



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

**LAPORAN HASIL
KARYA TULIS ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**Sugeng Pramono
G2A 008 183**

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

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL KTI

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

Disusun oleh:

**Sugeng Pramono
G2A 008 183**

Telah disetujui:
Semarang, 31 Juli 2012

Dosen pembimbing 1

Dosen 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. Intarniati Nur Rohmah, Sp.KF
19770805 200812 2 002

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

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama mahasiswa : Sugeng Pramono
NIM : G2A 008 183
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 Hepar 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, 20 Juli 2012

Yang membuat pernyataan,

Sugeng Pramono

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME karena atas kasih dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan laporan akhir hasil 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 ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam pembuatan karya tulis ilmiah ini:

- 1) Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar, meningkatkan ilmu pengetahuan, dan keahlian
- 2) Dekan Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik lancar
- 3) dr.Gatot Suharto,Sp.F.,M.Kes.,S.H. dan Dra.Ani Margawati, M.Kes,PhD dosen pembimbing karya tulis ilmiah yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing penulis selama pelaksanaan karya tulis ilmiah
- 4) dr. Intarniati Nur Rohmah,Sp.KF selaku ketua penguji seminar hasil KTI
- 5) dr.Sigid Kirana Lintang Bhima, Sp.KF selaku dosen penguji seminar hasil KTI
- 6) dr. Santosa, Sp.F, dr. Arista Hardinisa,Sp.KF dan dr.Intarniati Nur Rohmah,Sp.KF atas waktu, saran dan bimbingannya dalam keseluruhan penyusunan dan pelaksanaan KTI
- 7) dr.Kasno, Sp.PA selaku konsultan pembacaan preparat histopatologi
- 8) Seluruh staf Biologi F-MIPA UNNES yang telah membantu penulis melaksanakan penelitian
- 9) Orang tua beserta keluarga kami yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material

- 10) Martina, Abdi RAW, Ericko, Naomi, Sherly yang telah berjuang dan bahu membahu bersama sebagai satu kelompok dengan penulis dalam penyusunan dan pelaksanaan KTI
- 11) Para sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah
- 12) Serta pihak lain yang tidak mungkin kami sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik

Penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Tiada gading yang tak retak, karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kata sempurna sehingga saran dan kritik yang membangun dari khalayak sangat diperlukan. Akhir kata, 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 I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Formalin	8
2.1.1 Pengertian Formalin	8
2.1.2 Sintesis Formalin	10
2.1.3 Metabolisme Formalin.....	11
2.1.4 Dampak Formalin	13
2.2 Hepar	15
2.2.1 Anatomi Hepar	15
2.2.2 Histologi Hepar	16
2.2.3 Fisiologi Hepar	18

2.2.4 Patologi Hepar	21
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	27
3.1 Kerangka Teori	27
3.2 Kerangka Konsep	28
3.3 Hipotesis	29
3.3.1 Hipotesis Mayor	29
3.3.2 Hipotesis Minor.....	29
BAB 4 METODE PENELITIAN	31
4.1 Ruang Lingkup Penelitian	31
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	31
4.4 Populasi dan Sampel.....	32
4.4.1 Populasi Target.....	32
4.4.2 Populasi Terjangkau.....	32
4.4.3 Sampel.....	33
4.4.3.1 Kriteria Inklusi.....	33
4.4.3.2 Kriteria Eksklusi.....	33
4.4.4 Cara Pengambilan Sampel.....	33
4.4.5 Besar Sampel.....	33
4.5 Variabel Penelitian	34
4.5.1 Variabel Bebas.....	34
4.5.2 Variabel Tergantung.....	34
4.6 Definisi Operasional Variabel	34
4.7 Cara Pengumpulan Data	36
4.7.1 Bahan	36
4.7.2 Alat	36
4.7.2.1 Alat Pemberi Perlakuan	36
4.7.2.2 Alat Autopsi	36
4.7.2.3 Alat Pemeriksaan Histopatologis	37
4.7.3 Jenis Data	37
4.7.4 Cara Kerja	37

