



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

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
KARYA TULIS ILMIAH**

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

**Martina Wibowo
G2A 008 111**

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

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN KTI

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

Disusun oleh:

**Martina Wibowo
G2A 008 111**

Semarang, 4 Agustus 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 bertandatangan di bawah ini,

Nama : Martina Wibowo
NIM : G2A 008 111
Program Studi : Program Pendidikan Sarjana Program Studi Pendidikan
Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Judul KTI : PENGARUH FORMALIN PERORAL DOSIS
BERTINGKAT SELAMA 12 MINGGU TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGIS GINJAL 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 dari pembimbing.
- 2) KTI ini sebagian atau seluruhnya belum pernah dipublikasikan 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 rujuka dalam naskah dan tercantum dalam daftar kepustakaan

Semarang, 23 Juli 2012

Yang membuat pernyataan,

Martina Wibowo

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME karena atas kasih dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah ini untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai derajat sarjana strata-1 Kedokteran Umum di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam pembuatan karya tulis ilmiah ini yaitu :

- 1) Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar dan meningkatkan ilmu pengetahuan penulis.
- 2) Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada penulis sehingga karya tulis ini dapat diselesaikan dengan baik dan lancar
- 3) dr. Gatot Suharto, Sp.F., M.Kes, S.H. dan Dra. Ani Margawati, M.Kes, PhD selaku dosen pembimbing karya tulis ilmiah yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing penulis selama pelaksanaan karya tulis ilmiah
- 4) dr. Erie B.P.S. Andar, Sp. BS, PAK (K) selaku ketua penguji seminar hasil karya tulis ilmiah
- 5) dr. Sigid Kirana Lintang Bhima, Sp. KF selaku dosen penguji seminar hasil karya tulis ilmiah
- 6) dr. Ika Pawitra Miranti, M. Kes, Sp. PA.; dr, Arista Hardinisa, Sp.KF.; dan dr. Intarniati Nur Rohmah, Sp.KF yang telah membantu penulis dalam proses pembuatan karya tulis ilmiah
- 7) Staf Bagian Biologi F-MIPA Universitas Negri Semarang yang telah membimbing dan membantu penulis dalam melaksanakan penelitian

- 8) Orang tua beserta keluarga penulis yang senantiasa memberikan dukungan baik moral maupun material
- 9) Para sahabat dan teman yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini

Serta berbagai pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.

Skhir kata, penulis berharap Tuhan YME berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, 20 Juli 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Formalin.....	7
2.1.1 Pengertian Formalin.....	7
2.1.2 Metabolisme Formalin.....	8
2.2 Ginjal	9
2.2.1 Anatomi Ginjal	9
2.2.2 Fisiologi Ginjal	10
2.2.3 Histologi Ginjal	11
2.2.4 Cedera Tubulus Proximal	13

2.3 Faktor yang Berpengaruh pada Kerusakan Ginjal	13
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	16
3.1 Kerangka Teori	16
3.2 Kerangka Konsep	17
3.3 Hipotesis	18
3.3.1 Hipotesis Mayor	18
3.3.2 Hipotesis Minor	18
BAB 4 METODE PENELITIAN	20
4.1 Ruang Lingkup Penelitian	20
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	20
4.4 Populasi dan Sampel.....	22
4.4.1 Populasi Target	22
4.4.2 Populasi Terjangkau	22
4.4.3 Sampel	22
4.4.3.1 Kriteria Inklusi.....	22
4.4.3.2 Kriteria Eksklusi	22
4.4.4 Cara Pengambilan Sampel.....	22
4.4.5 Besar Sampel	23
4.5 Variabel Penelitian	23
4.5.1 Variabel Bebas.....	23
4.5.2 Variabel Tergantung	23
4.6 Definisi Operasional Variabel	24
4.7 Cara Pengumpulan Data	26
4.7.1 Bahan	26
4.7.2 Alat	26
4.7.2.1 Alat Pemberi Perlakuan	26
4.7.2.2 Alat Autopsi	27
4.7.2.3 Alat Pemeriksaan Histopatologis	27

4.7.3 Jenis Data	27
4.7.4 Cara Kerja	27
4.8 Alur Penelitian	30
4.9 Analisis Data	31
4.10 Etika Penelitian	32
4.11 Jadwal Penelitian	33
BAB 5 HASIL PENELITIAN	34
5.1 Analisis Sampel.....	34
5.2 Analisis Deskriptif	34
5.3 Analisis Analitik.....	36
BAB 6 PEMBAHASAN	39
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	45
7.1 Simpulan	45
7.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian	4
Tabel 2. Definisi Operasional Variabel	24
Tabel 3. Jadwal Penelitian	33
Tabel 4. Hasil skoring pengamatan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar	35
Tabel 5. Analisis deskriptif sel ginjal tikus wistar	36
Tabel 6. Hasil uji normalitas <i>Saphiro-Wilk</i>	36
Tabel 7. Nilai <i>p</i> pada uji <i>Kruskal-Wallis</i> tiap kelompok.....	37
Tabel 8. Nilai <i>p</i> pada uji <i>Mann Whiteny</i> tiap kelompok	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Metabolisme Formalin	9
Gambar 2. Struktur Anatomis Ginjal.....	9
Gambar 3. Struktur Histologis Ginjal.....	12
Gambar 4. Kerangka Teori	16
Gambar 5. Kerangka Konsep	17
Gambar 6. Rancangan Penelitian.....	21
Gambar 7. Alur Penelitian	30
Gambar 8. Skema Rancangan Penelitian	30
Gambar 9. Alur Penelitian	37
Gambar 10. Sel Tubulus Ginjal Tikus Wistar pada kelompok kontrol	41
Gambar 11. Sel Tubulus Ginjal Tikus Wistar pada kelompok perlakuan 1	42
Gambar 12. Sel Tubulus Ginjal Tikus Wistar pada kelompok perlakuan 2	43
Gambar 13. Sel Tubulus Ginjal Tikus Wistar pada kelompok perlakuan 3	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Cara Perhitungan Dosis	49
Lampiran 2. Metode Baku Histologis Pemeriksaan Jaringan	51
Lampiran 3. <i>Ethical Clearance</i>	54
Lampiran 4. Surat Ijin Penelitian	56
Lampiran 5. Tabel Analisa Statistik.....	57
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	64
Lampiran 7. Biodata Penulis.....	67

ABSTRAK

Latar Belakang: Formalin atau metanal adalah suatu senyawa kimia yang biasa digunakan dalam bidang pendidikan dan penelitian sebagai bahan pengawet dan desinfektan. Namun sekarang banyak yang menggunakan formalin sebagai bahan pengawet makanan, hal ini bertentangan dengan peraturan menteri kesehatan. Beberapa penelitian telah meneliti efek formalin secara inhalan terhadap ginjal, namun penelitian pengaruh formalin secara peroral terhadap histopatologis ginjal masih belum jelas.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar.

Metode: Penelitian ekperimental laboratorik dengan *post test only control group design*. Sampel sebanyak 20 tikus wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, diadaptasi selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, tikus wistar dibagi secara *simple random sampling* menjadi 4 kelompok. K merupakan kelompok kontrol tanpa diberi formalin peroral. P1 diberi formalin peroral 50 mg/kgBB/hari (0.019-0.025 ml/hari); P2 diberi formalin peroral 100 mg/kgBB/hari (0.038-0.050 ml/hari); dan P3 diberi formalin peroral 200 mg/kgBB/hari (0.075-0.100 ml/hari). Setelah 12 minggu semua sampel diambil organ ginjal untuk dilakukan pemeriksaan histopatologis. Data dideskripsikan dalam bentuk tabel, gambar, dan analisa statistik dengan SPSS *for Windows* 15.0.

