pemeriksaan fisik menunjukkan nyeri epigastrik, muntah darah (*hematemesis*), tubuh menjadi pucat kebiruan (*cyanosis*), tekanan darah menurun (*hypotension*) diperparah dengan penurunan kontraktilitas jantung, nafas menjadi cepat (*tachypnea*), hemolisis intravaskuler.<sup>36,37</sup>

### **2.1.3.3 Metabolisme formaldehid pada tubuh**

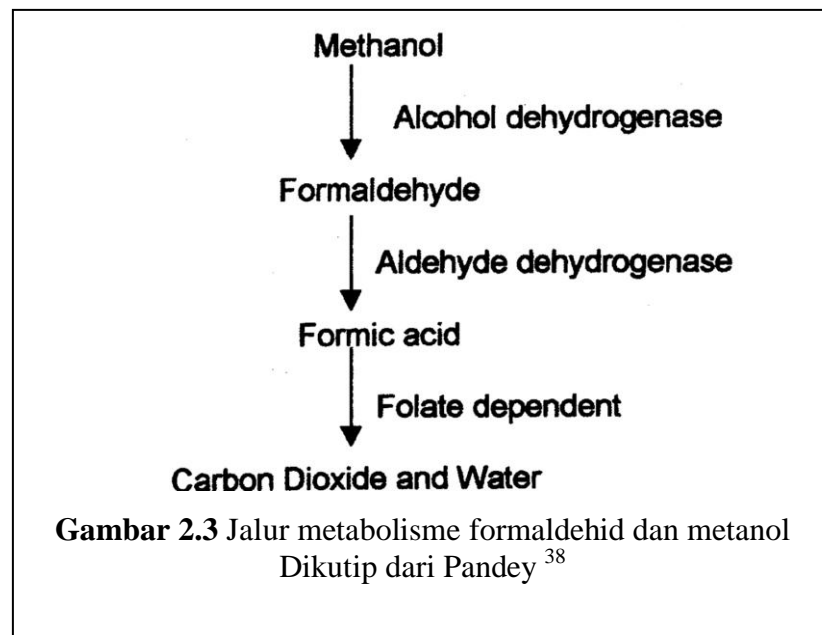
Formaldehid secara alami merupakan metabolit normal dari mamalia yang mengambil bagian penting dalam proses biologi. Formaldehid terdapat dalam buah dan sayur. Formaldehid yang terdapat di udara merupakan produk dari

fotooksidasi asap mobil, produk dari fotooksidasi proses pembakaran, dan *incinerator*.<sup>6,38</sup>

Paparan formaldehid terhadap manusia dapat terjadi melalui berbagai cara karena diabsorpsi oleh semua permukaan tubuh, biasa terjadi melalui inhalasi, peroral, atau kontak langsung.

Formaldehid endogen secara cepat dimetabolisme oleh berbagai sistem enzim (sistem *Glutathione-dependent Formaldehyde Dehydrogenase* -FDH- dikenal juga sebagai *Alcohol Dehydrogenase 5* -ADH5- bersama dengan *S-Formyl-Glutathione-Hidrolase*, metabolisme ini dapat juga dilakukan oleh sistem *Hydrogen peroxide/* sistem katalase) menjadi asam format yang terakumulasi atau asam format dioksidasi dipecah menjadi format dan ion hidrogen masuk dalam siklus karbon melalui tetrahidrofolat.<sup>39</sup> Jalur asam tetrahidrofolat adalah jalur utama dimana metabolisme asam format terjadi. Sekali format telah masuk dalam siklus karbon, banyak reaksi terjadi dan mengarahkan format ke berbagai jalur termasuk jalur asam sitrat dimana format dapat digunakan untuk kebutuhan energi, melepaskan karbon dioksida dan air. Sedangkan kelebihan asam format dalam tubuh akan diekskresikan melalui urin.<sup>40</sup>

Asam format, sebagai garam natrium, adalah salah satu bentuk karbon endogen yang paling sederhana dan berperan pada banyak reaksi anabolik dan katabolik. Format atau formaldehid telah terbukti berperan dalam transfer karbon tunggal dari glisine, histidin, triptofan, serin, dan berbagai



asam amino esensial; serta berperan dalam sintesis purin, pirimidin, metionin, dan cholase.<sup>41</sup> Asam format juga sebagai inhibitor bagi enzim seperti heksokinase dan kolinesterase. Juga menghambat oksidasi suksinat, dan glikolisis anaerobik. Pada tingkat sel, asam format menghambat enzim sitokrom oksidase sehingga menyebabkan hipoksia histotoksik dan menyebabkan penumpukkan asam.<sup>42-44</sup>

Waktu paruh dari formaldehid dalam tubuh adalah 1,5 menit sehingga sulit untuk mengukur formaldehid karena langsung diubah menjadi asam format<sup>40,45</sup> Sedangkan waktu paruh dari asam format adalah 90 menit.<sup>40</sup> Dari data tersebut, terlihat asam format secara lambat dimetabolisme menjadi karbon dan air. Dimana proses metabolisme asam format ini bergantung pada folat. Folat adalah vitamin yang ditemukan pada sayuran dan buah segar, merupakan bahan baku untuk membangun tetrahidofolat. Defisiensi pada komponen esensial biokimia pada jalur asam tetrahidrofolat akan menurunkan jumlah format yang dimetabolisme menjadi karbon dioksida dan air. Defisiensi asam folat akan menyebabkan metabolisme asam

format menjadi lambat, menyebabkan akumulasi asam format dalam tubuh, sehingga terjadi asidosis metabolik, penghambatan respirasi pada mitokondria sehingga adenosin triphospat (ATP) yang terbentuk lebih sedikit, dan peningkatan ekskresi format dalam urin.<sup>40,42,43</sup> Keadaan ini dapat dikoreksi dengan suplementasi sehingga output format dalam urin kembali normal.<sup>40</sup>

Formaldehid sebagaimana telah dikatakan sebelumnya adalah suatu substansi dapat tidak berbahaya pada konsentrasi minimal, namun pada paparan konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan efek toksik.<sup>22</sup> Setelah diabsorpsi ke dalam tubuh formaldehid akan dioksidasi oleh enzim FDH di hepar dan di eritrosit.<sup>46</sup> Formaldehid dalam darah manusia normal berkisar dari 0 – 12 mg/L, sedangkan dalam urin manusia normal berkisar antara 0 - 27 mg/L. 120 ml formalin komersial peroral dapat meningkatkan asam format dalam darah hingga 500 mg/L, tingkat asam format ini dipengaruhi oleh perancu seperti asupan dan status nutrisi, merokok.<sup>46,47</sup>

## 2.2 Toksisitas pada sistem saraf (neurotoksisitas)

### 2.2.1 Sistem saraf

Sistem saraf terdiri dari 2 bagian: sistem saraf pusat dan sistem saraf tepi. Sistem saraf pusat terdiri dari otak (*encephalon*) dan sumsum tulang belakang (*medulla spinalis*). Sistem saraf tepi terdiri dari 12 pasang saraf kranial dan 31 pasang saraf spinal. Sistem saraf tepi juga termasuk sistem simpatis (dari saraf spinal segmen torakalis dan segmen lumbalis) dan sistem parasimpatis (dari saraf kranialis dan saraf spinalis segmen sacralis).<sup>14,15,48</sup>

Sistem saraf pusat ini terdiri lebih dari 100 juta sel saraf (*neuron*). Dengan berat 3 pon (1300g-1400g), otak dibagi menjadi otak besar (*cerebrum*), otak kecil (*cerebellum*), dan batang otak (*truncus cerebri*). Sistem saraf pusat memiliki perlindungan seperti: peredam getaran yaitu cairan otak (*Liquor Cerebro Spinal / LCS*), perlindungan terhadap racun atau sisa metabolisme yang berbahaya yaitu sawar darah otak (*Blood Brain Barrier / BBB*).<sup>14,15,48</sup>

Pada saat lahir berat otak manusia kurang dari 1 pon (350g-400g). Seiring dengan perkembangan bayi jumlah neuron relatif tetap, karena neuron bersifat post mitotik (tidak mengalami pembelahan). Namun sel bertambah ukurannya dan koneksi antar neuron. Ukuran otak berhenti untuk bertambah setelah usia 6 tahun. Otak adalah organ yang berfungsi untuk fungsi luhur, sensori, memori, motorik, dan fungsi vital lainnya. Sebagaimana dimaksud fungsi vital contohnya adalah homeostasis, detak jantung, tekanan darah, keseimbangan cairan tubuh, dan suhu tubuh.<sup>14-16</sup>

Satuan fungsional pada sistem saraf yang berfungsi sebagai konduktor impuls disebut sel saraf (*neuron*), yang terdiri dari perikarion, dendrit, dan axon. Jaringan penyokongnya adalah berbagai macam sel glia (yaitu: astrosit, oligodendrosit, mikroglia). Di sini astrosit berguna

untuk mempertahankan microenvironment di sekeliling neuron dan menyokong BBB, oligodendrosit berperan untuk membentuk selubung myelin pada saraf pusat, sedangkan mikroglia berfungsi sebagai makrofag yang berfungsi dalam proses fagositosis.<sup>48,49</sup>

## 2.2.2 Karakteristik dari sistem saraf

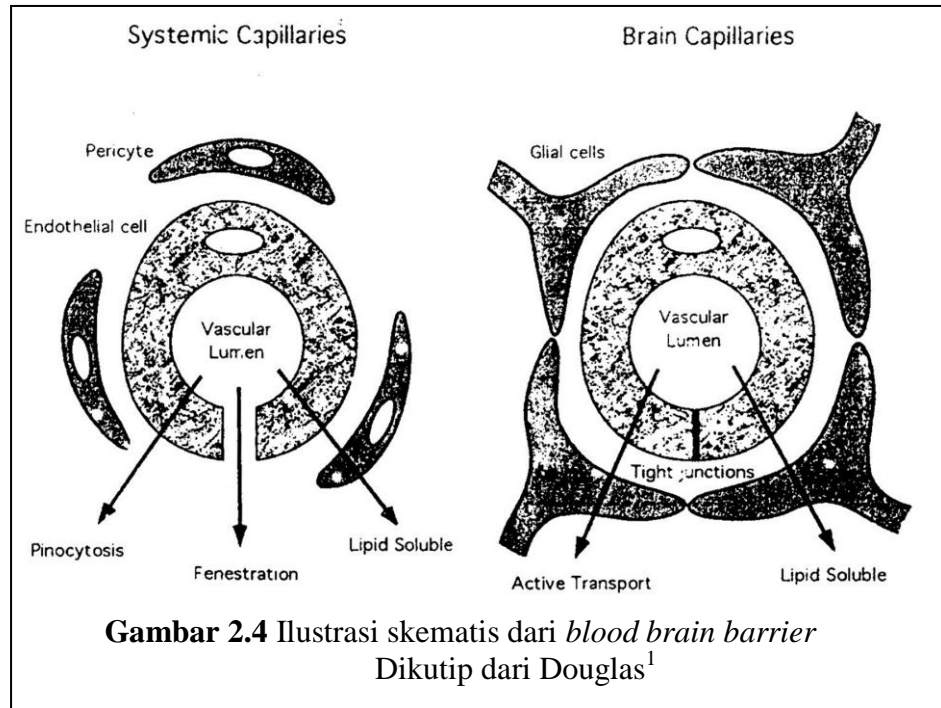
### 2.2.2.1 *Blood brain barrier*

*Blood brain barrier* terdapat pada seluruh sistem saraf pusat kecuali *circumventricular organs*. *Blood brain barrier* belum sempurna saat lahir, terlebih lagi pada bayi prematur, sehingga bayi prematur memiliki faktor risiko keracunan terutama *unconjugated bilirubin*.<sup>1</sup>