4.8 Alur Penelitian	39
4.9 Analisis Data	39
4.10 Etika Penelitian	40
4.11 Jadwal Penelitian	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN	42
5.1. Analisis Sampel.....	42
5.2 Analisis Deskriptif	43
5.3 Analisis Analitik.....	47
BAB 6 PEMBAHASAN	49
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	52
7.1 Simpulan.....	52
7.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penelitian Efek Toksik Formalin	5
Tabel 2. Definisi Operasional Variabel	34
Tabel 3. Jadwal Penelitian	41
Tabel 4. Hasil skoring pengamatan gambaran histopatologis hepar tikus wistar..	46
Tabel 5. Analisis deskriptif sel hepar tikus wistar.....	46
Tabel 6. Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	47
Tabel 7. Nilai <i>p</i> pada uji <i>Post Hoc</i> tiap kelompok.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia formalin	11
Gambar 2. Metabolisme Formalin.....	13
Gambar 3. Gambaran Makroskopis Hepar.....	16
Gambar 4. Trigonum Kiernan / Area Portal.....	17
Gambar 5. Hepatosit	18
Gambar 6. Kerangka Teori	27
Gambar 7. Kerangka Konsep	29
Gambar 8. Skema Rancangan Penelitian	32
Gambar 9. Alur Penelitian	39
Gambar 10. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok K.....	43
Gambar 11. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P1.....	43
Gambar 12. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P2.....	44
Gambar 13. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P3.....	44
Gambar 14. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P3.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Cara Perhitungan Dosis	57
Lampiran 2. Metode Baku Histologis Pemeriksaan Jaringan	59
Lampiran 3. Ethical Clearance	62
Lampiran 4. Surat Ijin Penelitian	64
Lampiran 5. Hasil Analisis	65
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	70
Lampiran 7. Biodata Penulis	73

ABSTRAK

Latar Belakang: Formalin adalah senyawa formaldehida cair yang berfungsi sebagai pengawet kadaver. Penggunaan formalin secara luas telah dilarang oleh berbagai perundangan di Indonesia. Meski telah dilarang, masih ada bahan makanan maupun makanan siap saji berformalin yang beredar di masyarakat luas. Formalin dapat masuk ke dalam tubuh melalui makanan, paparan inhalasi, dan paparan kulit secara alamiah. Formalin yang masuk akan dimetabolisme dan didetoksifikasi oleh hepar, dan menghasilkan metabolit toksik yang dapat merusak sel hepar.

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

Metode: Penelitian eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*. Sampel sebanyak 20 tikus wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, kemudian 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 50mg/kgBB/hari, P2 diberi formalin peroral 100mg/kgBB/hari, dan P3 diberi formalin peroral 200mg/kgBB/hari. Setelah 12 minggu semua sampel diambil organ heparnya untuk dilakukan pemeriksaan histopatologis sel hepar. Data dideskripsikan dalam bentuk tabel dan gambar, analisa statistik dengan program komputer.

Hasil: Nilai rerata jumlah kerusakan sel hepar tertinggi pada kelompok P3. Skor yang dinilai meliputi sel normal dan perubahan histopatologi berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Uji ANOVA didapatkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,000$) Uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan yang bermakna pada K-P1 ($p = 0,000$), K-P2 ($p = 0,000$), K-P3 ($p = 0,000$), P1-P2 ($p = 0,000$), P1-P3 ($p = 0,000$), P2-P3 ($p = 0,016$).

Kesimpulan: Pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu menyebabkan terjadinya perubahan histopatologi hepar tikus wistar. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, serta antar kelompok perlakuan.

Kata kunci: Formalin dosis bertingkat, gambaran histopatologi hepar

ABSTRACT

Background: Formalin is a liquid form of formaldehyde that had functions as cadaver preservative. The used of formalin had prohibited with statutes in Indonesia. Although prohibited, there was groceries and foods contained formalin in the wide community. Formalin could enter to the body through foods, inhalation exposure, and skin exposure naturally. Formalin that entered would be metabolized and detoxified by liver, and produced toxic metabolites that could destroye liver's cell.

Aim: This research aimed to prove the effect of 12 weeks administered gradual dose of formalin peroral to the histopathological image of wistar rat's liver.

Method: Experimental study with post test only control group design. The samples were 20 wistar rat which have already and fulfilled inclusion and exclusion criteria were adapted for 7 days. After adaptation, wistar rat divided using simple random sampling into 4 groups. K was control group and was not given formalin, P1 was given formalin 50mg/kgBW/day, P2 was given formalin 100mg/kgBW/day, and P3 was given formalin 200mg/kgBW/day. After 12 weeks all liver sample were taken out to identify changes in histopathologic. Data was described in table and picture, statistical analysis used computer program.

Result: The highest mean of total liver cells damage was in P3 group. The score evaluated normal cell and parenchymal degeneration, hydropic degeneration, and necrosis. The ANOVA test showed significant difference ($p = 0,000$). The Post Hoc test showed significant difference between K-P1 ($p = 0,000$), K-P2 ($p = 0,000$), K-P3 ($p = 0,000$), P1-P2 ($p = 0,000$), P1-P3 ($p = 0,000$), P2-P3 ($p = 0,016$).