Hasil: Nilai rerata jumlah kerusakan sel ginjal tertinggi pada kelompok P3. Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0.002$). Uji *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan perbedaan yang bermakna pada K-P1 ($p=0.050$), K-P2 ($p=0.005$), K-P3 ($p=0.004$), dan P1-P3 ($p=0.014$).

Kesimpulan: Pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis ginjal tikus wistar. Perubahan yang terlihat berupa atrofi dan dilatasi tubulus, dan proses degenerasi sel.

Kata kunci: Formalin, formaldehida, dosis bertingkat, gambaran histopatologis ginjal

ABSTRACT

Background: Formalin is a chemical compound which widely used in educational and research field mainly for preservative and disinfectant. However nowadays many used formalin as preservative for foods, this issue is a violation against the minister of health regulation. Many researchs have counducted experiment on the effect of inhalance formalin towards kidney, but they are slightly any researchs about the effect of oral formalin towards histopathological image of kidney.

Aim: This research aimed to proof the effect of 12-weeks administered gradual dose of oral formalin to the histopathological image of wistar rat's kidney.

Method: Experimental study with post test only control group design. The samples were 20 wistar rats which have already met and fulfilled inclusion and exclusion criteria were adpated for 7 days. After adaptation wistar rat divided using simple random sampling into 4 groups. K (control group) was not given formalin, P1 was given 50 mg/kgBW/day (0.019-0.025 ml/day) oral formalin; P2 was given 100 mg/kgBW/day (0.038-0.050 ml/day) oral formalin; and P3 was given 200 mg/kgBW/day (0.075-0.100 ml/day) oral formalin. After 12-weeks, all kidney samples were taken to indentified any changes in histopatological image of wistar rat's kidney. Data was described in table, picture, and statiscal analysis using SPSS for Windows 15.0.

Result: P3 showed the highest median of total kidney cells damage. From Kruskal-Wallis test showed a significant difference ($p=0.002$). Mann Whitney test showed significant differences between K-P1 ($p=0.050$), K-P2 ($p=0.005$), K-P3 ($p=0.004$), and P1-P3 ($p=0.014$).

Conclusion: The 12-weeks administered gradual dose of oral formalin gave change in histopatological image of wistar rat's kidney. Changed cells include atrophy and/or dilatation of tubule cells, and degenerated cells.

Keywords: Formalin, formaldehyde, gradual dose, histopathological image of kidney

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Formalin adalah nama dagang umum untuk formaldehida yang secara umum diketahui oleh awam sebagai pengawet mayat. Namun akhir-akhir ini dapat dilihat baik pada media cetak maupun elektronik bahwa formalin banyak digunakan sebagai pengawet makanan. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) mengemukakan hasil penelitian pada tahun 2006 bahwa 56% dari 700 sampel makanan yang diambil dari berbagai propinsi di Indonesia mengandung formalin, dan pada tahun 2009 dilakukan penelitian pada jajanan di kantin sekeolah se-Indonesia dikemukakan sebanyak 40% jajanan tersebut mengandung bahan berbahaya dimana salah satu kandungannya adalah formalin.¹ Hal ini bertentangan dengan PERMENKES RI No 1168/MENKES/PER/X/1999 yang melarang penggunaan formalin sebagai bahan tambahan pada makanan², PP No. 28 tahun 2004 tentang keamanan, mutu dan gizi pangan, UU No. 7 tahun 1996 tentang pangan dan UU No. 8 tahun 1999 tentang perlindungan konsumen.^{3,4}

Sedangkan pada penelitian tikus wistar dengan pemberian formalin secara peroral sehari-hari melewati air minum dengan dosis diatas 80mg/kgBB perhari selama 2 tahun didapatkan hasil berupa hiperlasia epitel mukosa lambung tanpa menghasilkan tumor.⁵ Pada penelitian lain juga didapatkan efek toksik yang bersifat akut pada berbagai macam sistem organ termasuk sistem pencernaan (gastro-intertinal), sistem

nervus sentral, kardiovaskular, maupun sistem hepato-renal yang dapat menyebabkan pendarahan gastrointestinal (gastrointestinal hemorragik), kolaps dari pembuluh darah, tidak sadar atau konvulsi, asidosis metabolik berat, dan kesulitan bernapas akur.^{6,7}

Ginjal atau ren, adalah sepasang organ di regio lumbalis yang memiliki berbagai fungsi, salah satunya adalah berupa fungsi ekskresi produk sisa metabolisme dalam bentuk urin. Salah satu kerusakan dari ginjal dapat dilihat dengan mengamati perubahan struktur histologipatologis dari ginjal yang antara lain adalah kerusakan tubulointerstitial berupa dilatasi, *casts*, inflamasi interstitial, fibrosis, dan nekrosis.⁸⁻¹⁴

Berdasarkan uraian diatas, penulis ingin melakukan penelitian mengenai efek pemberian formalin dosis bertingkat dengan gambaran histopatologis ginjal pada tikus wistar. Penulis memilih ginjal sebagai organ yang diteliti dengan pertimbangan bahwa ekskresi formalin salah satunya melalui ginjal.

Waktu pemaparan penelitian selama 12 minggu dengan diharapkan efek subakut sudah dapat dilihat pada ginjal. Pemilihan tikus wistar sebagai hewan percobaan penelitian ini dilandaskan pada tidak etisnya dilakukan penelitian sejenis pada manusia, dan struktur histologi organ tikus wistar tidak jauh berbeda dengan histologi ginjal pada manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar terhadap pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat perbedaan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar terhadap pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis gambaran histopatologi ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 0 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
2. Menganalisis gambaran histopatologi ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 50 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
3. Menganalisis gambaran histopatologi ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 100 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
4. Menganalisis gambaran histopatologi ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
5. Membandingkan gambaran histopatologi ginjal tikus wistar antar kelompok perlakuan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mendokumentasikan efek paparan formalin peroral terhadap ginjal sehingga dapat menambah referensi bila ditemukan kasus keracunan formalin subakut.
2. Hasil penelitian dapat memberikan tambahan informasi akan bahaya formalin sebagai zat tambahan dalam makanan dan minuman.

3. Penelitian ini dapat digunakan sebagai salah satu sumber informasi penelitian-penelitian selanjutnya

1.5 Orisinalitas

Penelitian mengenai efek formalin pada hewan coba yang telah dilakukan oleh peneliti lain sebelumnya seperti yang tertera pada tabel berikut.