*Blood Brain Barrier* merupakan sel endotel khusus di mikrovaskularisasi sistem saraf pusat ditambah dengan sel glia yang mengelilinginya. Pada umumnya sel endotel di luar sistem saraf pusat memiliki gap 4-nm (fenestra). Endotel pada sistem saraf pusat terdapat kekhususan, yaitu adanya *tight junction* diantara sel endotel. Sehingga sebuah zat harus masuk-keluar membran sel endotel. *Blood brain barrier* ini juga memiliki transporter xenobiotik yang mengeluarkan zat xenobiotik yang terlanjur masuk ke dalam sel endotel kembali ke darah. Sehingga suatu zat dapat menembus ke sistem saraf pusat hanya melalui transportasi aktif, atau sifat lipofilik yang membuat zat tersebut dapat melalui membran sel endotel sistem saraf pusat.<sup>1,14,15,48</sup>

Walaupun telah dilindungi oleh *blood brain barrier* sistem saraf pusat masih dapat terkena beberapa racun, misalnya metil merkuri yang memiliki efek utama pada saraf. Konsentrasinya pada otak sebanding dengan jaringan lainnya,

walaupun lebih rendah sedikit dibanding konsentrasinya pada hati dan di ginjal.<sup>48</sup>



## 2.2 Kebutuhan energi yang tinggi

Neuron memiliki kebutuhan metabolisme tinggi. Hal ini dihubungkan dengan pengaturan keluar-masuknya ion secara terus menerus pada depolarisasi dan repolarisasi, yang membutuhkan energi besar. Sehingga harus tersedia energi fosfat yang besar, walaupun dalam keadaan istirahat.<sup>1,48</sup>

Kebutuhan energi yang tinggi dalam bentuk nutrisi dan oksigen ini juga dihubungkan dengan pasokan darah otak dengan lebih kurang 20% dari total *cardiac output*, sekitar 750ml/menit. Selain oleh darah, pemenuhan kebutuhan metabolisme otak juga dibantu oleh LCS.<sup>50</sup>



Untuk memenuhi kebutuhan energi tersebut otak menggunakan glikolisis aerobik, yang menggunakan glukosa dan oksigen yang disuplai dari darah. Karena ketergantungannya pada glikolisis aerobik ini, maka otak menjadi organ yang sensitif terhadap gangguan suplai oksigen atau glukosa.<sup>1,48</sup>

### 2.3 Cedera sel

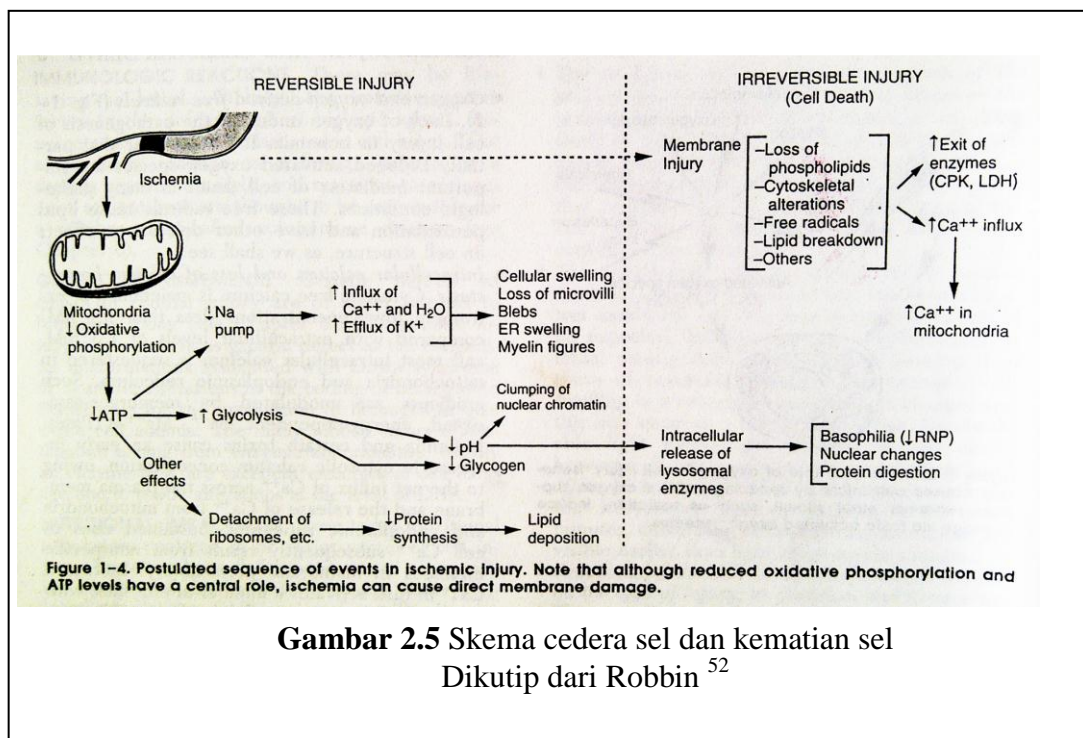
Pada keadaan normal sel berada dalam keadaan homeostasis yaitu terdapat keadaan seimbang antara sel dengan lingkungan sekitar. Gangguan homeostasis sel yang berlebihan akan membuat sel cedera. Sel yang cedera ditandai dengan perubahan baik secara biokimia maupun secara morfologi. Sel cedera tersebut berusaha untuk kembali menjadi normal (mekanisme adaptasi), apabila mekanisme adaptasi berhasil dan sel kembali menjadi normal maka cedera tersebut disebut cedera reversibel. Namun apabila proses cedera berlanjut mencapai "*point of no return*", maka selanjutnya mekanisme adaptasi akan gagal dan merupakan suatu cedera yang ireversibel, dan sel tidak akan pernah kembali normal.<sup>51</sup>

Secara umum tanda cedera reversibel pada sel adalah pembengkakan mitokondria dapat juga sobekan mitokondria, selanjutnya sel menjadi lebih besar karena akumulasi cairan dan bertambahnya vacuola. Sedangkan tanda cedera ireversibel adalah *myelinated mitochondria*, *calcified mitochondria*, robekan membran plasma, perubahan inti.<sup>51</sup>

Mekanisme molekuler sel yang cedera hingga terjadinya kematian sel adalah suatu proses yang kompleks. Hal penting yang perlu diingat adalah target biokimia dari jejas tersebut baik membran sel, respirasi aerobik sel, sintesis enzim dan protein, serta kesatuan genetik sel tersebut. Dosis rendah dari toksin atau iskemia dapat menyebabkan cedera reversibel, sedangkan

pada dosis tinggi atau iskemia lama dapat mengakibatkan kematian sel secara instan maupun perlahan.<sup>52</sup>

Sel yang mengalami paparan terhadap toksin atau mengalami iskemi dapat terjadi deplesi ATP. ATP sangat dibutuhkan oleh sel untuk transport membran, sintesis protein, lipogenesis, deasilasi-reasilasi. Karena deplesi ATP maka pompa pada membran sel akan terganggu, sehingga terjadi peningkatan  $\text{Ca}^{++}$  intrasel. Peningkatan  $\text{Ca}^{++}$  intrasel ini akan mengaktifkan enzim-enzim yang berpotensi bahaya fosfolipase (memicu kerusakan membran sel), protease (merusak protein membran dan protein sitoskeletal), ATPase (memperburuk deplesi ATP), endonuklease (berhubungan dengan fragmentasi inti)<sup>52</sup>



**Gambar 2.5** Skema cedera sel dan kematian sel  
Dikutip dari Robbin<sup>52</sup>

Pada keracunan formalin jejas yang terjadi adalah jejas kimia, dan seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa mekanismenya adalah penghambatan respirasi oksidasi sehingga terjadi sindroma kekurangan energi yang dilaporkan terdapat kelainan putamen, globus pallidus, dan claustrum

pada CT SCAN, pada tingkat sel kelainan yang didapatkan adalah pembesaran mitokondria, pembesaran axon, kerusakan myelin, fragmentasi inti.<sup>53</sup>

## **2.4 Faktor - faktor yang mempengaruhi kerusakan neuron**

### **2.4.1 Jenis kelamin**

Seperti dibahas di kongres, data menunjukkan adanya perbedaan elemen pada bagian otak tertentu antar *gender*.<sup>54</sup>

### **2.4.2 Degenerasi**

Pada usia lanjut akan terjadi penurunan fungsi sel, yang dalam jangka waktu lama akan diikuti oleh kerusakan morfologi sel. Gambaran mikroinfark pada neuron secara normal dapat ditemukan pada usia lanjut yang disebabkan oleh penuaan.<sup>55</sup>

### **2.4.3 Trauma serebral**

Perdarahan intraserebral (*Intra Cerebral Hemorrhage -ICH*) biasanya multipel dan paling sering terjadi pada lobus frontalis, lobus temporalis, ganglia basalis. Secara mikroskopik daerah disekitar trauma terdapat eritrosit yang menggerombol.<sup>55</sup>

### **2.4.4 Infeksi sistem saraf pusat**

Sistem saraf pusat dapat menjadi tempat infeksi aktif (baik virus, bakteri, maupun parasit) dapat berupa leptomeningitis maupun encephalitis. Agen infeksi akan menyebabkan inflamasi pada neuron, dalam jangka lama dapat mengakibatkan nekrosis neuron.<sup>55</sup>

### **2.4.5 Penyakit serebrovaskuler**

Penurunan aliran darah ke otak akan mengakibatkan cedera parenkim, infark, dan perdarahan. Kita ketahui bahwa neuron adalah sel

yang sensitif terhadap kekurangan nutrisi dan oksigen, namun neuron yang paling rentan terhadap hipoksia adalah neuron *korteks* pada lapisan ke 3, 5, 6, hipokampus pada *sector CA1*, dan Serebelum pada *sel purkinje*.<sup>55</sup>

Pada awal infark tidak tampak kelainan, 24 jam setelahnya jaringan lunak dan bengkak serta batas substansia grisea dan substansia alba tidak tegas. Setelah empat hari terjadi nekrosis kolikuatifa, dan terjadi migrasi makrofag yang menghancurkan myelin. Akhirnya seluruh jaringan mati difagosit, tersisa ruang berisi debris sisa fagositosis dengan dinding gliotik.<sup>55</sup>