Conclusion: The administered of gradual dose of formalin caused change on histopathological image of wistar rat's liver. There was significant difference in control group and experimental group, and between experimental group.

Keywords: Gradual doses of formalin, histopathological image of liver

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akhir-akhir ini, angka penyalahgunaan obat dan senyawa kimia di Indonesia semakin meningkat. Hal ini disebabkan oleh perkembangan bisnis pangan yang semakin pesat sehingga muncul persaingan dagang yang tidak sehat antara pedagang yang satu dengan pedagang yang lain. Akibatnya, para pedagang mulai menggunakan zat-zat aditif yang salah satunya berguna untuk memperpanjang masa simpan bahan pangan, contohnya formalin. Padahal formalin adalah zat yang biasa digunakan untuk mengawetkan mayat dan tentunya dapat mengganggu kesehatan manusia.¹

Sebenarnya penggunaan formalin sebagai bahan tambahan pangan telah dilarang oleh berbagai perundangan, antara lain UU No 7/1996 Tentang Pangan, UU No 8/1999 Tentang Perlindungan Konsumen, PP No 28 tahun 2004 Tentang Keamanan Pangan, dan Peraturan Menteri Kesehatan No. 1168/Menkes/PER/X/1999.²⁻⁵

Meskipun telah dilarang, ternyata masih banyak bahan makanan maupun makanan siap saji berformalin yang beredar di masyarakat luas. Juni 2011, penggunaan formalin ditemukan pada jajanan anak sekolah saat diadakan inspeksi oleh petugas dinas kesehatan di SD Negeri 1 Karang Sentul dan SD Negeri Tebas Kecamatan Gondangwetan, Kabupaten Pasuruan. Tiga Agustus 2011, Suku Dinas Peternakan dan Perikanan Jakarta Selatan

mengadakan inspeksi mendadak di Pasar Kebayoran Lama. Hasilnya, dari 64 ayam yang diambil secara acak sebagai sampel, 15 ayam dinyatakan positif mengandung formalin. Harga formalin yang lebih murah daripada pengawet pangan legal disinyalir menjadi sebab utama formalin digunakan oleh para pedagang untuk mengawetkan barang dagangan mereka.⁶⁻⁷

Formaldehid merupakan golongan aldehida dengan rumus kimia H_2CO yang bisa berbentuk padat, cair, maupun gas. Formaldehid yang berbentuk cair biasa disebut formalin. Formalin yang beredar di pasaran mempunyai kadar formaldehid yang bervariasi, antara 20% – 40% formaldehid. Formalin dikenal sebagai bahan baku industri lem, desinfektan untuk pembersih lantai, kapal, gudang dan pakaian, germisida dan fungisida pada tanaman sayuran, serta pembasmi lalat dan serangga lainnya. Larutan dari formaldehid sering dipakai membalsem atau mematikan bakteri serta mengawetkan bangkai. Hingga saat ini, laporan keracunan akibat formalin amat terbatas. Padahal, kejadian sebenarnya di lapangan tidak sesedikit laporannya. Itu disebabkan banyak kasus-kasus keracunan formalin yang tidak terdata dengan baik.^{8,9}

Formalin dapat masuk ke dalam tubuh melalui makanan, paparan inhalasi, dan paparan kulit secara alamiah. Namun formalin baru dikatakan berbahaya bila kadar yang masuk ke dalam tubuh melebihi ambang batas yang ditentukan. Batas toleransi formaldehid yang dapat diterima tubuh menurut International Programme on Chemical safety (IPCS) adalah 0,1 mg/liter dalam bentuk air minum atau 0,2 mg dalam bentuk asupan.¹⁰

Hepar adalah organ viscera abdominis yang terbesar, menempati bagian superior cavum abdominis. Letaknya pada kwadran kanan atas abdomen. Berat hepar orang dewasa sekitar 2% berat badan, berwarna coklat kemerahan dalam keadaan segar. Salah satu fungsi hepar adalah untuk memetabolisme hampir seluruh zat yang masuk ke dalam tubuh.^{11,12}

Metabolisme dan detoksifikasi formalin terjadi di hepar dan menghasilkan metabolit toksik yang dapat merusak sel hepar. Oleh karena itu, peneliti ingin membuktikan efek pemberian formalin peroral selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis hepar. Diharapkan waktu 12 minggu sudah cukup untuk melihat efek subakut. Hewan coba adalah tikus wistar karena metabolisme tikus wistar mirip dengan manusia.