Tabel 1. Tabel Orisinalitas Penelitian

No.	Judul Penelitian	Peneliti	Metodologi	Hasil	Orisinalitas
1.	Two year drinking water study of formaldehyde in rats	Til hp, dkk. Tahun 1989.	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 dosis 0, 1.2, 15, 82 mg/kgBB/hari untuk tikus jantan dan 0, 1.8, 21, 109 mg/kgBB/hari untuk tikus betina kemudian didekapitasi setelah 12 atau 18 bulan.	Pemberian formalin dengan dosis 82 dan 109 mg/kgBB/hari berturut-turut dihubungkan dengan kerusakan mukosa lambung berupa hiperplasia epitelial tapi tidak menghasilkan tumor lambung ataupun tumor di tempat lain.	Pada penelitian ini digunakan tikus wistar jantan karena gambaran histopatologis ginjal tikus wistar menyerupai manusia. Dosis yang dipilih adalah 50, 100, 150 mg/kgBB/hari.
2.	Pathological effect of	A Khan dkk.	75 ekor burung puyuh (Japanes	Membuktikan pada dosis 2.5	Parameter yang diukur

formalin (37% Formaldehid) feeding female Japanes Quails, Sage journal online	Tahun 2005	Quails) dibagi dalam 5 kelompok secara acak masing-masing diberikan formalin yang dicampurkan dalam pakan dengan dosis 2.5, 5, 10, 20 ml/kg dan kontrol selama 8 minggu. Dinilai keadaan klinik, parameter hematologi dan biokimia serta histopatologi organ.	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 berat organ. Pada pemeriksaan histopatologi dosis 2.5 ml/kg tidak menunjukkan perubahan secara umum. Pada dosis 10 dan 20 ml/kg adanya penurunan berat organ, pendarahan otot paha. Perubahan histologi oviduct berupa	khusus pada organ ginjal berupa gambaran histopatologis ginjal.
---	---------------	---	---	--

vakuolisasi
pada nucleus.

Pada penelitian ini, paparan formalin akan diberikan peroral dengan cara sonde sehingga dosis paparan diharapkan akan tercapai dengan maksimal. Fokus penelitian adalah perubahan gambaran histopatologi ginjal sebagai akibat efek paparan formalin peroral dosis 0, 50, 100, dan 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu. Diharapkan efek subakut formalin peroral di ginjal sudah dapat diamati dengan waktu paparan 12 minggu.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

Formalin atau metanal adalah senyawa organik dengan rumus kimia CH_2O merupakan suatu senyawa kimia golongan aldehid sederhana.⁷ Memiliki berat molekul sekitar 30g/mol, berat jenis 1.05-1.12 g/ml dengan kelarutan dalam air 100g/100ml pada suhu 20 derajat Celcius.¹⁶ Formalin secara alami merupakan residu hasil pembakaran bahan yang mengandung karbon, maupun oksidasi dari methanol.¹⁷ Dosis letal formalin peroral pada tikus adalah 800 mg/kg^{-1} berat badan.⁷

Formalin adalah larutan fomaldehida yang tersaturasi dalam air dengan kadar sebesar 37%. Zat ini banyak digunakan pada industrial, maupun medis. Memiliki ciri mudah menguap, tidak berwarna, dan berbau menyengat. Hasil penguapan dari formalin bersifat toksik untuk kesehatan.¹⁸ Secara industri, formalin dibuat dari oksidasi katalitik metanol.

Dalam kehidupan sehari-hari formalin biasa digunakan untuk aplikasi pengawetan industrial, disinfektan, biosida, maupun pengawet. Formalin mudah diserap dalam tubuh baik melalui inhalan maupun peroral. Formalin dapat menimbulkan gejala sesuai dengan dosis dan konsentrasinya. Pada dosis tinggi dapat terjadi gejala akut seperti rasa terbakar di mulut dan kerongkongan, ulkus pada saluran pencernaan, *chest*, dan *abdominal* pain, mual, muntah, diare, asidosis metabolik, bahkan gagal ginjal yang berakibat kematian.^{9, 17-18}

Berbagai ambang batas yang ditentukan oleh *American Conference of Governmental and Industrial Hygienist* (ACGIH) yaitu 0.4 ppm, National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) yaitu 0.016 ppm selama periode 8 jam dan 0.1 ppm selama periode 15 menit, International Programme on Chemical Safety (IPCS) yaitu 0.1 mg/liter atau 0.2 mg/hari dalam air minum dan 1.5 mg – 15 mg perhari dalam makanan, sedangkan pada penelitian oleh WHO menyebutkan kadar formalin akan menimbulkan toksifikasi atau pengaruh negatif jika mencapai 6 gram.⁵

2.1.1 Metabolisme Formalin

Formalin dapat diserap dengan baik melalui inhalasi maupun peroral. Setelah diserap, formalin dengan cepat akan dipecah dan dimetabolisme dalam hepar, waktu paruhnya dalam plasma berkisar 1-1.5 menit. Formalin di dalam tubuh akan dirubah menjadi asam format di hepar oleh enzim formaline dehidrogenase. Selanjutnya asam format akan dieliminasi menjadi bentuk 10-formyl-THF melalui enzim formyl-tetrahydrofolate-synthetase (formyl-THF-synthetase) dan tetrahydrofolate (THF). 10-formyl-THF selanjutnya diubah menjadi karbondioksida dan air melalui aksi katalitik oleh formyl-THF-dehydrogenase (F-THF-DH). Formalin pada keadaan normal tidak disimpan pada jaringan tubuh, namun asam format sebagai produk metabolismenya selain dapat disekresikan melalui urin dapat juga dioksidasi menjadi karbondioksida (CO₂) dan dikeluarkan melalui paru-paru, maupun masuk ke dalam molekul sel.¹⁷

Formaldehide
dehidrogenase

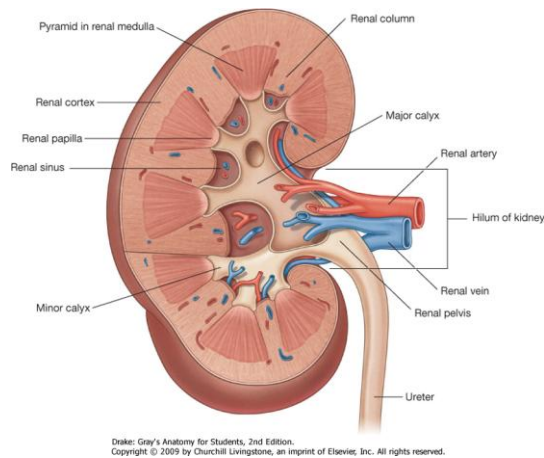
Formyl-THF-
dehydrogenase



Gambar 1. Skema metabolisme formaldehid

2.2 Ginjal

Ginjal adalah suatu organ di ruang retroperitoneal bagian posterior dari abdomen, pada posisi supinasi terletak pada vertebra torakal XII sampai vertebra lumbar III, dengan posisi ginjal sebelah kanan lebih rendah daripada ginjal kiri dikarenakan adanya hati di sebelah depannya. Berat dari ginjal 130-150 gram, dengan panjang 11 cm dan lebar 6 cm, berbentuk mirip kacang, berwarna coklat kemerahan.