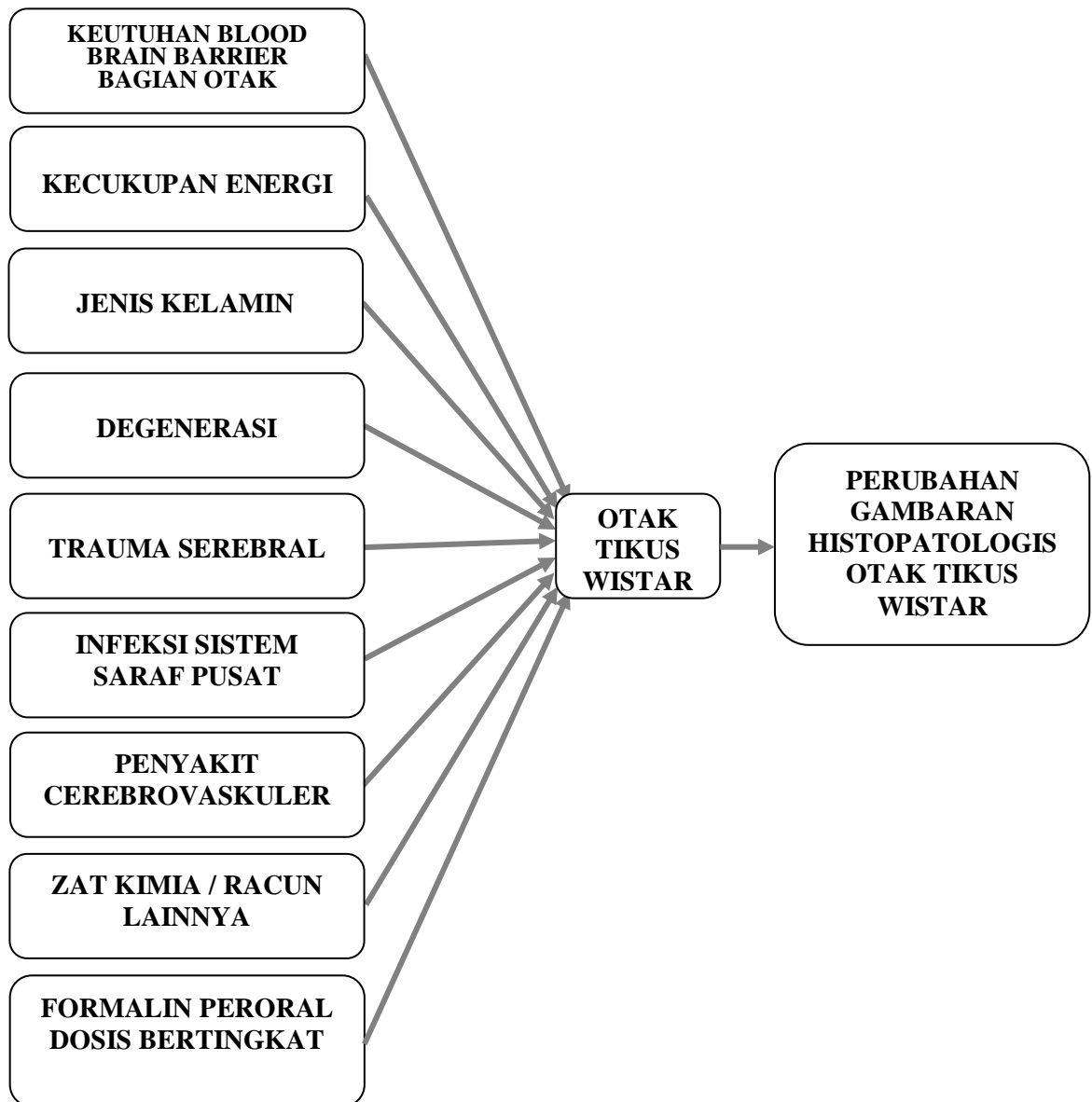
#### **2.4.6 Racun**

Racun dapat menyebabkan nekrosis baik secara langsung maupun tidak langsung. CO menyebabkan leukoensefalopati sebagai efek utamanya. Sedangkan sianida menyebabkan hipoksia sistemik dan ischemia, serta hipoperfusi global yang merupakan penyebab kerusakan sistem saraf pusat.<sup>55</sup>

Para peneliti pernah melaporkan kerusakan hipokampus pada paparan formaldehid, hal ini dikarenakan sel-sel pada hipokampus yang rentan terjadinya hipoksia.<sup>55,56</sup>

**BAB 3**  
**KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN**  
**HIPOTESIS**

**3.1 Kerangka teori**



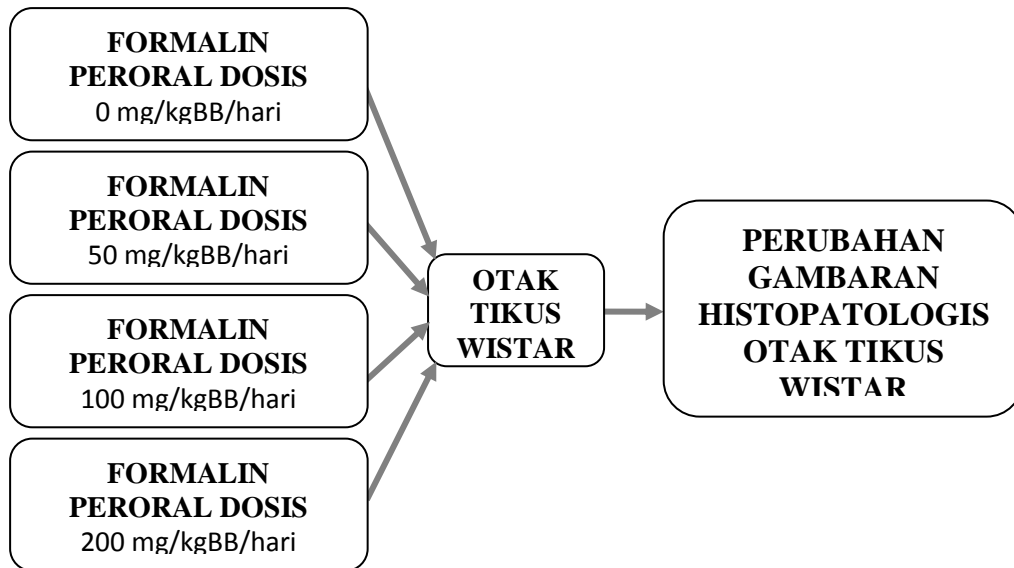
**Gambar 3.1** Kerangka teori penelitian

### 3.2 Kerangka konsep

Dalam penelitian ini yang akan diamati adalah efek dari formalin peroral dosis bertingkat terhadap nekrosis neuron. Untuk menyingkirkan variabel bebas lainnya dilakukan:

- a) Mengambil dan membandingkan bagian otak yang sejenis. Dengan cara demikian variabel bebas ketuhanan BBB dan kecukupan energi dapat dihilangkan.
- b) Memilih hewan coba dengan jenis kelamin sama, yaitu jantan. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan elemen pada area otak antar gender.
- c) Memilih hewan coba dengan usia yang sama yaitu 3 bulan. Maka tingkat kerusakan neuron akibat degenerasi akan setara sehingga dapat dihilangkan.
- d) Memberikan pakan standar yang sama untuk setiap kelompok hewan coba, sehingga tidak terpengaruh zat kimia yang berbeda.
- e) Hewan coba yang dijadikan sampel harus memenuhi kriteria sehat. Cara ini akan menyingkirkan variabel trauma serebral, infeksi susunan saraf pusat, penyakit serebrovaskuler, racun lainnya.

Sehingga didapatkan kerangka konsep sebagai berikut.



**Gambar 3.2** Kerangka konsep penelitian

### 3.3 Hipotesis

#### 3.3.1 Hipotesis mayor

Terdapat perbedaan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

#### 3.3.2 Hipotesis minor

- 1) Tidak terdapat perubahan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 0 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 2) Terdapat perubahan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 50 mg/kgBB/hari selama 12 minggu

- 3) Terdapat perubahan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 100 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 4) Terdapat perubahan gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu
- 5) Terdapat perbedaan gambaran histopatologis otak tikus wistar antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan
- 6) Terdapat perbedaan gambaran histopatologis otak tikus wistar antar kelompok perlakuan



## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang lingkup penelitian**

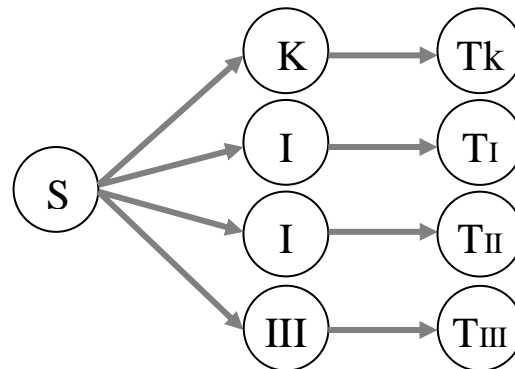
Ruang Lingkup penelitian ini adalah Ilmu Kedokteran Forensik, Ilmu Patologi Anatomi.

#### **4.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan April 2012 – Juli 2012. Tikus wistar diadaptasi 1 minggu, kemudian disonde formalin 50, 100, 200 mg/ kgBB/ hari selama 12 minggu, terminasi dan pembuatan blok parafin sampai pengecatan jaringan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Sedangkan interpretasi hasil patologi anatomi sampel jaringan otak dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### **4.3 Jenis dan rancangan penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa tikus wistar sebagai objek penelitian.



**Gambar 4.1** Rancangan penelitian

Keterangan:

S = kelompok sampel

K = kelompok kontrol (formalin peroral 0 mg/kgBB/hari)

I = kelompok perlakuan 1 (formalin peroral 50 mg/kgBB/hari)

II = kelompok perlakuan 2 (formalin peroral 100 mg/kgBB/hari)

III = kelompok perlakuan 3 (formalin peroral 200 mg/kgBB/hari)

Tk = test kelompok kontrol

TI = test kelompok perlakuan 1

TII = test kelompok perlakuan 2

TIII = test kelompok perlakuan 3

## **4.4 Populasi dan sampel**

### **4.4.1. Populasi target**

Adalah tikus wistar jantan.

### **4.4.2 Populasi terjangkau**

Adalah tikus wistar jantan galur murni, umur 3 bulan, berat badan 150-200 gram, sehat, tidak ada kelainan anatomi, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

### **4.4.3 Sampel**

#### **4.4.3.1 Kriteria inklusi**

- a) Tikus galur murni jenis wistar kelamin jantan
- b) Berat badan : 150 – 200 gram
- c) Umur 3 bulan
- d) Tikus dalam keadaan sehat dan aktif
- e) Anatomi tampak normal

#### **4.4.3.2 Kriteria eksklusi**

- a) Tikus sakit dan terlihat tidak aktif sewaktu penelitian
- b) Tikus mati sewaktu penelitian

### **4.4.4 Cara pengambilan sampel**

Untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*). Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus wistar yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap cukup homogen. Semuanya

diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

#### **4.4.5 Besar sampel**

Besar sampel mengacu pada pedoman WHO tentang penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental. Jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tiap kelompok, oleh karena terdapat 4 kelompok maka dibutuhkan 20 ekor tikus.

### **4.5 Variabel penelitian**

#### **4.5.1 Variabel bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

#### **4.5.2 Variabel tergantung**

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah gambaran histopatologis otak tikus wistar.

#### 4.6 Definisi operasional variabel

**Tabel 4.1** Definisi operasional variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Nilai	Skala
Bebas	Formalin Peroral dosis bertingkat	Formalin peroral dosis bertingkat yang diberikan pada tikus wistar sesuai kelompoknya. 0 ml/hari pada kelompok kontrol; 1/16 dosis lethal (0,019-0,025 ml/hari) pada kelompok 1; 1/8 dosis lethal (0,038-0,050 ml/hari) pada kelompok 2; ¼ dosis lethal (0,075-0,100 ml/hari) pada kelompok 3. Volume formalin dosis bertingkat diukur menggunakan spuit 1 cc (tuberkulin). Setelah itu dicampur dengan akuades hingga 3 ml dan diberikan per sonde selama 12 minggu. Dosis lethal pada penelitian sebelumnya adalah 800mg/kgBB	1) 0 mg/kgBB = 0,000 ml 2) 50 mg/kgBB = 0,019-0,025 ml 3) 100mg/kgBB = 0,038-0,050 ml 4) 200mg/kgBB = 0,075-0,100 ml	Rasio

---

Tergantung	Gambaran	Gambaran histopatologis	Jumlah sel saraf	Rasio
	histopatologis otak tikus wistar	otak tikus wistar didapatkan dengan menghitung sel saraf pada otak tikus wistar yang telah dicat hematoxilin-eosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dalam 5 lapangan pandang.	otak tiap lapangan pandang	

---

## **4.7 Cara pengumpulan data**

### **4.7.1 Bahan**

Bahan-bahan untuk percobaan ini :

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Asam pikrat
- 3) Formalin 100%
- 4) Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
  - a) Larutan Bouin
  - b) Larutan bufer formalin 10%
  - c) Parafin
  - d) Albumin
  - e) Hematoksilin Eosin
  - f) Asam asetat
  - g) Larutan Xylol
  - h) Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
  - i) Aquades

### **4.7.2 Alat**

#### **4.7.2.1 Alat untuk memberikan perlakuan**

- a) Kandang tikus
- b) Sonde (sprit dengan ujung tumpul terbuat dari timah diameter 2 mm)
- c) Sprit 1cc (tuberkulin)
- d) Sprit 5 cc

#### **4.7.2.2 Alat untuk otopsi**

- a) Skalpel (*handle no 3 and blade no 10*)
- b) Pinset chirurgis
- c) Gunting operasi lurus tajam/tumpul
- d) Botol kaca untuk menyimpan organ

#### **4.7.2.3 Alat untuk pemeriksaan histopatologis**

- a) Mikroskop cahaya
- b) Kaca objek dan kaca penutup
- c) Kamera digital

#### **4.7.3 Jenis data**

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil penelitian gambaran histopatologis otak dari kelompok paparan formalin peroral dosis bertingkat dan kelompok kontrol.