Terdapat penelitian-penelitian sebelumnya yang membahas efek formalin pada hepar. Namun pada penelitian tersebut, formalin diberikan secara inhalasi. Penelitian tersebut dapat membuktikan perubahan histopatologis hepar yang diberi formalin perinhalan dan kerusakannya yang berhubungan secara temporal.

1.2 Rumusan Masalah

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

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Melihat perbedaan gambaran histopatologis hepar tikus wistar terhadap pemberian formalin per oral dosis bertingkat selama 12 minggu.

1.3.2 Tujuan Khusus

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

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Mendokumentasikan efek subakut paparan formalin peroral terhadap organ tubuh sehingga dapat menambah referensi bila ditemukan kasus keracunan formalin subakut.

- 2) Hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan bukti akan bahaya formalin sebagai zat tambahan dalam makanan dan minuman.
- 3) Penelitian ini dapat digunakan sebagai salah satu sumber informasi untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Penelitian Efek Toksik Formalin

No.	Judul Penelitian	Peneliti	Metodologi	Hasil
1)	Pathological effect of formalin (37% Formaldehid) feeding female Japanes Quails, Sage journal online ¹³	A Khan, HA dkk Tahun 2005	75 ekor burung puyuh (Japanes 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 histopatologis organ.	Membuktikan pada dosis 2,5ml/kg tidak adanya gangguan klinis, namun pada dosis 20ml/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 2,5ml/kg tidak menunjukkan perubahan secara umum. Pada dosis 10 dan 20ml/kg adanya penurunan berat organ, perdarahan otot paha, perubahan histologi oviduct berupa vakuolisasi pada nucleus.
2)	Effect oral administration of formalin on blood gases parameter in rats ¹⁴	OK Al Omari, dkkTahun 2007	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	Hasil membuktikan berat badan, konsumsi makanan dan minuman relatif lebih rendah dibandingkan kontrol. Tidak ada perbedaan statistik Ph dan PCO ₂ antar kelompok. Tidak ada perubahan histologi hepar dan ginjal pada kelompok paparan

			mg/KgBB/hari, kelompok II 13 ekor dosis 150 mg/KgBB/hari dan kelompok kontrol diberikan 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 histologi hepar dan ginjal.	
3)	Effect of formaldehyde inhalation on rat livers: A Light and Electron Microscopic Study ¹⁵	Cikmaz, S, dkk Tahun 2010.	18 tikus wistar albino dibagi menjadi 3 grup, masing-masing diberi perlakuan kontrol, 19.7 ppm FA gas 8 jam/hari, 5 hari per minggu selama 4 minggu (subakut) dan 20.3 ppm FA gas 8 jam/hari, 5 hari per minggu selama 13 minggu. Dinilai keadaan histopatologis organ heparnya menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron.	Membuktikan adanya perubahan histopatologis yang mengindikasikan kerusakan jaringan hepar dan kerusakan ini memiliki hubungan langsung dengan lama paparan.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang telah ada sebelumnya baik dari segi hewan coba, dosis, dan lama waktu pemberian formalin. Pada penelitian ini, hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar berjenis kelamin jantan dan paparan formalin akan diberikan melalui oral dengan cara peronde sehingga dosis paparan diharapkan akan benar-benar tercapai. Fokus penelitian adalah perubahan gambaran

histopatologis hepar sebagai akibat efek paparan formalin peroral dosis 50, 100, 200 mg/kgBB/hari dan kelompok kontrol selama 12 minggu.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

2.1.1 Pengertian Formalin

Formalin adalah suatu larutan tidak berwarna, berbau tajam dan merupakan formaldehida tersaturasi dalam air. Formalin termasuk senyawa kimia yang berasal dari golongan aldehida dengan rumus CH_2O . Formalin awalnya disintesis oleh seorang kimiawan Rusia yang bernama Aleksandr Butlerov pada tahun 1859, tapi baru diidentifikasi oleh Hoffman pada tahun 1867. Pada temperatur ruangan, formalin diidentifikasi sebagai zat dengan tingkat kereaktifan tinggi dan mudah menguap. Formalin dapat mengiritasi saluran napas atas dan baunya dapat tercium meski dalam konsentrasi yang kecil.^{8,16}

Formalin adalah nama dagang dari formaldehid yang terdiri dari 37% formaldehid dan air hingga 100%. Formaldehid mempunyai berat molekul 30,03, berat jenis $1,08 \text{ kg/m}^3$ dan titik didih 96°C . Dengan berat molekul yang kecil, maka formaldehid mudah diabsorpsi dan mudah pula didistribusikan ke dalam tubuh. Formaldehid juga dapat bereaksi dengan gugus $-\text{NH}_2$ dari protein yang ada pada tubuh membentuk senyawa yang mengendap.¹⁷⁻¹⁸