Gambar 2. Struktur Anatomis Ginjal

Sumber : *Gray's Anatomy for Strudents. 2nd Edition*

Permukaan luarnya halus dan licin, diselubungi oleh simpai (*capsula*) yang dilingkupi oleh fascia Gerota dan jaringan lemak perinefrik. Pada sisi medial ginjal terdapat cekungan yang disebut hilus (*hillum of kidney*) yang ditembus oleh arteri dan

vena renalis, nodul limfatikus, dan ureter. Pada irisan koronal ginjal tampak parenkim ginjal yang terbagi menjadi bagian korteks (*renal cortex*) dan medula (*renal medulla*), dengan tonjolan korteks disebut kolumna renalis (*renal column*), dan tonjolan medula disebut papila renalis (*renal papila*).¹²⁻¹⁴

2.2.1 Fisiologi Ginjal

Unit fungsional dari ginjal adalah tubulus urinarius, yang merupakan struktur kompleks yang memodifikasi cairan yang melewatinya menjadi urine sebagai hasil akhir. Unit ini dapat dibagi menjadi nefron dan tubulus kolektivus, dimana dalam satu ginjal terdapat sekitar 1.3 juta nefron. Perdarahan ginjal melalui arteri dan vena renalis yang akan berlanjut sebagai arteri afferen dari ginjal. Dari arteri afferen berlanjut sebagai vena renalis. Filtrat dari hasil penyaringan di glomerulus akan masuk ke dalam tubulus ginjal (tubulus proximal, loop Henle, dan tubulus distal), dan berlanjut masuk ke tubulus kolektivus.^(12, 14-15)

Tubulus proksimal merupakan bagian ginjal yang aktif pada aktifitas absorpsi maupun sekresi dengan panjang sekitar 14 cm dan diameter lumen 60 μm , maka dari itu tubulus proksimal sering mendapatkan paparan tertinggi dari zat toksik.¹³

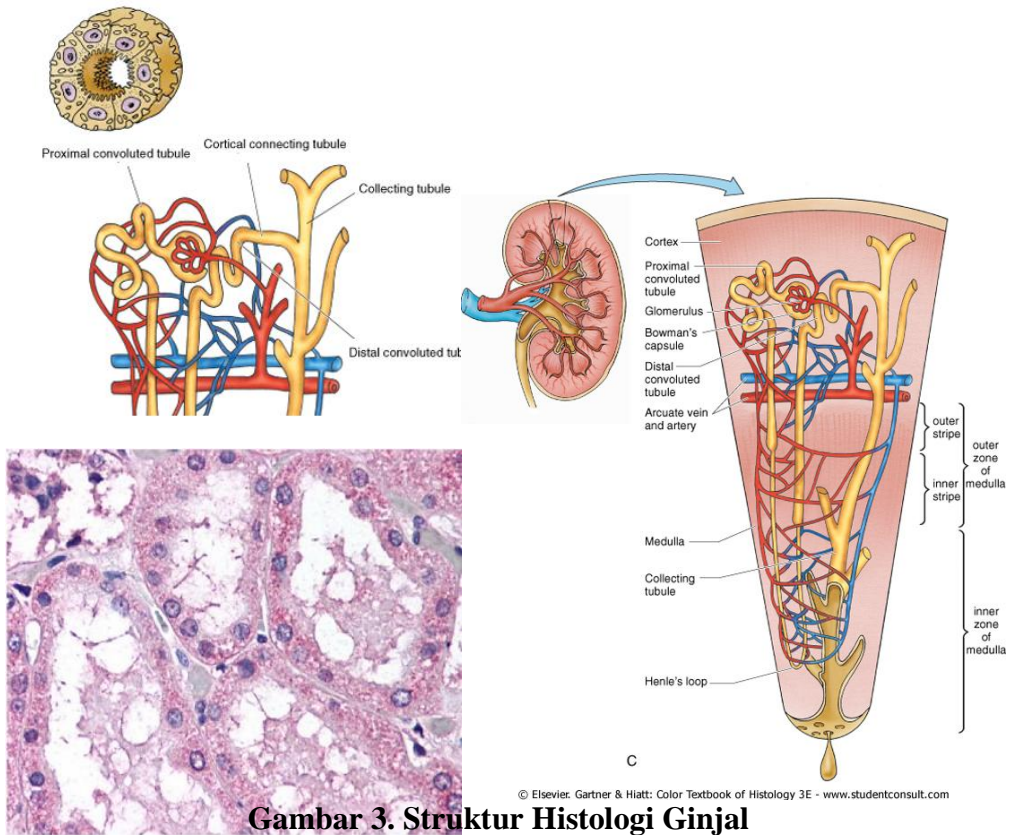
Tubulus proksimal juga disebutkan memiliki daya regenerasi yang mencakup 3 proses besar yaitu migrasi, proliferasi, dan pengembalian fungsi fisiologis.¹⁹ Proses migrasi berguna untuk menyingkirkan sel yang rusak dan digantikan dengan sel yang baru (proliferasi), proses ini berlangsung sekitar 7 hari, lalu terjadi pengembalian daya dan fungsi yang sama dengan sel normal

sebelumnya (pengembalian fungsi fisiologis) yang berlangsung kurang lebih 6 hari. Namun daya regenerasi ini dapat berkurang dengan berjalannya replikasi sel dikarenakan adanya kesalahan replikasi dalam pembentukan enzim untuk menempel pada basal membran yang berfungsi sebagai pencegah apoptosis, atau terjadi kerusakan sel yang irreversibel.¹⁹⁻²⁰

2.2.2 Histologi Ginjal

Struktur histologi dari tubulus proksimal adalah epitel kolumnar atau piramid dimana bagian besar lebih lebar daripada aspeknya, batas sel tidak jelas, permukaan sel terdapat brush border, inti besar dan bulat, terletak agak ke arah basis.^{13,14}

Pada umumnya dengan paparan rendah terjadi perubahan fisiologis dari tubulus proksimal, namun pada paparan dosis tinggi perubahan morfologi juga dapat terjadi.¹⁵ Terdapat dua perubahan morfologi yang sering terjadi pada ginjal adalah perubahan morfologi yang reversibel dan ireversibel. Perubahan reversibel antara lain adalah degenerasi sel tubulus, inflamasi sel tubulus dan terbentuknya cast, sedangkan perubahan irreversibel dari sel tubulus antara lain adalah atrofi atau dilatasi lumen, fibrosis sel tubulus, dan yang paling berat adalah nekrosis sel tubulus. Perubahan irreversibel biasanya ditandai dengan hilangnya *brush border* dan inti sel memipih.¹³



Gambar 3. Struktur Histologi Ginjal

Sumber : *Color Textbook of Histology*

2.2.3 Cedera Tubulus Proksimal

Untuk melihat tingkat kerusakan dari tubulus proksimal akan digunakan sistem skoring yang mengacu pada sistem skoring semikuantitatif Veniant et al. Kerusakan yang dilihat pada tubulointersisial berupa degenerasi (atrofi lumen, dilatasi tubulus, degenerasi epitel tubulus) dan nekrosis (inflamasi, fibrosis).^{11,13,15}

2.3 Faktor yang Berpengaruh pada Kerusakan Ginjal

Nefrotoksikasi ginjal dipengaruhi oleh berbagai hal dalam sistem tubuh manusia maupun hewan.

2.3.1 Obat atau zat kimia toksik

Ada beberapa jenis obat atau zat kimia yang dapat menyebabkan nefrotoksikasi, contohnya antara lain, *Acetaminophen* dosis tinggi dapat menyebabkan terjadinya nekrosis tubulus, obat Anti Inflamasi Non-Steroid (NSAID) menyebabkan nekrosis papiler, maupun Aminoglikoksida dapat menyebabkan gagal ginjal non_oliguri.^{11,13,15} atau pada penelitian ini adalah formalin.