#### **4.7.4 Cara kerja**

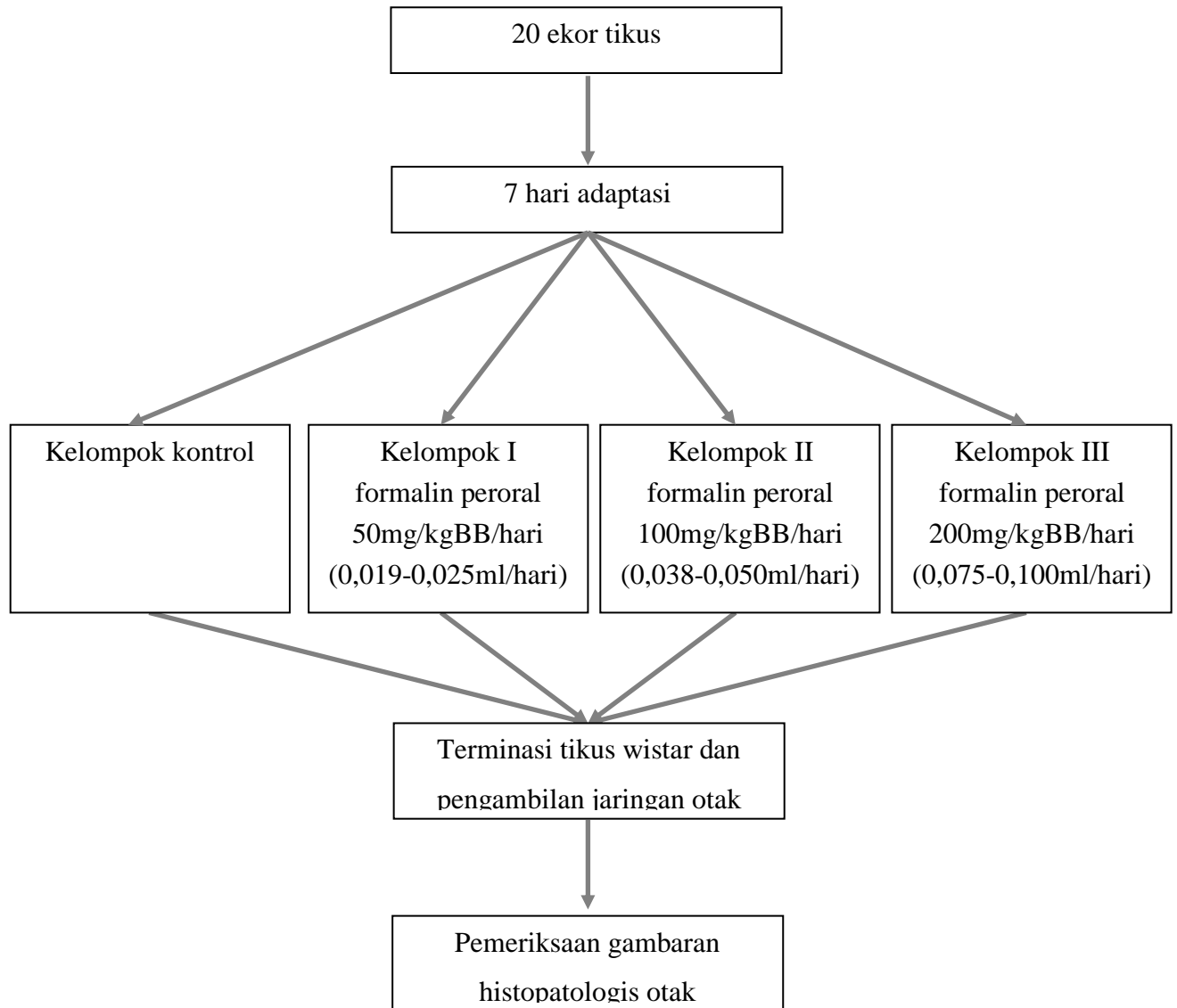
- a) 20 ekor tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diadaptasi selama 7 hari di laboratorium dalam kandang dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*
- b) Pada hari ke-8, tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak. Kemudian diberi tanda dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala dan punggung.



- c) Masing-masing tikus ditimbang berat badannya.
- d) Mulai hari ke-8 selama 12 minggu pada kelompok I diberikan formalin dengan dosis 0,019-0,025 ml/hari yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan dengan sonde, pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok II diberikan formalin dengan dosis 0,038-0,050 ml/hari yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan dengan sonde, pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok III diberikan formalin dengan dosis 0,075-0,100 ml/hari yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan dengan sonde, pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok terakhir adalah Kelompok Kontrol diberikan pakan standar dan minum *ad libitum*.
- e) Setelah 12 minggu masing-masing tikus ditimbang berat badannya.
- f) Tikus wistar dimatikan dengan cara dislokasi leher
- g) Organ otak diambil. Sampel otak tersebut kemudian diukur dan ditimbang, diamati secara makroskopik selanjutnya diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet bufer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian otak dan 9 bagian bufer formalin 10 %
- h) Tabung berisi sampel otak tikus wistar diletakkan ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis untuk diolah mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin. Dari setiap sampel otak dibuat preparat dengan potongan axial. Preparat

tersebut telah dibaca tiap lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan abnormal gambaran histopatologis pada otak dengan menghitung sel saraf yang tampak. Pembacaan diarahkan dokter spesialis patologi anatomi, dan dibantu oleh residen patologi anatomi.

#### 4.8 Alur penelitian



**Gambar 4.2** Alur penelitian

#### 4.9 Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat distribusi datanya normal atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, varians datanya sama, diuji beda dengan menggunakan statistik *parametric One Way Anova*, jika  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Bila diistribusi datanya tidak normal, atau varians data tidak sama, maka ditransformasi. Jika setelah ditransformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik *non-parametric Kruskal-Wallis*, jika didapat  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney test)*.<sup>60</sup>

- a. Jika  $p < 0,05$ ; maka ada perbedaan yang bermakna
- b. Jika  $p > 0,05$ ; maka tidak ada perbedaan yang bermakna

Jika didapatkan hasil yang berbeda bermakna, maka ada perbedaan yang bermakna gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

Sebaliknya jika didapatkan hasil yang tidak berbeda bermakna, maka tidak ada perbedaan yang bermakna gambaran histopatologis otak tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

#### 4.10 Etika penelitian

Sebelum penelitian dilakukan telah dimintakan *Ethical Clearence* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Tikus wistar dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Hewan diberi makan dan minum *ad libitum*. Untuk perlakuan, formalin dosis bertingkat dicampur dengan air hingga 3 ml kemudian disondekan. Hewan diterminasi dengan cara dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian ditanggung oleh peneliti.

#### 4.11 Jadwal penelitian

**Tabel 4.2** Jadwal penelitian

No	Kegiatan	Waktu (Bulan ke)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Penyusunan proposal									
2	Seminar proposal penelitian									
3	Revisi proposal penelitian									
4	Pelaksanaan penelitian (pemilihan sampel, perlakuan, terminasi)									
5	Pengumpulan dan pengolahan data									
6	Penyusunan laporan hasil									
7	Seminar hasil penelitian									

## **BAB 5**

### **HASIL PENELITIAN**

#### **5.1 Analisis Sampel**

Sampel diperoleh dengan cara *simple random sampling* dari tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu. Jumlah Sampel yang digunakan mengacu pada pedoman WHO yaitu jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tiap kelompok; oleh karena terdapat 4 kelompok: K(kontrol), I(Perlakuan1), II(Perlakuan2), III(perlakuan3); maka dibutuhkan 20 ekor tikus.

Prosedur adaptasi dilakukan sejak tanggal 8 April 2012 hingga tanggal 15 April 2012. Kemudian dilanjutkan dengan perlakuan pada masing-masing kelompok, pengamatan dilakukan selama 12 minggu (84 hari). Tidak ada sampel yang dieksklusi sampai hari terakhir pengamatan. Pada tanggal 10 Juli 2012 semua sampel didekapitasi, diambil organ otaknya untuk dibuat sediaan preparat histopatologis dan dilakukan pengamatan serta penghitungan jumlah sel saraf otak dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x.

#### **5.2 Analisis Deskriptif**

Tabel 5.1 menampilkan perhitungan jumlah sel saraf otak yang teramati pada tiap lapangan pandang.

Tabel 5.1 Jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang pada sediaan histopatologis otak tikus wistar yang diberi formalin peroral bertingkat selama 12 minggu

Kelompok	Jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang ke-					Total
	1	2	3	4	5	
K (tikus 1)	70	110	193	158	143	<b>674</b>
K (tikus 2)	140	130	150	161	139	<b>720</b>
K (tikus 3)	133	149	107	152	140	<b>681</b>
K (tikus 4)	154	177	146	167	132	<b>776</b>
K (tikus 5)	154	184	171	152	125	<b>786</b>
I (tikus 1)	141	149	147	97	143	<b>677</b>
I (tikus 2)	131	151	152	142	107	<b>683</b>
I (tikus 3)	91	104	87	93	130	<b>505</b>
I (tikus 4)	136	118	142	125	111	<b>632</b>
I (tikus 5)	160	126	114	110	81	<b>591</b>
II (tikus 1)	125	111	116	76	77	<b>505</b>
II (tikus 2)	172	114	129	101	73	<b>589</b>
II (tikus 3)	128	111	103	105	96	<b>543</b>
II (tikus 4)	128	106	103	99	94	<b>530</b>
II (tikus 5)	98	144	123	95	88	<b>548</b>
III (tikus 1)	95	107	95	92	112	<b>501</b>
III (tikus 2)	79	112	95	98	127	<b>511</b>
III (tikus 3)	132	115	116	105	84	<b>552</b>
III (tikus 4)	66	123	50	141	97	<b>477</b>
III (tikus 5)	106	126	144	82	45	<b>503</b>

Dari data diatas didapatkan rerata (mean) 599 dan simpang baku (standar deviasi –SD-) 97.19952 jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang.

Tabel 5.2 Ukuran pemusatan data dan ukuran penyebaran data jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang pada sediaan histopatologis otak tikus wistar yang diberi formalin peroral bertingkat selama 12 minggu

Kelompok	Jumlah sel saraf otak yang teramati tiap lapangan pandang Mean $\pm$ SD
Kontrol	727,4 $\pm$ 52,094
Perlakuan I	617,6 $\pm$ 73,142
Perlakuan II	543,0 $\pm$ 30,635
Perlakuan III	508,8 $\pm$ 27,280

Dari data yang didapat, rerata sel saraf otak tiap lapangan pandang tertinggi terdapat pada kelompok Kontrol, dan rerata sel saraf otak tiap lapangan pandang terendah terdapat pada kelompok Perlakuan III. Terdapat penurunan rerata jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang dari kelompok Kontrol hingga kelompok Perlakuan III.

### 5.3 Analisis Analitik

Distribusi data jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang dengan uji normalitas Shapiro-Wilk didapatkan normal ( $p > 0,05$ ). Karena distribusi data yang normal selanjutnya dilakukan analisis dengan uji One Way ANOVA, dan didapatkan bahwa varian data normal ( $p > 0,05$ ) sehingga hasil uji anova akan bernilai valid.

Uji One Way ANOVA pada nilai jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan paling tidak terdapat perbedaan jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang



yang bermakna pada dua kelompok. Tabel5. 3 menampilkan hasil uji post hoc yang menggambarkan terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok K-I, K-II, K-III, I-II, I-III.

Tabel5.3 Hasil uji Post Hoc pada setiap kelompok

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
Perlakuan I	0,003*	-	-
Perlakuan II	0,000*	0,030*	-
Perlakuan III	0,000*	0,003*	0,2900

\*) ada perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Formalin adalah nama dagang formaldehid, yang umumnya digunakan sebagai disinfektan oleh masyarakat dan terkadang sebagai antiseptik.<sup>23,24</sup> Di sisi lain formalin sebagai suatu zat juga berperan sebagai racun yang efeknya bergantung pada dosis.<sup>20-22</sup> Walaupun berperan sebagai racun, formalin sebenarnya merupakan metabolit normal dari mamalia.