Formaldehid dihasilkan dari pembakaran bahan yang mengandung karbon. Oleh karena itu, formaldehid dapat terkandung dalam asap pada

kebakaran hutan, knalpot mobil, dan asap tembakau. Dalam atmosfer bumi, formaldehid dihasilkan dari aksi cahaya matahari dan oksigen terhadap metana dan hidrokarbon lain yang ada di atmosfer. Formaldehid dalam kadar kecil sekali juga dihasilkan sebagai metabolit dari metabolisme serine, glisine, dan metanol.¹⁹

Dalam kehidupan sehari-hari, formalin biasanya digunakan untuk desinfektan, yaitu sebagai pembersih lantai, pakaian, gudang, dan kapal. Formalin dapat juga menjadi pembasmi serangga. Dalam dunia fotografi, formalin biasa digunakan untuk pengeras lapisan gelatin dan kertas. Dalam bidang pertanian, formalin merupakan bahan pembuatan pupuk urea. Pada bidang kecantikan, formalin digunakan untuk produk kosmetika dan pengeras kuku. Formalin juga sering digunakan sebagai bahan perekat kayu lapis. Dalam bidang kedokteran, formalin dikenal sebagai pengawet mayat. Dalam konsentrasi yang amat kecil (<1%), formalin digunakan sebagai pengawet untuk berbagai barang konsumen seperti pembersih rumah tangga, cairan pencuci piring, pelembut, perawat sepatu, sampo mobil, lilin dan pembersih karpet.^{10,20}

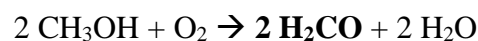
Menurut American Conference of Governmental and industrial Hygienist (ACGIH), ambang batas formalin yang masih dapat ditoleransi tubuh manusia yaitu 0,4 ppm. Sedangkan menurut National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), ambang batas formalin yaitu 0,016 ppm selama periode 8 jam dan 0,1 ppm selama periode 15 menit. Ambang batas formalin menurut International Programme on Chemical

safety (IPCS) adalah 0,1 mg/liter atau 0,2 mg/hr dalam air minum dan 1,5 mg – 14 mg/hari dalam makanan.¹⁰

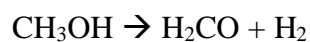
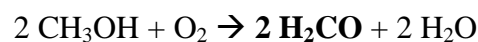
Dosis letal formalin peroral pada manusia adalah 1-2 ounces. Sumber lain mengatakan bahwa dosis letal untuk formalin peroral adalah 60-90ml formalin (317-475 mg/kg *formaldehid*). Sedangkan dosis letal formalin peroral pada tikus yang didapatkan dari penelitian pendahuluan adalah 800 mg/kgBB. Dosis letal pada tikus wistar inilah yang akan dijadikan acuan dosis formalin peroral tikus wistar pada penelitian kali ini.^{17,22}

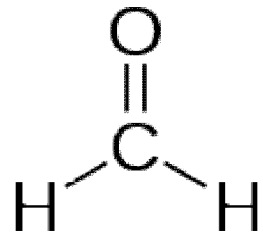
2.1.2 Sintesis Formalin

Pada bidang industri, formalin diproduksi dari oksidasi katalitik metanol. Katalis yang paling sering dipakai adalah logam perak atau campuran oksida besi dan molibdenum serta vanadium. Dalam sistem oksida besi (proses Formox), reaksi metanol dan oksigen terjadi pada suhu 250 °C dan menghasilkan formaldehid, berdasarkan persamaan kimia:⁸



Katalis yang menggunakan perak biasanya dijalankan dalam temperatur yang lebih tinggi, kira-kira 650 °C. dalam keadaan ini, akan ada dua reaksi kimia sekaligus dalam menghasilkan formaldehid, yaitu:⁸





Gambar 1. Rumus bangun formaldehid

(dikutip dari en.wikipedia.org/wiki/formaldehyde)

Setelah formaldehid tersintesis, kemudian 37 bagian formaldehid dicampurkan dengan air hingga 100 bagian misalnya 37 liter formaldehid dicampurkan dengan 63 liter air sehingga terbentuk larutan formalin.