2.3.2 Dosis

Dosis obat atau zat kimia yang digunakan sangat berpengaruh pada tingkat kerusakan ginjal. Semakin tinggi dosis yang masuk ke dalam peredaran sistemik maka semakin besar pula kerusakan sel yang dapat terjadi.^{11,13,15}

2.3.3 Nutrisi

Keadaan gizi dari seseorang berpengaruh terhadap timbulnya kerusakan pada sel-sel termasuk sel ginjal. Nutrisi diperlukan untuk menjaga keadaan fisiologis dari sel tersebut.^{11,13,15}

2.3.4 Usia

Pada usia lanjut keadaan tubuh akan mengalami kemunduran, hal ini juga akan berpengaruh terhadap sel ginjal. Semakin tua seseorang maka akan semakin besar resiko terjadinya kerusakan sel ginjal.^{11,13,15}

2.3.5 Jenis Kelamin

Jenis kelamin sangat berkaitan dengan proses hormonal di dalam tubuh, diduga hormone juga berpengaruh terhadap metabolisme maupun reaksi zat di dalam tubuh.^{11,13,15}

2.3.6 Penyakit

Adanya penyakit penyerta atau penyakit pendahulu pada seseorang akan mengakibatkan terganggunya baik fisiologi maupun morfologi dari ginjal tersebut, sehingga akan memperberat kerusakan ginjal yang terjadi.^{11,13,15}

2.3.7 Alkohol

Konsumsi Alkohol yang berlebihan dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan kerusakan pada sel ginjal. Dengan adanya paparan dari alkohol maka akan memperberat kerusakan ginjal yang terjadi,^{11,13,15}

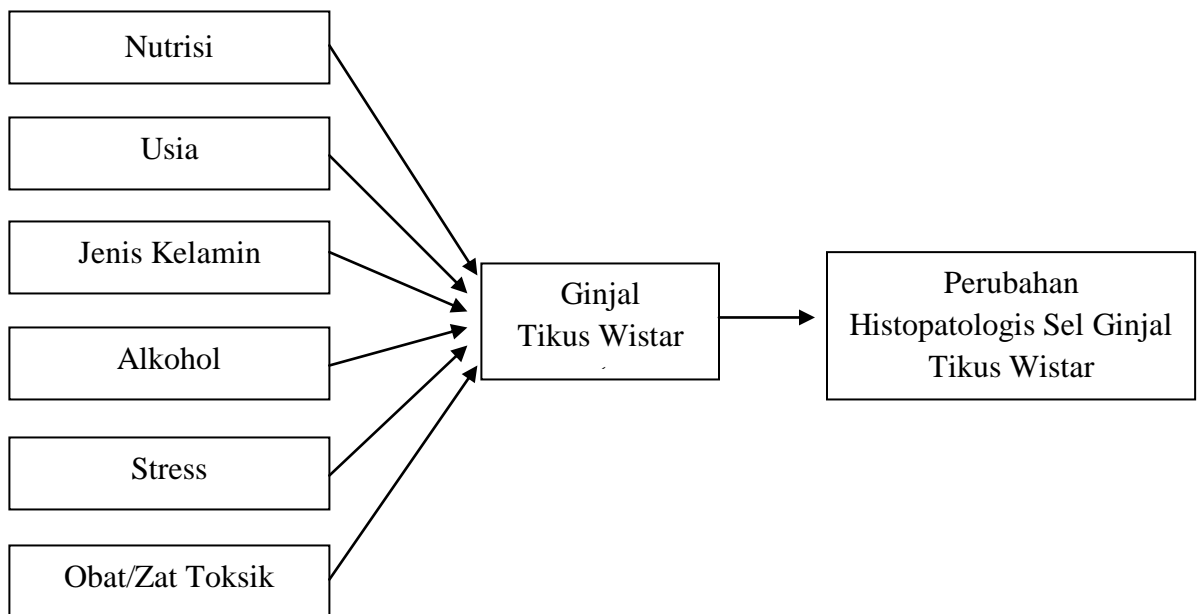
2.3.8 Stress

Adanya stres pada organ ginjal akan dapat mengakibatkan kerusakan pada sel-sel ginjal. Sehingga adanya stres sebelum pemaparan akan memperberat kerusakan ginjal.^{11,13,15}

BAB 3

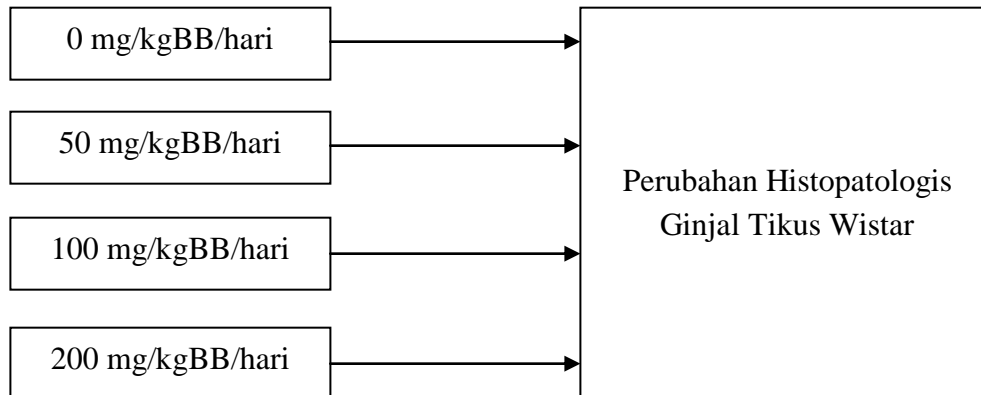
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep

Formalin Peroral Dosis :



Karena keterbatasan penelitian, maka :

- a. Pengaruh nutrisi ditiadakan dalam penelitian karena semua tikus diberi pakan dan minum yang sama (ad libitum) sehingga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna
- b. Pengaruh usia ditiadakan dalam penelitian karena tikus yang dipilih sebagai sampel berusia sama yaitu antara 3-4 bulan
- c. Pengaruh jenis kelamin ditiadakan dalam penelitian karena tikus yang dipilih sebagai sampel semua berjenis kelamin jantan.
- d. Pengaruh penyakit ginjal ditiadakan dalam penelitian karena tikus yang dipilih sebagai sampel adalah tikus yang sehat (anatomi baik, berat badan sesuai umur, aktifitas dan nafsu makan baik)
- e. Pengaruh konsumsi alkohol ditiadakan dalam penelitian karena pada penelitian ini tidak diberikan paparan ataupun manipulasi alkohol

- f. Pengaruh stress diminimalisir dalam penelitian dengan perlakuan yang sama dan diamati dari awal penelitian sampai akhir sehingga dianggap memiliki tingkat stress psikologi yang sama.
- g. Pengaruh obat atau zat toksik lain ditiadakan dalam penelitian ini karena tidak diberikan paparan ataupun manipulasi obat atau zat toksik lain selain formalin.

3.3 Hipotesis

3.3.1 Hipotesis Mayor

Terdapat pengaruh pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap perubahan histopatologis ginjal tikus wistar.

3.3.2 Hipotesis Minor

- 1) Tidak terdapat perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 0 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
- 2) Terdapat perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 50 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
- 3) Terdapat perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 100 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.
- 4) Terdapat perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar pada pemberian formalin peroral dosis 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu.

- 5) Terdapat perbedaan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.
- 6) Terdapat perbedaan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar antar kelompok perlakuan.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

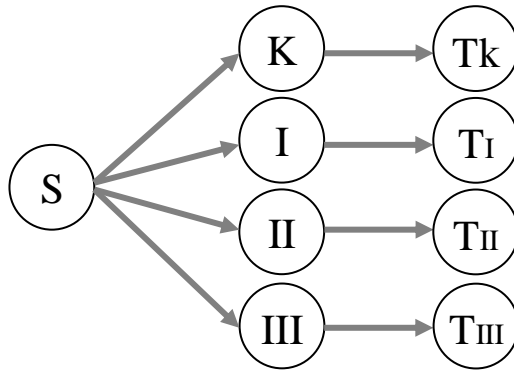
Ruang Lingkup penelitian ini adalah Ilmu Kedokteran Forensik dan Ilmu Patologi Anatomi

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 ginjal 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 3-4 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 jenis *Wistar* jantan
- b) Berat badan : 150– 200 gram
- c) Umur 3 – 4 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
- b) Tikus mati sebelum mendapat perlakuan

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 eksklusinya 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 ditentukan berdasarkan rumus WHO (1993) 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 ginjal tikus wistar.