Formaldehid endogen akan segera dimetabolisme oleh sistem enzim yaitu enzim *Gluthathione-dependent Formaldehyde Dehydrogenase* (FDH) atau dikenal dengan Alkohol dehidrogenase 5 (ADH 5) bersama dengan *S Formyl Gluthathione Hydrolase*, juga ada bantuan dari enzim *hydrogen peroxide* atau dikenal sistem katalase. Formaldehid dimetabolisme menjadi asam format yang kemudian dioksidasi menjadi format dan ion hidrogen masuk dalam siklus karbon melalui tetrahidrofolat.<sup>42</sup> setelah itu asam format masuk ke jalur asam sitrat dimana format dapat digunakan untuk kebutuhan energi, yang akhirnya melepaskan karbon dioksida dan air. Sedangkan kelebihan asam format dalam tubuh akan diekskresikan melalui urin.<sup>43</sup>

Penelitian mengenai efek formalin menunjukkan bahwa metabolit formalin mampu menghambat enzim heksokinase dan cholinesterase. Juga menghambat proses oksidasi suksinat, dan glikolisis anaerobik. Pada tingkat sel, asam format menghambat enzim sitokrom oksidase sehingga menyebabkan hipoksia histotoksik dan menyebabkan penumpukkan asam.<sup>45-47</sup>

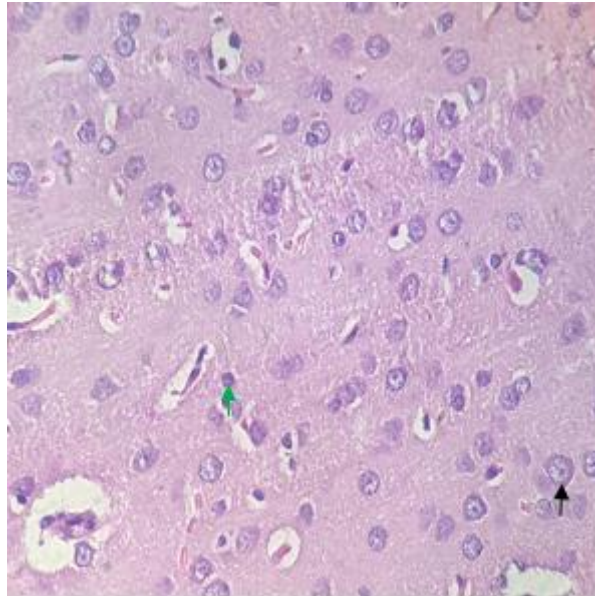
Sedangkan penelitian mengenai perubahan histopatologis pada sel otak akibat paparan formaldehid yang telah dilaporkan adalah pembesaran mitokondria, pembesaran axon, kerusakan myelin, fragmentasi inti pada putamen, globus palidus, dan claustrum.<sup>56</sup> Peneliti lain pernah menyatakan adanya kerusakan hipokampus.<sup>58, 59</sup> kerusakan-kerusakan tersebut diduga karena

penghambatan mekanisme respirasi oksidasi yang menyebabkan penurunan ATP yang berakhir pada kematian sel yang disebut nekrosis.

Pada penelitian ini ditemukan perubahan gambaran histopatologis yaitu penurunan sel saraf otak tiap lapangan pandang. Rerata jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang tersebut semakin menurun dengan bertambahnya dosis formalin yang diberikan. Jumlah kerusakan yang paling besar terdapat pada kelompok III yang diberi formalin  $\frac{1}{4}$  dosis lethal yaitu 200mg/kgBB (0,075-0,100 ml/hari). Hasil pengolahan data perhitungan jumlah sel saraf otak antara kelompok perlakuan II dan perlakuan III menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Hal ini bisa diakibatkan juga oleh faktor-faktor yang mempengaruhi hasil penelitian seperti daya tahan dan kerentanan hewan coba; faktor stress hewan coba yang dapat disebabkan oleh kondisi kandang, pakan, dan minum yang kurang sesuai standar; pengaruh zat atau penyakit lain.

Adapun beberapa keterbatasan dalam penelitian ini adalah sampel dalam penelitian ini menggunakan besar sampel minimal sehingga faktor peluang masih berpengaruh. Keterbatasan dalam pembuatan preparat adalah tidak tersedianya alat untuk melakukan pemotongan organ secara makroskopis dengan tepat dan tidak adanya kriteria untuk menentukan tinggi otak yang dipotong pada tikus. Sedangkan keterbatasan dalam pembacaan preparat adalah kesukaran dalam membedakan glia dengan neuron.

Penelitian selanjutnya untuk mengoptimalkan hasil penelitian ini hendaknya dilakukan dengan skala yang lebih besar, dosis yang lebih bervariasi, dan masa perlakuan yang berjenjang untuk membandingkan efek akut, subakut, dan kronis dari pemberian formalin pada organ otak. Penelitian pengaruh pemberian formalin pada area-area tertentu pada otak perlu dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas formalin pada organ otak secara spesifik.

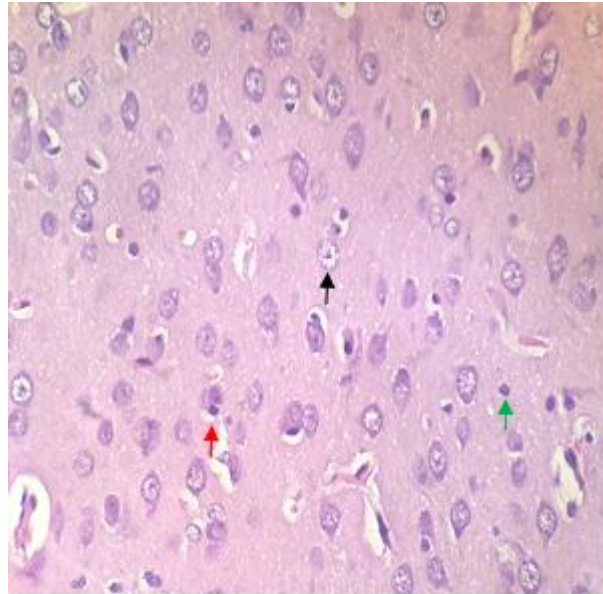


**Gambar 6.1** Sel otak tikus wistar pada kelompok kontrol

Keterangan gambar:

Panah Hitam: Sel saraf normal

Panah Hijau: Sel Glia



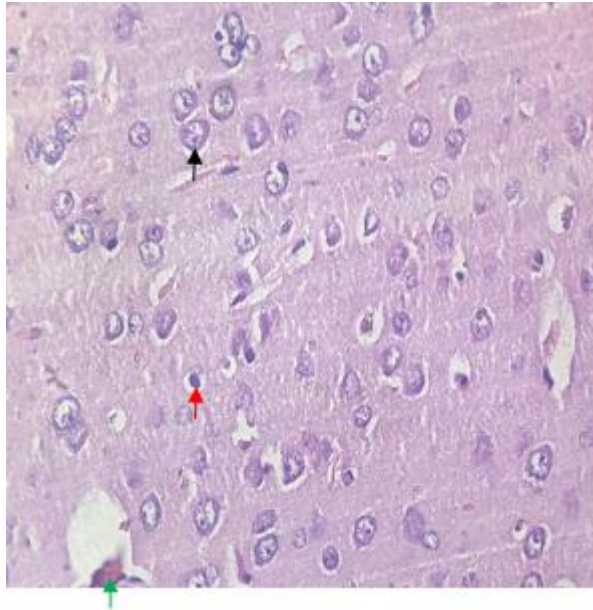
**Gambar 6.2** Sel otak tikus wistar pada kelompok perlakuan I

Keterangan gambar:

Panah Hitam: Sel saraf normal

Panah Merah: Sel Piknotik dengan inti menuju tepi dan terjadi penyusutan sel

Panah Hijau: Sel Glia



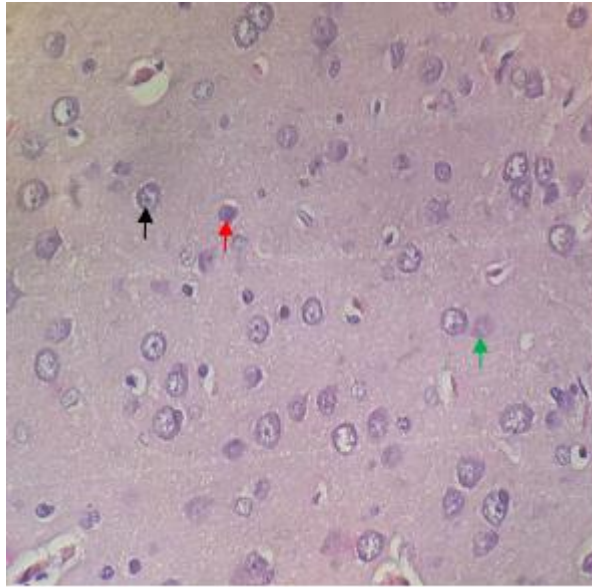
**Gambar 6.3** Sel otak tikus wistar pada kelompok perlakuan II

Keterangan gambar:

Panah Hitam: Sel saraf normal

Panah Merah: Sel piknotik dan terjadi penyusutan sel

Panah Hijau: Pembuluh darah



**Gambar 6.4** Sel otak tikus wistar pada kelompok perlakuan III

Keterangan gambar:

Panah Hitam: Sel saraf normal

Panah Merah: Sel dengan inti piknotik

Panah Hijau: Sel dengan kariolisis

## **BAB 7**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Simpulan**

Terdapat perubahan gambaran histopatologis sel otak tikus wistar setelah diberi formalin peroral dosis bertingkat. Terjadi kerusakan berupa penurunan jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang karena pemberian formalin peroral dosis bertingkat. Penurunan jumlah sel saraf otak tikus wistar sebanding dengan peningkatan dosis formalin yang diberikan. Terdapat perbedaan yang bermakna jumlah sel saraf otak tiap lapangan pandang antar kelompok perlakuan. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Juga terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, kecuali antara kelompok perlakuan II dengan kelompok perlakuan III.

#### **7.2 Saran**

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian formalin peroral pada area-area tertentu di otak
- 2) Perlu dilakukan penelitian pengaruh pemberian formalin pada otak dengan dosis yang lebih bervariasi dan waktu pengamatan yang berjenjang
- 3) Penggunaan formalin harus dibatasi dan diawasi peredarannya karena toksisitasnya, yang salah satunya adalah sebagai neurotoksik



- 4) Perlu adanya penelitian untuk membandingkan neurotoksisitas formalin peroral dengan formalin inhalan

## DAFTAR PUSTAKA

1. Douglas CA, Thomas JM, William MV, Doyle GG. Toxic response of the nervous systems. In: Klaassen, Curtis D. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons Sixth Edition. United States of America: McGraw-Hill; 2001: p.535-63.
2. Environmental Protection Agency. Final report: Principles of neurotoxicity risk assessment; Notice [600Z94001]. C1994. Available from: URL: <http://nepis.epa.gov>
3. Robbins SL , Kumar V, Cotran RS. Robbin's Basic Pathology 7th edition. Philadelphia and London: W.B. Saunders Company ;2004. p.938
4. CP-Bulletin Service No 73 [Homepage on the internet]. C2006. Available from: URL: <http://www.ciptapangan.com>
5. Occupational Safety and Health Division of North Carolina Department of Labor. A guide to formaldehyde [31]. No date [update 2009 May]. Available from: URL: <http://www.nclabor.com>
6. Galli CI, Restani P. Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. Med J Italy [10.3109/10408449109019569]. 1991. Available from: URL: <http://informahealthcare.com>
7. Formaldehyde [Homepage on the internet]. c2008 [reviewed 2008 july 11]. Available from: URL: <http://www.pathology.med.umich.edu>
8. U.S. Department of Labor. OSHA fact sheet [Homepage on the internet]. c2002. Available from: URL: <http://www.nmsu.edu>
9. Formaldehyde [Homepage on the internet]. No date [update 2011 September]. Available from: URL: <http://www.en.wikipedia.org>
10. Idaho Chemical Roundup. Formaldehyde and formalin. No Date. Available from: [www.adm.idaho.gov](http://www.adm.idaho.gov)
11. Penn State Environmental and Health Safety. Alternatives to formalin. c2010. Available from: URL: <http://www.ehs.psu.edu>
12. U.S. Department of Labor. Program highlights fact sheet No. OSHA 92-27. No date. Available from: URL: <http://www.ehs.okstate.edu>