Formaldehid merupakan aldehid yang lebih reaktif daripada bentuk-bentuk aldehida lainnya. Formaldehid merupakan elektrofil, bisa dipakai dalam reaksi substitusi aromatik elektrofilik dan senyawa aromatik serta bisa mengalami reaksi adisi elektrofilik dan alkena. Karena merupakan katalis basa, formaldehid bisa mengalami reaksi menghasilkan asam format dan metanol. Formaldehid bisa membentuk trimer siklik, 1,3,5-trioksan atau polimer linier polioksimetilen. Formaldehid bisa dioksidasi oleh oksigen atmosfer menjadi asam format, karena itu pada penyimpanannya larutan formalin harus ditutup serta diisolasi supaya tidak kemasukan udara.^{16,22-23}

2.1.3 Metabolisme Formalin

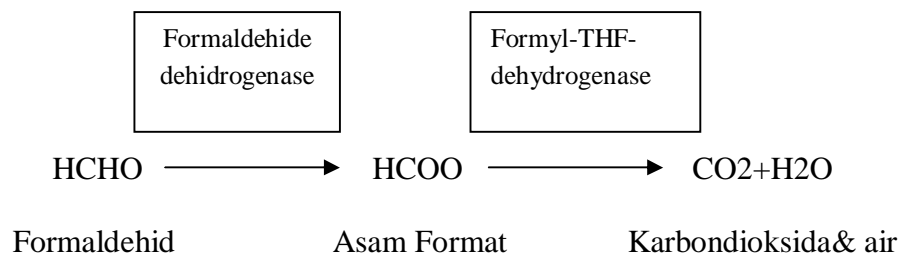
Formalin mudah diserap melalui saluran pencernaan karena formaldehid mudah larut dalam air. Setelah diabsorpsi, formaldehid

dengan cepat didistribusikan ke otot, usus, hati dan jaringan lain. Formaldehid akan dimetabolisme menjadi asam format ditempat kontakannya oleh enzim formaldehid dehidrogenase. Formaldehid sendiri merupakan metabolit intermediet yang normal di dalam sel pada metabolisme serin, glisin, metionin dan kolin di dalam tubuh manusia. Formaldehid juga dihasilkan sebagai metabolit intermediet pada metabolisme methanol. Waktu paruhnya di dalam plasma berkisar 1-1,5 menit. Formaldehid diekskresi dalam bentuk asam format yang dikeluarkan melalui ginjal dan dalam bentuk karbondioksida melalui paru-paru.²⁴⁻²⁷

Enzim formaldehid dehidrogenase adalah enzim oksidatif yang berada di sitosol dan mitokondria. Level tertinggi enzim ini berturut-turut terdapat di hepar, ginjal, paru-paru dan mukosa lambung. Paparan formalin mempengaruhi kerusakan sel hepar dengan cara merusak mitokondria sehingga menghambat metabolisme sel secara aerobik.²⁴⁻²⁷

Perubahan formaldehid menjadi asam format oleh enzim formaldehid dehidrogenase berlangsung dengan cepat. Namun asam format dimetabolisme secara lebih lambat, sehingga terakumulasi di dalam darah. Hal ini menyebabkan penurunan kadar bikarbonat dan penurunan pH dalam tubuh, dan mengakibatkan asidosis metabolik. Asam format selanjutnya akan dieliminasi menjadi bentuk 10-formyl-THF melalui enzim formyl-tetrahydrofolate-synthetase (formyl-THF-synthetase) yang berkombinasi dengan tetrahydrofolate (THF). 10-formyl-THF selanjutnya

diubah menjadi karbondioksida dan air melalui aksi katalitik oleh formyl-THF-dehydrogenase (F-THF-DH). Produk metabolit lain yang pernah dilaporkan di tikus adalah N,N'-bis(hidroksimetil)urea dan N-(hidroksimetil) urea. Semua metabolit dikeluarkan melalui urin, feses dan paru-paru.²⁴⁻²⁶



Gambar 2. Metabolisme Formalin

Asam format berlebih yang tidak termetabolisme juga menumpuk di dalam hepar. Akibatnya, asam format menghambat langsung kerja enzim sitokrom oksidase, sebuah enzim rantai transport elektron terminal pada mitokondria dan kompleks protein integral pada membran dalam mitokondria. Hasilnya, proses transport elektron terhambat. Akhirnya sintesis ATP terhambat dan sel mengalami kerusakan pada sitoskeleton dan membran selnya. Proses osmotik pada sel pun terhambat dan apabila jejas tidak dihilangkan, maka dapat terjadi degenerasi sel hepar bahkan kematian sel hepar / nekrosis.²⁵⁻²⁷

2.1.4 Dampak Formalin

Formalin mudah diserap oleh tubuh baik secara peroral dan inhalan, namun sangat sedikit dapat diserap melalui kulit. Sebagai zat iritan, formalin menyebabkan iritasi dan rasa terbakar pada mukosa kavum