4.6 Definisi operasional variabel

Tabel 2. 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 histopatologi ginjal tikus wistar	Gambaran histopatologi ginjal tikus wistar didapatkan dengan menghitung presentase sel abnormal pada ginjal tikus wistar yang telah dicat <i>PAS-Jones</i> , kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dalam ± 5 lapangan pandang sejumlah 100 sel. Penilaian gambaran histopatologi ginjal sesuai	Persentase sel ginjal abnormal (%) dengan kriteria <i>Venient et Al.</i> : 1 = lesi kurang dari 25% total lapangan pandang 2 = lesi 25 - kurang dari 50% total lapangan pandang 3 = lesi 50 – kurang dari 75% total lapangan	Rasio

dengan perubahan struktur histopatologi sebagai berikut:	pandang 4 = lesi lebih dari samadengan 75% total lapangan pandang
1) Normal : tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dinding sel berbatas tegas	
2) Atrofi Tubulus : merupakan keadaan menyempitnya lumen karena dilatasi sel tubulus	
3) Dilatasi Tubulus : tampak inti sel memipih, melebarnya lumen, dan hilangnya <i>brush border</i>	
4) Inflamasi Interstitial : merupakan salah satu tanda degenerasi dengan sekumpulan sel radang	
5) Fibrosis : merupakan keadaan dimana inti sel menghilang dan jaringan sel digantikan dengan serat-serat fibrotik	
6) Nekrosis : kerusakan sel permanen, terdapat 3 bentuk yaitu :	
a) Piknotik Inti menjadi kecil dan gelap	
b) Karioreksis Inti terfragmentasi	
c) Kariolisis Inti hilang	

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

Bahan-bahan untuk percobaan ini :

- 1) Tikus Wistar
- 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) *Jones-PAS-M Stain Kit*
 - f) Asam acetat
 - 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 berbahan timah, d=2mm)
- c) Sprit 1cc (tuberkulin)
- d) Sprit 5 cc

4.7.2.2 Alat untuk otopsi

- a) Skalpel (*handle* No. 3 dan *blade* No. 10)
- b) Pinset *chirurgis*
- c) Gunting
- d) Botol 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 ginjal dari kelompok paparan formalin peroral dosis bertingkat dan kelompok kontrol.

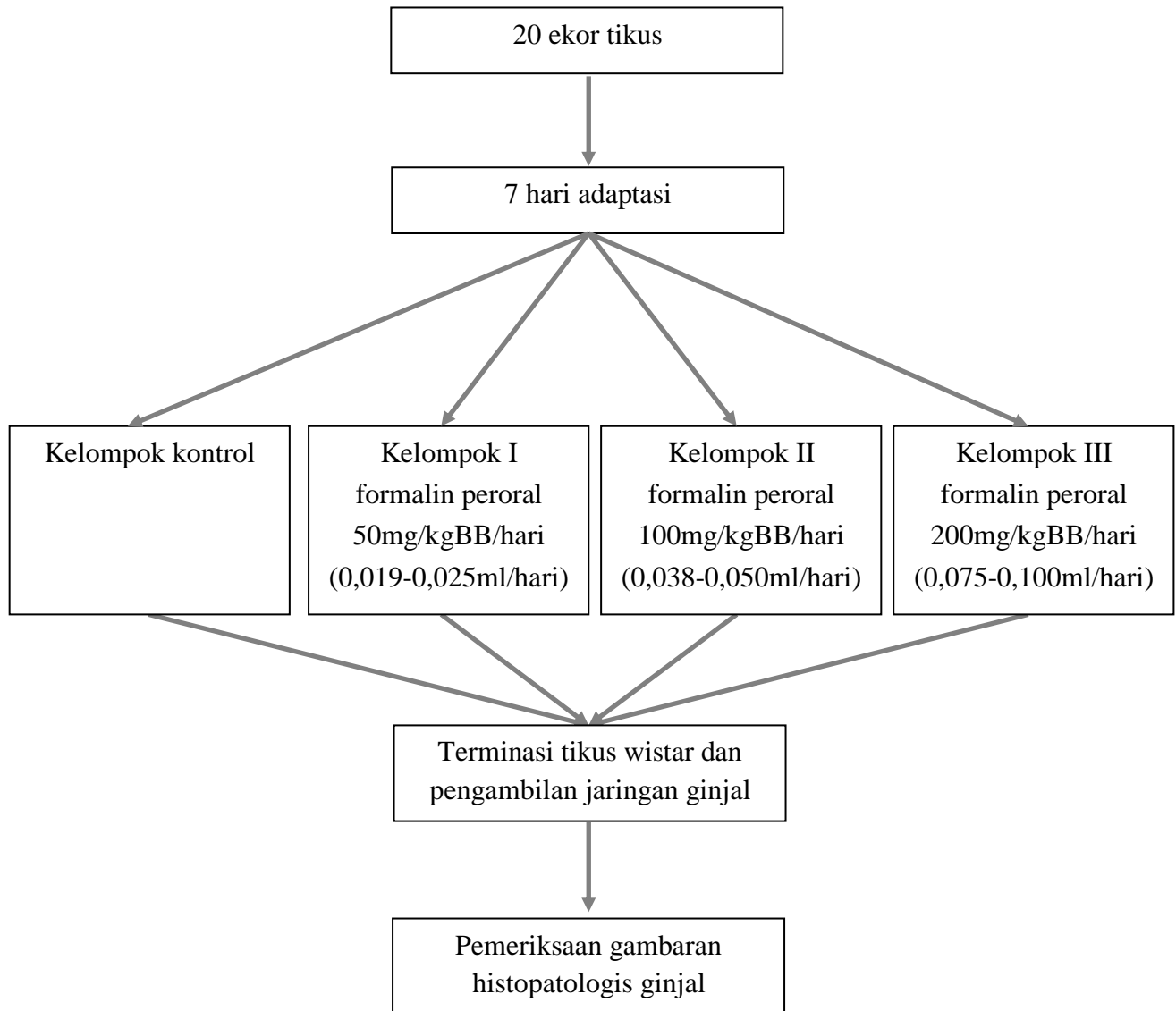
4.7.4 Cara Kerja

- a) 20 ekor tikus wistar jantan yang sehat dan aktif selama 7 hari di laboratorium diadaptasi dalam kandang tunggal 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 sampai 3 bulan 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 3 bulan masing-masing tikus ditimbang berat badannya.
- f) Tikus wistar dimatikan dengan cara dislokasi leher
- g) Organ ginjal diambil. Sampel ginjal tersebut kemudian diukur dan ditimbang, diamati secara makroskopik selanjutnya diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet bufer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian ginjal dan 9 bagian bufer formalin 10 %.
- h) Tabung berisi sampel ginjal tikus wistar diletakkan ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis untuk diolah mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan *PAS-Jones*. Dari setiap sampel ginjal

dibuat preparat dengan potongan koronal. Preparat tersebut akan dibaca 100 sel dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan abnormal gambaran histopatologi pada ginjal dengan menghitung sel normal, atrofi/dilatasi sel, inflamasi/fibrosis sel, dan nekrosis sel.