13. Virginia Commonwealth University Office of Environmental Health and Safety Chemical or Biological Safety Section. Formaldehyde policy. No date [update 2009 Oct]. Available from: URL: <http://www.vcu.edu>
14. Lundbeck Institute. Brain atlas. No date. Available from: URL: <http://www.brainexplorer.org>
15. Human anatomy, the brain. No date. Available from: URL: <http://www.enchantedlearning.com>
16. Susunan sistem saraf; fungsi dasar sinaps, substansi transmitter. In: Guyton AC, Hall JE. Fisiologi Kedokteran. Jakarta: EGC Medical Publisher. 2008: p.580-96
17. Til hp, Woutersen RA, Feron VJ, Hollanders VH, Falke HE, Clary JJ. Two year drinking water study of formaldehyde in rats. 1989 Feb; 27(2): 77-87
18. A Khan, HA Bachaya, MZ Khan, F Mahmood. Pathological effect of formalin (37% formadehid) feeding female Japanese Quails. Sage Journal online [internet]. 2005; 24(8): 415-22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16138733>
19. OK Al Omari, W.A. Khamas, Elbeteiha. Effect of oral administration of formalin on Blood Gases Parameter in Rat. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2007; 6(3): 304-09
20. Dorland, Newman WA. In: Hartanto H, Koesoemawati H, Salim I.N, Setiawan L, Valleria, Suparman W, editor. Kamus Kedokteran Dorland. Ed. 29. Jakarta: EGC; 2006
21. Toxin – Definition from Merriam-Webster Online Dictionary. No date. Available from: URL: <http://www.merriam-webster.com/dictionary/toxin>
22. Hodgson, Ernest. Introduction to Toxicology. In: Hodgson, Ernest. A Textbook of Modern Toxicology 3rd edition. United States of America: John Wiley & Sons; 2004: p.3-12
23. Wax, Paul M. Household Toxins. In: Goldfrank, et al. Goldfrank's Toxicologic Emergencies Seventh Edition. United States of America: McGraw-Hill; 2002: p.1281-84.
24. Judarwanto, Widodo. Pengaruh formalin bagi sistem tubuh. Jakarta: Rumah Sakit Bunda

25. Eells JT, Mc Martin KE, Black K, et al. Formaldehyde poisoning: Rapid metabolism to formic acid. *JAMA* 1981; 246: 1237-38
26. Material Safety Data Sheet Formaldehyde 37% solution MSDS [homepage on the internet]. c2005 [updated 2010 Jan 11; cited 2012 Feb 10]. Available from: URL: <http://www.sciencelab.com>
27. Casteel SW, Vernon RJ, Bailey EM. Formaldehyde: Toxicology and hazards. *Vet Hum Toxicol* 1990; 32: 135-37.
28. Fair WR. Formalin in the treatment of massive bladder hemorrhage. Technique, results and complications. *Urology* 1974; 3: 573-76
29. Holness DL, Nethercott JR: Health status of funeral workers exposed to formaldehyde. *Arch Environ Health* 1989; 44: 222-28.
30. Loomis TA: Formaldehyde toxicity. *Arch Pathol Lab Med* 1979; 103: 321-24.
31. Hendrick DJ, Land DJ: Occupational formalin asthma. *Br J Ind Med* 1977; 34: 11-18.
32. Allen RE, ThoshinskyMJ, Stallone RJ, Hunt TK : Corrosive injuries of the stomach. *Arch Surg* 1970; 100 : 409-13.
33. Bartone NF, Grieco V, Herr BS: Corrosive gastritis due to ingestion of formaldehyde. *JAMA* 1968; 203: 50-51.
34. Roy M, Calonje MA, Mouton R: Corrosive gastritis after formaldehyde ingestion. *NEJM* 1962; 266: 1248-50.
35. Kline BS: Formaldehyde poisoning. *Arch Intern Med* 1925; 36: 220-28.
36. HilbertG, Gruson D, Bedry R, Cardinaud JP: Circulatory shock in the course of fatal poisoning by ingestion of formalin. *Intensive Care Med* 1997; 23:708.
37. Strubelt O, Brasch H, Pentz R, Younes M: Experimental studies on the acute cardiovascular toxicity of formalin and its antidotal treatment. *J Toxicol Clin Toxicol* 1990; 28: 221-23.
38. Pandey CK, Agarwal A, Baronia A, Singh N. Toxicity of ingested formalin and its management. c2000. Available from: URL: <http://www.nature.com/het>

39. Koppel C, Baudisch H, Schneider V, Ibe K. Suicidal ingestion of formalin with fatal complications, *Intensive Care Medicine* 1990; 16: 212-14.
40. Boeniger MF. Formate in urine as a biological indicator of formaldehyde exposure, a review. *American Industrial Hygiene Association Journal* 1987; 48(11): 900-08.
41. Krebs HA, Hems R, Tyler B. The regulation of folate and methionine metabolism. *Biochemical Journal* 1976; 158(2): 341-53.
42. McMartin KE, Martin – Amat G, Makar AB, Tephly TR. Methanol poisoning. Role of formate metabolism in the monkey. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1977; 201 (3) : 564 – 72
43. Heck HD, et al. Methanol. *Journal of Applied Toxicology* 1994; 14 (4): 309 – 13.
44. Witek TJ, TosumT. Formaldehyde concentration in the blood of humans and fisher 344 rats exposed to formaldehyde under controlled conditions. *American Industrial Hygiene Association Journal* 1985; 46 (1): 1-3.
45. McMartin KD, Martin – Amat G, Noker PE, Tephly TR. Lack of role of formaldehyde in methanol poisoning in the monkey. *Biochemical Pharmacology* 1979; 28: 645-49.
46. Myers JA, Mall J, Doolas A, Jakate SM, Saclarides TJ. Absorption kinetics of rectal formalin instillation. *World Journal of Surgery* 1997; 21: 886-89
47. Patterson BP, et al. Occupational hazards of hospital personnel. *Annals of Internal Medicine* 1985; 102: 658-80.
48. Toxicology of the nervous system. In: Lu FC, Sam K. *Lu's Basic Toxicology: Fundamental, Target Organs, and Risk Assessment Fifth Edition*. New York: Informa Healthcare USA; 2009: p. 235-51.
49. Anatomi neuron. In: Sukardi , E. *Neuroanatomia Medica*. Jakarta: Universitas Indonesia; 1984: p. 6-14
50. Graaff DV. *Van De Graaff: Human Anatomy 6th edition*. McGraw-Hill Companies; 2001
51. Respon sel terhadap rangsang. In: Sarjadi. *Patologi Umum*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2003: p.6-22

52. Robbins SL , Kumar V, Cotran RS. Robbin's Pathologic Basis of Disease 5th edition. Philadelphia and London: W.B. Saunders Company ;1974. p.4-6
53. Seth Love, et al. Greenfield's Neuropathology Eight Edition London: Hodder Arnold Publishers; 2008: p.701-05.
54. Tohno Y, et al. Gender differences in elements of human brain regions. Proceedings of 6th Asia Pacific International Congress of Anatomy; 2011 July 22-23; Surabaya, Indonesia. Surabaya: Airlangga University; 2011.
55. Sistem saraf pusat dan saraf tepi. In: Sarjadi. Patologi Umum dan Sistematik Underwood, J.C.E. Edisi 2 Volume 2. Jakarta: EGC; 1996: p.855-912.
56. Songur A, et al. The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal period in the hippocampus of rats: a morphological and immunohistochemical study. Neuroscience Research Communications [10.1002/nrc.10093]. 2003[cited 2004 Jan 6]; 33(3): 168-78. Available from: URL: <http://onlinelibrary.wiley.com>
57. Sudigdo S, Sofyan I. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. edisi 2. Jakarta: Sagung Seto; 2002.

## Lampiran 1. *Ethical clearance*

	<b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG</b> Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905	
<b>ETHICAL CLEARANCE</b> <b>No. 221/EC/FK/RSDK/2012</b>		
Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian :		
Peneliti I	:	Ericko H. Iaymena
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Otak Tikus Wistar</b>
Peneliti II	:	Martina Wibowo
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar</b>
Peneliti III	:	Naomi Ditya Sari
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus Tikus Wistar</b>
Peneliti IV	:	Ridha Abdi Wahab
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus Wistar</b>
Peneliti V	:	Sherly Katerina
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Tikus Wistar</b>
Peneliti VI	:	Sugeng Pramono
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar</b>



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO  
DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG**  
Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3  
Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang  
Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905



Pembimbing : dr. Gatot Suharto, Sp.F, M.Kes, S.H  
Dra. Ani Margawati, M.Kes, Ph.D

Penelitian : Dilaksanakan di  
- Laboratorium Biologi F-MIPA  
Unnes  
- Laboratorium Patologi Anatomi  
FK Undip

Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.

Pada laporan akhir peneliti harus melampirkan cara pemeliharaan & dekapitasi hewan coba.

Semarang, 18 Juni 2012  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan  
Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi  
Sekretariat

Fakultas Kedokteran Undip  
Dekan  
  
**dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K)**  
NIP. 19560806 198503 2 001

  
  
**Prof. dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GK**  
NIP. 13036806700



## Lampiran 2. Surat keterangan melakukan penelitian

 **KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN**  
**UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI**  
Alamat : Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 502

### SURAT KETERANGAN

No. /UN. 37.1.4.5./PP/2012

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Ericko H. Laymena  
NIM : G2A008070  
Fakultas/ Universitas : Kedokteran / UNDIP Semarang  
Judul : Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologi Otak Tikus Wistar

telah melakukan penelitian di Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada bulan Mei - Juli 2012

Demikian Surat Keterangan ini kami buat untuk dapat digunakan sebagaimana perlunya.

Semarang, 10 Juli 2012

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES

Kepala Laboratorium



Andin Irsadi, S.Pd, M.Si  
NIP. 1974.03.1020.0003.1001



Dra. Lina Herlina, M.Si  
NIP. 19670207.199203.2001

### Lampiran 3. Cara perhitungan dosis

- 1) Massa jenis ( $\rho$ ) formalin =  $1,08 \text{ g/cm}^3$
- 2) Kandungan formaldehid dalam formalin 37% =  $37\% \times 1,08 \text{ gram/cm}^3 = 399,6 \text{ mg/ml} \rightarrow 1 \text{ ml formalin mengandung } 399,6 \text{ mg formaldehid} \rightarrow 3,996 \text{ mg/ } 0,01 \text{ ml.}$
- 3) Dosis letal formaldehid tikus wistar =  $800 \text{ mg/kgBB/hari}$

a) Perlakuan pertama =  $1/16$  dosis letal =  $1/16 \times 800 = \mathbf{50 \text{ mg/kgBB/hari}}$

Berat badan tikus =  $150 - 200 \text{ gram}$ , maka dosis pada tikus (dalam mg) adalah  $\mathbf{7,5 - 10 \text{ mg/hari}}$

Bila  $1 \text{ ml formalin}$  mengandung  $399,6 \text{ mg formaldehid}$ , maka dosis pada tikus (dalam ml) adalah  $7,5/399,6 \times 1 \text{ ml} - 10/399,6 \times 1 \text{ ml} = \mathbf{0,019 - 0,025 \text{ ml/hari}}$

b) Perlakuan kedua =  $1/8$  dosis letal =  $1/8 \times 800 = \mathbf{100 \text{ mg/kgBB/hari}}$

Berat badan tikus =  $150 - 200 \text{ gram}$ , maka dosis pada tikus (dalam mg) adalah  $\mathbf{15 - 20 \text{ mg/hari}}$