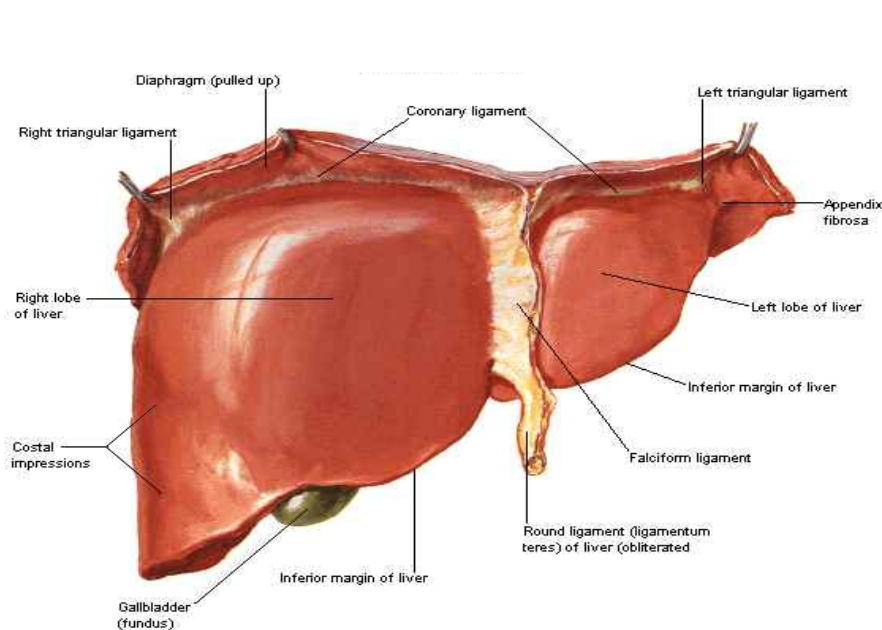
nasi, mulut dan saluran nafas bagian atas jika masuk secara inhalasi. Pada konsentrasi lebih tinggi bisa mempengaruhi bronkiolus dan alveoli serta menginduksi edema paru dan pneumonia. Sedangkan bila formalin tertelan, gejala yang timbul akan tergantung dosis dan tingkat konsentrasi formalin yang ditelan tersebut. Menelan formalin pada konsentrasi maupun dosis rendah tidak menimbulkan gejala namun dalam konsentrasi atau dosis tinggi menimbulkan gejala akut berupa iritasi dan rasa terbakar di mulut, kerongkongan, ulkus di saluran pencernaan, nyeri pada dada dan perut, mual, muntah, diare, perdarahan gastrointestinal, asidosis metabolik, gagal ginjal bahkan berakibat kematian.^{22,28-30}

Penelitian terhadap hewan coba yang pernah dilakukan menunjukkan efek keracunan akut, yaitu dengan gejala iritasi, rasa terbakar sepanjang saluran nafas, lemah, pusing, mual, muntah, sesak nafas, laring dan pulmonal edema, spasme laring dan bronchus, depresi sistem syaraf pusat dan coma. Efek pada organ berupa kerusakan mukosa trachea, karsinoma saluran napas, kerusakan sel hepar berupa vakuolisasi protoplasma, perubahan inti sel, infiltrasi leukositik fokal nekrosis, dan perlemakan. Gangguan lain misalnya gangguan dalam spermatogenesis, perubahan dalam morfologi testis dan lien, serta adanya perlemakan pada ginjal.^{18-19,30-31}

2.2 Hepar

2.2.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah organ viscera abdominis yang terbesar, menempati bagian superior cavum abdominis. Letaknya pada kwadran kanan atas abdomen, di regio hipokondrium kanan, epigastrium, dan sering sampai hipokondrium kiri sejauh linea lateralis kiri. Berat hepar orang dewasa sekitar 2% berat badan, berwarna coklat kemerahan dalam keadaan segar. Hepar secara anatomis dibagi menjadi 4 lobus, yaitu lobus dexter, lobus sinister, lobus caudatus, dan lobus quadratus. Hepar dilapisi kapsula jaringan ikat tipis yang disebut kapsula Glisson serta ditutupi oleh peritoneum. Daerah hilus (porta hepatis) merupakan tempat keluar masuknya pembuluh darah dan saluran empedu, yaitu tempat masuknya vena porta dan arteri hepatica propria, serta keluarnya duktus hepaticus kanan dan kiri. Bila vena porta dan arteri hepatica alirannya menuju porta hepatis, aliran vena hepatica adalah meninggalkan hepar untuk bermuara ke vena cava inferior. Vasa limfatikanya terdiri dari superficial dan profundus. Persarafan parenkim hepar oleh N.hepaticus yang berasal dari plexus hepaticus. Plexus ini memiliki serabut saraf simpatis dan parasimpatis N.X. Permukaan hepar sendiri mendapat persarafan dari nervi intercostales bawah.¹¹