4.8 Alur penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 17.0 dan dilihat distribusi datanya normal atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, varians datanya sama, diuji beda dengan menggunakan statistik parametrik *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 parametrik *Kruskal-Wallis*, jika didapat $P < 0,05$ dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney test)*.⁵⁵

- 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 hubungan antara formaldehid dengan presentase abnormalitas gambaran histopatologi ginjal tikus wistar.

Jika didapatkan hasil yang tidak berbeda bermakna maka tidak ada hubungan antara formaldehid dengan presentase abnormalitas gambaran histopatologi ginjal tikus wistar.

4.10 Etika Penelitian

Telah didapatkan *Ethical Clearance* 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 3ml kemudian disondekan. Hewan diterminasi dengan cara dekapitasi. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan.

Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian akan ditanggung oleh peneliti.

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Waktu(Bulan)								
		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 penelitian								■	■
7	Seminar hasil penelitian									■

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Analisa Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel 20 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K (control), P1 (perlakuan 1), P2 (perlakuan 2), dan P3 (perlakuan 3). Jumlah sample pada masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus wistar yang ditentukan secara acak (*simple random sampling*). Penelitian dilaksanakan selama 12 minggu, pada awal minggu ke 13 semua tikus wistar jantan didekapitasi. Semua sample kemudian diambil organ ginjalnya untuk dibuat sediaan preparat histopatologis dan dilakukan pengamatan secara penghitungan jumlah sel ginjal yang mengalami perubahan histopatologis dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x.

5.2 Analisa Deskriptif

Tabel 4 menampilkan hasil skoring pembacaan preparat histopatologi ginjal tikus wistar dalam 100 sel yang dihitung tiap lapangan pandang pada setiap kelompok perlakuan menurut kriteria *Venient et Al.*

Tabel 4. Hasil skoring pengamatan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar

Kelompok	Sel Normal	Sel Tidak Normal	Total Presentase	Skor
K1	116	2	1.7	1
K2	129	-	0	1
K3	104	-	0	1
K4	120	2	1.6	1
K5	97	3	3	1
P1 – A	60	43	41.7	2
P1 – B	85	30	36.1	2
P1 – C	73	35	32.4	2
P1 – D	92	20	17.8	1
P1 – E	113	5	4.2	1
P2 – A	64	46	41.8	2
P2 – B	61	53	49.1	2
P2 – C	54	56	56	3
P2 – D	44	68	59.6	3
P2 – E	59	44	42.7	2
P3 – A	49	51	54	3
P3 – B	62	59	58.4	2
P3 – C	34	87	72	3
P3 – D	42	83	66.4	3
P3 – E	32	76	71	3

Keterangan

1 = lesi kurang dari 25% total lapangan pandang

2 = lesi 25-<50% total lapangan pandang

3 = lesi 50-<75% total lapangan pandang

4 = lesi lebih dari sama dengan 75% total lapangan pandang

Rerata skor perubahan struktur histopatologi ginjal tikus wistar yang diperoleh dapat dilihat dari tabel di bawah ini:

Tabel 5. Analisis deskriptif sel ginjal tikus wistar

Kelompok	Mean	SD	Maksimum	Minimum
Kontrol	1.00	0.000	<25%	<25%
50 mg/kgBB/hari	1.60	0.548	<25%	25 - <50%
100 mg/kgBB/hari	2.40	0.548	25 - <50%	50 - <75%
200 mg/kgBB/hari	2.80	0.477	25 - <50%	50 - <75%

Berdasarkan tabel 5, rerata tertinggi perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar terpadat pada kelompok P3 (x) dan rerata terendah terdapat pada kelompok kontrol (x), dimana terdapat peningkatan rerata jumlah sel ginjal tikus wistar yang mengalami perubahan histopatologis dari kelompok kontrol sampai dengan kelompok P3.

5.3 Analisa Analitik

Data hasil skoring perubahan histopatologi ginjal tikus wistar diuji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk*

No.	Kelompok	<i>p</i>
1	Kontrol	0
2	Perlakuan 1	0.006
3	Perlakuan 2	0.006
4	Perlakuan 3	0

Dari tabel di atas, didapatkan distribusi data tidak normal ($p < 0.05$) tetapi homogenitas varians didapatkan normal, kemudian dilanjutkan dengan transformasi data, karena sebaran data setelah transformasi masih tidak normal, maka dilakukan uji non-parametik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $p = 0.002^*$, sebagai berikut:

Tabel 7. Nilai *p* pada uji *Kruskal-Wallis* tiap kelompok

Variabel	Median	Minimum	Maksimum	<i>p</i>
Kontrol	1	1	1	
Perlakuan 1	2	1	2	
Perlakuan 2	2	2	3	
Perlakuan 3	3	2	3	0.002*

Artinya, paling tidak ada perubahan histopatologi ginjal secara bermakna pada dua kelompok.

Selanjutnya akan dilakukan uji *Post Hoc* dari metode analitik *Kruskal-Wallis* yaitu *Mann Whitney*. Hasil uji *Mann Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Nilai *p* pada uji *Mann Whitney* tiap kelompok

Variabel	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kontrol	0.050*	0.005*	0.004*
Perlakuan 1	-	0.058	0.014*
Perlakuan 2		-	0.221

*Ada perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$)

Pada uji beda antar kelompok didapatkan bahwa skor nilai derajat perubahan ginjal antar kelompok kontrol dengan seluruh kelompok perlakuan, terdapat perbedaan bermakna dimana $p < 0.05$ dengan nilai 0.050. Pada kelompok P1 dan P2 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dimana $p > 0.05$ dengan nilai 0.058, pada kelompok P1 dan P3 terdapat perbedaan yang bermakna dimana $p < 0.05$ dengan nilai 0.014. Sedangkan pada kelompok P2 dan P3, tidak terdapat perbedaan yang bermakna dimana $p > 0.05$ dengan nilai 0.221.

BAB 6

PEMBAHASAN

Formalin adalah suatu bahan kimia yang dalam rentang dosis tertentu berfungsi dengan baik utamanya sebagai desinfektan dan biosida, namun pada dosis yang melebihi batas normal formalin dapat menimbulkan efek toksik di dalam tubuh.⁵

Formalin endogen akan dipecah menjadi asam format di hepar, asam format ini dapat dieksresi melalui ginjal maupun dioksidasi menjadi karbondioksida dan air yang dieksresi utamanya melewati saluran pernapasan. Pada tingkat sel, asam format menghambat enzim sitokrom oksidase sehingga menyebabkan hipoksia histotoksik dan menyebabkan penumpukkan asam, sehingga banyak penelitian yang mengamati bahwa terjadi asidosis berat pada manusia dan mamalia, namun hal ini sulit terjadi pada tikus wistar dikarenakan proses metabolisme pemecahan asam format menjadi karbondioksida dan air yang relatif lebih cepat.²³⁻²⁵

Penelitian mengenai perubahan histopatologis pada sel tubulus ginjal yang telah dilakukan sebelumnya dengan dikemukakan adanya perubahan fisiologi ginjal, penurunan berat badan dan organ, nekrosis hepar dan tubulus ginjal mencit secara fokal.^{26,27}

Pada penelitian ini ditemukan perbedaan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar yang bermakna antar kelompok dengan $p=0.002^*$. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari pemberian formalin peroral dosis bertingkat terhadap gambaran histopatologis ginjal tikus wistar. Hal ini didukung oleh temuan penelitian dalam

analisis deskriptif yang menyatakan bahwa pada kelompok perlakuan 3 terjadi kerusakan sel tubulus ginjal yang terberat daripada kelompok perlakuan lain. Sedangkan dalam analisis analitik antara kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 2 dengan perlakuan 3, ditemukan perbedaan pada analisa deskriptif, namun tidak ditemukan perbedaan yang bermakna dalam analisis inferensial atau analitik. Hal ini dapat disebabkan karena proses metabolisme dari asam format di tikus wistar relatif lebih cepat sehingga paparan efek toksik di tubulus proksimal ginjal dapat terminimalisir, selain itu terdapat pula faktor-faktor lain, yaitu rentang dosis yang tidak terlalu besar, waktu penelitian yang singkat, dan faktor stress.