Bila  $1 \text{ ml formalin}$  mengandung  $399,6 \text{ mg formaldehid}$ , maka dosis pada tikus (dalam ml) adalah  $15/399,6 \times 1 \text{ ml} - 20/399,6 \times 1 \text{ ml} = \mathbf{0,038 - 0,050 \text{ ml/hari}}$

c) Perlakuan ketiga =  $1/4$  dosis letal =  $1/4 \times 800 = \mathbf{200 \text{ mg/kgBB/hari}}$

Berat badan tikus =  $150 - 200 \text{ gram}$ , maka dosis pada tikus (dalam mg) adalah  $\mathbf{30 - 40 \text{ mg/hari}}$

Bila 1 ml formalin mengandung 399,6 mg formaldehid, maka dosis pada tikus (dalam ml) adalah  $30/399,6 \times 1\text{ml} - 40/399,6 \times 1\text{ml} = \mathbf{0,075 - 0,100 \text{ ml/hari}}$

#### Lampiran 4. Metode baku histologis pemeriksaan jaringan

##### A) Cara pengambilan jaringan dan fiksasi

- 1) Mengambil jaringan sesegera mungkin setelah mencit didekapitasi (maksimal 2 jam) dengan ukuran  $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$
- 2) Kemudian memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebagai berikut:

- a) Fiksasi dalam larutan formalin 10%
- b) Dehidrasi dengan alkohol 30% selama 20 menit I, 20 menit II, dan 20 menit III

Lalu dilanjutkan dengan Alkohol 40% 1 jam

Alkohol 50% 1 jam

Alkohol 70% 1 jam

Alkohol 80% 1 jam

Alkohol 90% 1 jam

Alkohol 96% 1 jam

(alkohol 70-80% dapat ditunda sampai keesokan harinya)

- c) Larutan xylol alkohol 1:1 dengan waktu kurang lebih 24 jam
- d) *Clearing* dengan larutan xylol 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang
- e) Xylol parafin 1:1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven  $60^{\circ}$  celcius

- f) *Embeding* dan *bloking*: paraffin 1,2,3 selama 20 menit, lalu jaringan dicetak blok paraffin, kemudian didinginkan, sehingga cetakan dapat dibuka
- g) *Trimming*: memotong balok-balok paraffin sehingga jaringan mudah dipotong

### **B) Cara pemotongan blok (sectioning)**

- 1) Menyiapkan kaca objek bersih
- 2) Kaca objek diberi albumin ditengahnya
- 3) Blok yang sudah disiapkan dipotong dengan ketebalan 5 mikron, lalu dimasukkan dalam air panas kurang lebih 60<sup>0</sup> celcius. Setelah jaringan mengembang, jaringan diambil dengan kaca objek yang sudah diberi albumin
- 4) Keringkan
- 5) Parafin yang ada pada kaca objek atau jaringan dihilangkan dengan dipanaskan dalam oven 60<sup>0</sup> celcius atau dengan tungku

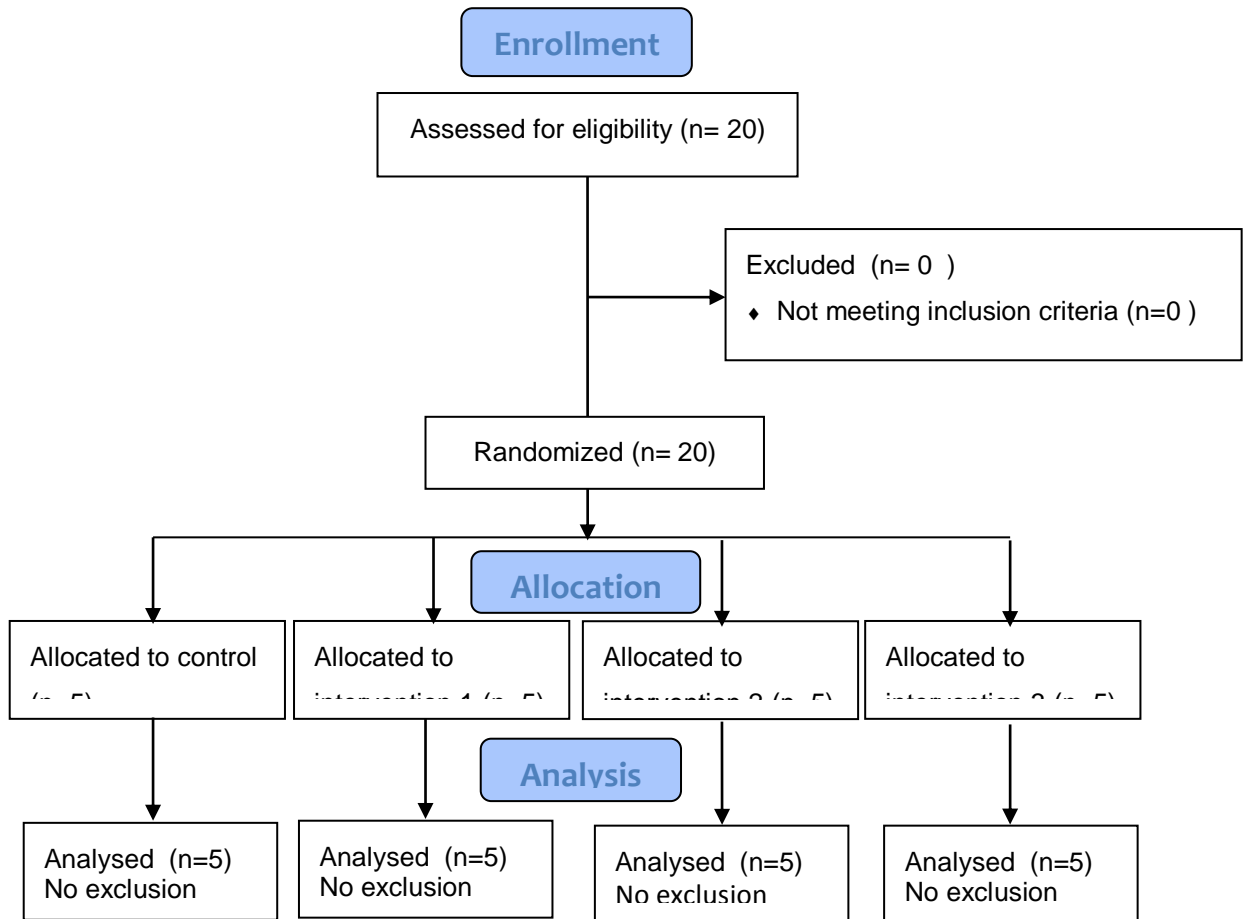
### **C) Pewarnaan**

Slide jaringan dimasukkan dalam:

- 1) Xylol 1, xylol 2, xylol 3 masing-masing 10 menit
- 2) Rehidrasi dengan alkohol xylol selama 5 menit
- 3) Bilas alkohol 30-96% masing-masing kurang lebih 30 menit
- 4) Bilas aquades 1x kurang lebih 10 menit
- 5) Rendam dalam hematoksin kurang lebih 10 menit
- 6) Bilas dengan air mengalir sampai bersih

- 7) Bilas aquades, lalu acid alkohol (alkohol+NaCl 0.9%)
- 8) Bilas alkohol 50-96%
- 9) Eosin kurang lebih 2-58 mencit
- 10) Bilas alkohol 96% 2x
- 11) Bilas alkohol xylol
- 12) Keringkan dengan kertas saring, langsung dibersihkan kotoran-kotoran yang ada disekitar jaringan
- 13) Xylol 1(5 menit), xylol 2(5 menit), tetesi asam Canada, langsung ditutup kaca penutup
- 14) Maka jadilah preparat

**Lampiran 5.** Diagram Consort 2010



**Lampiran 6.** Hasil Analisis Pengamatan Histopatologis Sel Otak Tikus Wistar

**Explore**

**Case Processing Summary**

kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
normal_total	kelompok kontrol	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	kelompok perlakuan 1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	kelompok perlakuan 2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	kelompok perlakuan 3	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

**Descriptives**

kelompok			Statistic	Std. Error
normal_total	kelompok kontrol	Mean	727.4000	23.29721
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 662.7166	
			Upper Bound 792.0834	
		5% Trimmed Mean	727.1111	
		Median	720.0000	
		Variance	2713.800	
		Std. Deviation	52.09415	
		Minimum	674.00	
		Maximum	786.00	
		Range	112.00	
		Interquartile Range	103.50	
		Skewness	.187	.913
		Kurtosis	-2.884	2.000



kelompok perlakuan 1	Mean		617.6000	32.71024
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	526.7818	
		Upper Bound	708.4182	
	5% Trimmed Mean		620.2222	
	Median		632.0000	
	Variance		5349.800	
	Std. Deviation		73.14233	
	Minimum		505.00	
	Maximum		683.00	
	Range		178.00	
	Interquartile Range		132.00	
	Skewness		-1.016	.913
	Kurtosis		.387	2.000
	kelompok perlakuan 2	Mean		543.0000
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	504.9617	
		Upper Bound	581.0383	
5% Trimmed Mean			542.5556	
Median			543.0000	
Variance			938.500	
Std. Deviation			30.63495	
Minimum			505.00	
Maximum			589.00	
Range			84.00	
Interquartile Range			51.00	
Skewness			.585	.913
Kurtosis			1.355	2.000

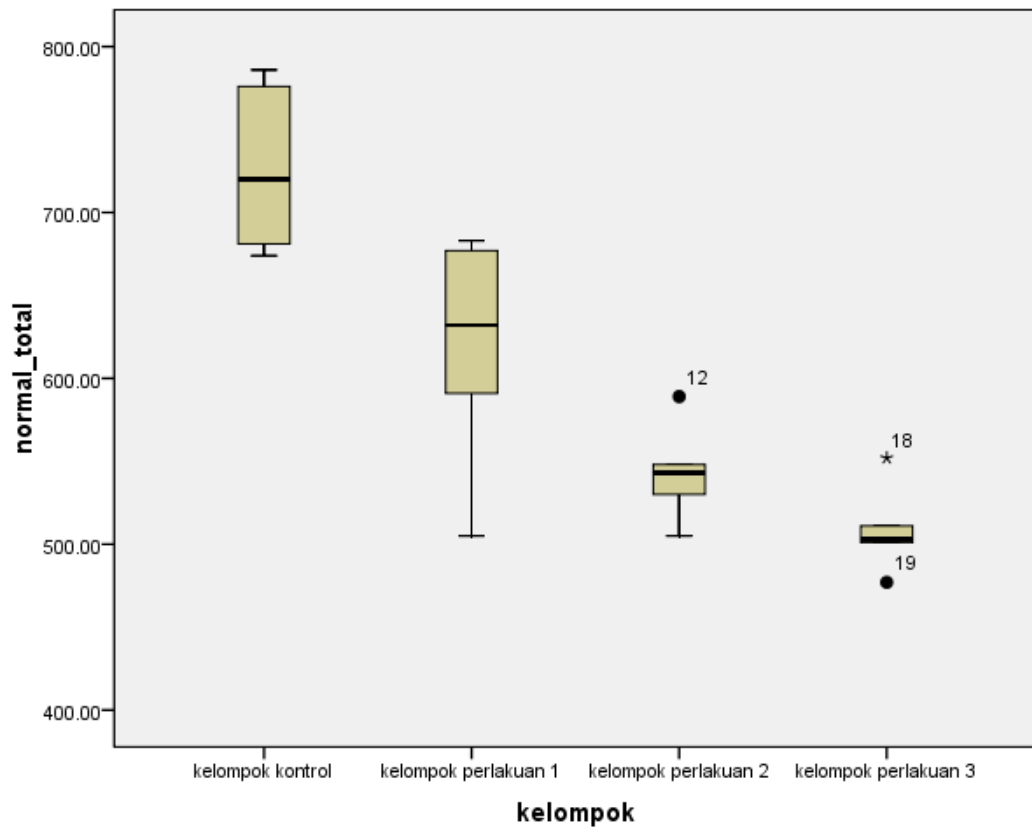
kelompok	Mean		508.8000	12.20000
perlakuan 3	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	474.9274	
		Upper Bound	542.6726	
	5% Trimmed Mean		508.1667	
	Median		503.0000	
	Variance		744.200	
	Std. Deviation		27.28003	
	Minimum		477.00	
	Maximum		552.00	
	Range		75.00	
	Interquartile Range		42.50	
	Skewness		.981	.913
	Kurtosis		2.180	2.000

#### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
normal_total kelompok kontrol	.225	5	.200*	.873	5	.280
kelompok perlakuan 1	.192	5	.200*	.904	5	.431
kelompok perlakuan 2	.235	5	.200*	.965	5	.839
kelompok perlakuan 3	.268	5	.200*	.918	5	.514

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**normal\_total**

## Oneway

### Descriptives

normal\_total

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					kelompok kontrol	5		
kelompok perlakuan 1	5	617.6000	73.14233	32.71024	526.7818	708.4182	505.00	683.00
kelompok perlakuan 2	5	543.0000	30.63495	13.70036	504.9617	581.0383	505.00	589.00
kelompok perlakuan 3	5	508.8000	27.28003	12.20000	474.9274	542.6726	477.00	552.00
Total	20	599.2000	97.19952	21.73447	553.7092	644.6908	477.00	786.00

### Test of Homogeneity of Variances

normal\_total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.486	3	16	.098

### ANOVA

normal\_total

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	140522.000	3	46840.667	19.224	.000
Within Groups	38985.200	16	2436.575		
Total	179507.200	19			

### Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

normal\_total

LSD

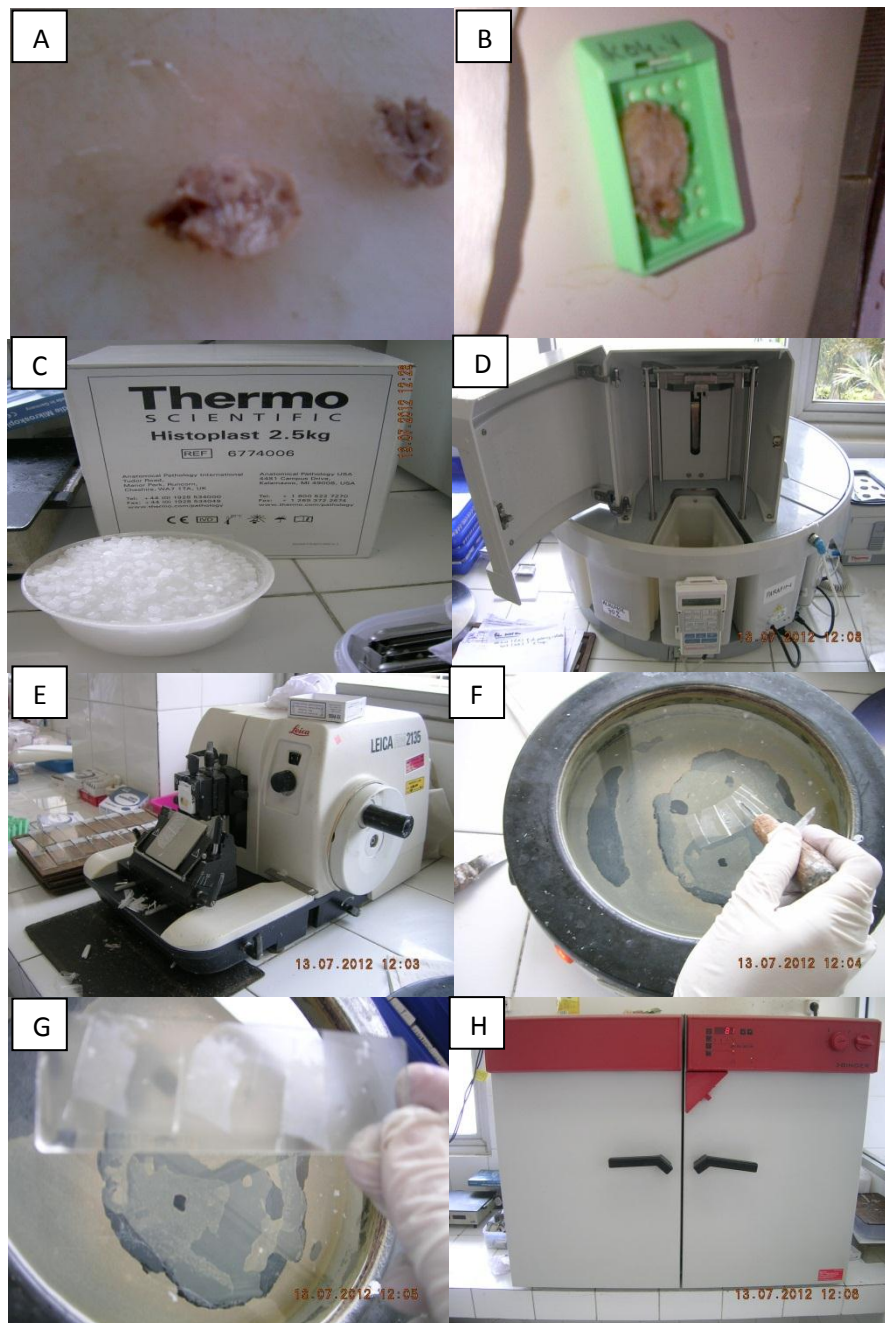
(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok kontrol	kelompok perlakuan 1	109.80000*	31.21906	.003	43.6185	175.9815
	kelompok perlakuan 2	184.40000*	31.21906	.000	118.2185	250.5815
	kelompok perlakuan 3	218.60000*	31.21906	.000	152.4185	284.7815
kelompok perlakuan 1	kelompok kontrol	-109.80000*	31.21906	.003	-175.9815	-43.6185
	kelompok perlakuan 2	74.60000*	31.21906	.030	8.4185	140.7815
	kelompok perlakuan 3	108.80000*	31.21906	.003	42.6185	174.9815
kelompok perlakuan 2	kelompok kontrol	-184.40000*	31.21906	.000	-250.5815	-118.2185
	kelompok perlakuan 1	-74.60000*	31.21906	.030	-140.7815	-8.4185
	kelompok perlakuan 3	34.20000	31.21906	.290	-31.9815	100.3815
kelompok perlakuan 3	kelompok kontrol	-218.60000*	31.21906	.000	-284.7815	-152.4185
	kelompok perlakuan 1	-108.80000*	31.21906	.003	-174.9815	-42.6185
	kelompok perlakuan 2	-34.20000	31.21906	.290	-100.3815	31.9815

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

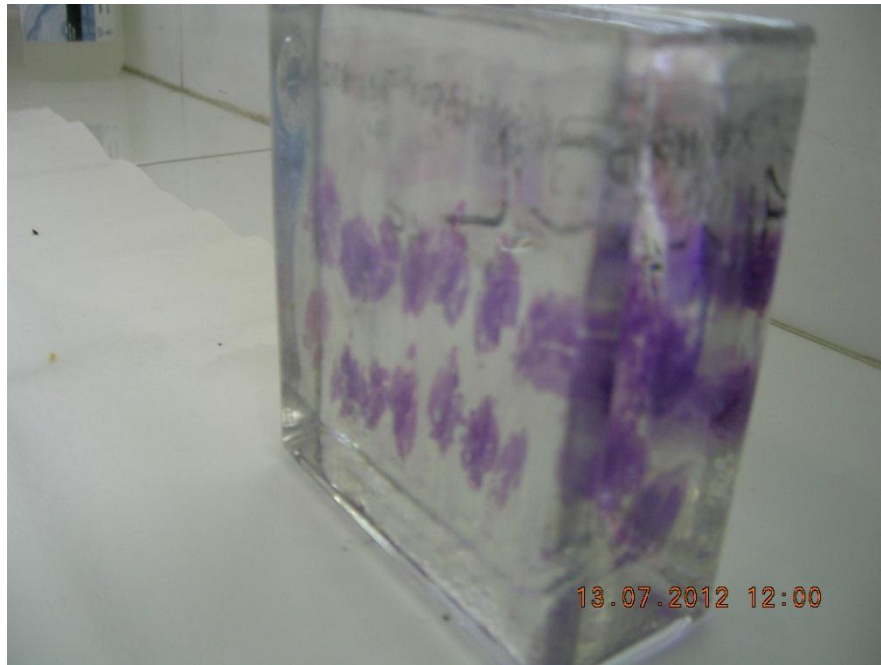
## Lampiran 7. Dokumentasi penelitian



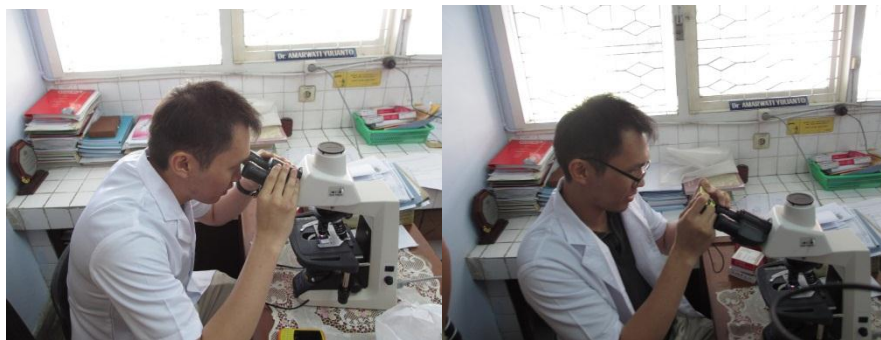
Gambar 9.1 Proses penelitian di laboratorim F-MIPA UNNES.  
a.pemilihan hewan sesuai kriteria inklusi dan eksklusi; b.penimbangan berat badan; c.tikus diberi kandang secara terpisah; d.tikus ditempatkan di satu ruangan; e.pembedahan tikus setelah dekapitasi; f.pengambilan organ otak; g.organ otak; h.organ otak diletakkan pada tabung berisi formalin



Gambar 9.2 Urutan proses pembuatan preparat jaringan histologi.  
 a.pemotongan organ secara makroskopis; b.organ diletakkan pada kaset;  
 c.histoplast parafin; d.fixator jaringan *carousel-type tissue processor with touch key operation*; e.mikrotom; f.penangas air; g.pengambilan jaringan dengan kaca objek; h.deparafinisasi dengan oven



Gambar 9.3 Preparat jaringan histologi setelah dilakukan pengecatan



Gambar 9.4 Pengamatan Jaringan dengan mikroskop secara langsung (kiri), pendokumentasian gambar mikroskopis (kanan)



## Lampiran 6. Biodata mahasiswa

### Identitas

Nama : Ericko Hartanto Laymena  
NIM : G2A008070  
Tempat/tanggal lahir : 31 Agustus 1990  
Jenis kelamin : Laki-laki  
Alamat : jl. Ciliwung Raya No 11A, Semarang  
Nomor Telepon : 024-3567626  
Nomor HP : 081931921236  
e-mail : laymena.erickohartanto@gmail.com

### Riwayat Pendidikan Formal

1. SD : SD Kristen 2 YSKI Lulus tahun : 2002
2. SMP : SMP PL Domenico Savio Lulus tahun : 2005
3. SMA : SMA Karangturi Lulus tahun : 2008
4. S1 : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Masuk tahun: 2008

### Pengalaman penelitian

1. JUDUL : Pengaruh pemberian bubuk kokoa terhadap perubahan histopatologis epitel mukosa kolon pada tikus wistar yang diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride TAHUN 2010

### Pengalaman presentasi karya ilmiah

1. NAMA Ericko Hartanto Laymena JUDUL Pengaruh pemberian bubuk kokoa terhadap perubahan histopatologis epitel mukosa kolon pada tikus wistar yang diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride Forum presentasi proposal PKM-P TAHUN 2010  
Cara presentasi oral

### Pengalaman mengikuti lomba karya ilmiah

1. Pengaruh pemberian bubuk kokoa terhadap perubahan histopatologis epitel mukosa kolon pada tikus wistar yang diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride, DP2M DIKTI, didanai DP2M DIKTI