Pada penelitian ini penulis telah meminimalisir bias perhitungan sel dengan cara menggunakan teknik *Single blind* dalam pembacaan preparat histopatologis, namun tidak tertutup kemungkinan bias yang lain antara lain adalah faktor regenerasi sel tubulus. Dalam penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan penelitian dengan rentang dosis yang semakin besar dan lebih bervariasi, serta masa perlakuan yang berjenjang untuk mengetahui dan membandingkan efek akut, subakut, dan kronis dari toksisitas formalin terhadap ginjal.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Terdapat perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar pada kelompok perlakuan pemberian formalin peroral dengan dosis 50 mg/kgBB/hari, 100 mg/kgBB/hari, 200 mg/kgBB/hari, sedangkan pada kelompok kontrol tidak mengalami perubahan histopatologis.

Terdapat hubungan antara perubahan histopatologis ginjal tikus wistar dengan pemberian formalin peroral dosis bertingkat, dimana semakin tinggi dosis maka semakin besar pula efek toksisitas formalin terhadap ginjal.

7.2 Saran

- a) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian formalin peroral menggunakan dosis yang biasa beredar di masyarakat.
- b) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian formalin dengan dosis yang lebih bervariasi dan waktu penelitian yang lebih lama dan berjenjang.
- c) Perlu dilakukan studi epidemiologi mengenai keracunan formalin di masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

1. BPOM RI. Jajanan Anak Sekolah. Dalam Foodwatch Sistem Keamanan Pangan Terpadu. Vol I, 2007.
2. BPOM RI. Bahan Tambahan Ilegal-Boraks, Formalin, Rhodamin B. Dalam Foodwatch Sistem Keamanan Pangan Terpadu. 2004
3. DetikNews 13 Januari 2006. BPOM : Pernyataan formalin tidak berbahaya jerumuskan masyarakat. Available from: URL: <http://www.detiknews.com/index.php/detik.read/tahun/2006/bulan01/tgl13/time/115127/idnews/518011/idkanal/10>
4. Agam G, Devi TH, Kumar M Bapun, Singh TH Bijoy. Fatal Formalin Poisoning : Case Report. International Journal of Medical Toxicology & Legal Medicine 2008; 10(2). Available from: URL: <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijmtlm&volume=10&issue=2&article=004>
5. Til hp, Woutersen RA. Feron VJ, Hollanders VH, Falke HE, Clary JJ. *Two year drinking water study of formaldehyde in rats*. Available from: URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/formaldehyde130605.pdf
6. R. Kochlar, V. Nanda, B. Nagi, S.K. Metha. Formaldehyde-induced Corrosive Gastric Cicatrization: Case Report. Available from: URL: <http://het.sagepub.com/contect/5/6/381>
7. A Khan, dkk. *Pathological effect of formalin (37% Foemaldehyd) feeding female Japanes Quails*.2005. Available from: URL: <http://ps.fass.org/content/85/9/1513.full.pdf+html>
8. Toxicity of ingested formalin and its management. Available from: URL: <http://het.sagepub.com/contect/19/6/360>

9. Peter, Kaluse et Al. Nephrotoxic effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) hydrolysis products on cultured kidney epithelial cells . Available from URL : <http://het.sagepub.com/content/17/6/336>
10. Dorland. Kamus Kedokteran Edisi 30. 2008. Jakarta: EGC p.1887
11. Kumar, Abbas, Fausto, Mitchell. *Basic Pathology 8th Edition*. 2007. Jakarta: EGC p.595-97
12. Drake et Al. *Gray's Anatomy for Students 2nd Edition*. 2010. Philadelphia: Elsevier. p. 355-59
13. Penyusun. Patologi Ginjal dan Saluran Kemih. 2008. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
14. Gartner, L. Hiatt. *Color Textbook of Histology 3rd Edition*. 2007. Available from : www.studentconsult.com
15. Macfarlane, Reid, Callander. *Pathology Illustrated 5th Edition*. Philadelphia: Elsevier. p. 429-32
16. Celanese. *Formaldehyde Aqueous*. Available from URL: www.chemvip.com/index
17. Lu, Sam Kacew. *Lu's Basic Toxicology 5th Edition*. 2009. New York : Informa Healthcare Inc. p.1282-84
18. Klassen, Curtis. *The Basic Science of Poisons 7th Edition*. 2008. New York: The McGraw-Hill Company. p. 541-43
19. Paul A. Nonyl and Rick G. *Mechanism of Renal Cell Repair and Regeneration after Acute Renal Failure*. Available from URL: <http://jpet.aspetjournal.org/content/304/3/905.full>
20. Ralph Witzgall. *The Proliferation Capacity of the Renal Tubule Involves in the Bulk of Differentiated Epithelial Cells*. Available from URL: <http://ajpcell.physiology.content/294/1/C1.full>
21. Public Chemical Compound. 2011. Available from URL: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

22. Dahlan, Sopiudin. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. 2011. Jakarta: Salemba Medika.
23. Henderson, William and Brubacher, Jeffrey. *Methanol and ethylene glycol poisoning: a case study and review of current literature*. 2002. *CJEM* 2002;4(1):34-40, available from URL : <http://www.cjem-online.ca/v4/n1/p34>
24. K A Black, J T Eells, P E Noker, C A Hawtrey, and T R Tephly. *Role of hepatic tetrahydrofolate in the species difference in methanol toxicity*. 1985. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 June; 82(11): 3854–58. Available from URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC397886/>
25. Kruse, J.A. *Methanol Poisoning*. 1992. *Intensive Care Med* 18:391-7. Michigan. Available from URL : [http://www.thetruthaboutstuff.com/pdf/\(211\)%20Methanol%20Poisoning%20Kruse%20Review%20Treatment.pdf](http://www.thetruthaboutstuff.com/pdf/(211)%20Methanol%20Poisoning%20Kruse%20Review%20Treatment.pdf)
26. Kartikaningsih, Hartati. Pengaruh Paparan Berulang Ikan Berformalin Terhadap Kerusakan Hati dan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Media Pembelajaran Keamanan Pangan. 2008. Available from URL : <http://karya-ilmiah.um.ac.id/index.php/disertasi/article/view/995>
27. Wijaya, Arief Dwi. Penelitian Tentang Pengaruh Paparan Berulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Secara Oral Selama Tiga Bulan Terhadap Perubahan Fisiologi Mencit (*Mus musculus*). 2011. Available from URL : <http://elibrary.ub.ac.id/handle/123456789/24813?mode=full>