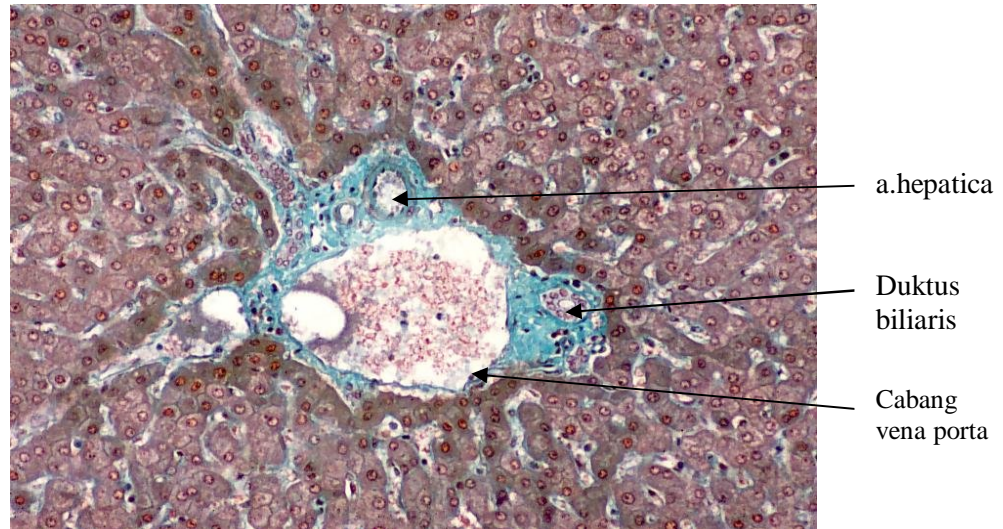
Gambar 3. Gambaran Makroskopis Hepar

(dikutip dari F.Netter, 2006)

2.2.2 Histologi Hepar

Jaringan ikat portal yang merupakan lanjutan dari kapsula, mengelilingi unit struktural utama hepar yang tersusun sebagai lobulus hepar. Lobulus hepar yang satu dengan yang lain dipisahkan oleh jaringan pengikat dan pembuluh darah. Pembuluh darah terdapat pada pertemuan sudut-sudut heksagonal dari lobulus tersebut, membentuk suatu bangunan bernama trigonum Kiernan/ area portal. Pada trigonum tersebut, terdapat saluran-saluran yaitu cabang arteri hepatica, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Ketiganya dikenal sebagai trias portal. Pada potongan melintang, lobulus hepar terlihat sebagai suatu struktur berderet yang tersusun radier dengan pusatnya yaitu v.sentralis, dan dipisahkan oleh sebuah celah yang disebut sinusoid hepar. Pada sinusoid terdapat sel Kupffer yang berfungsi

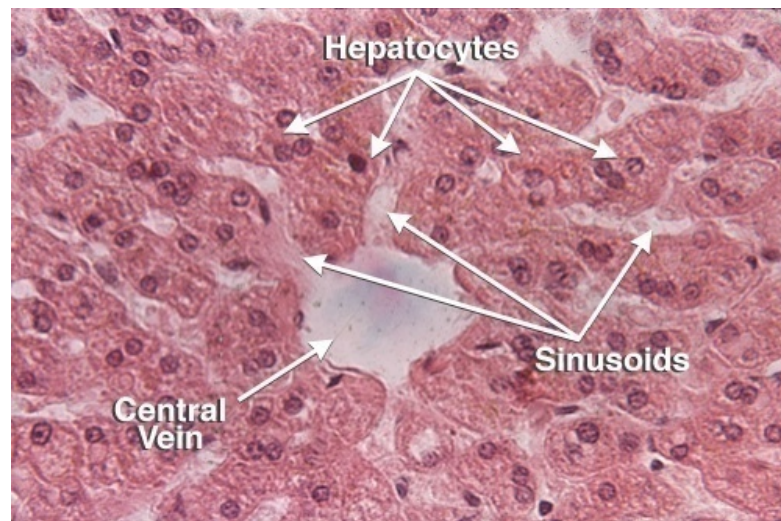
untuk memfagosit eritrosit tua, memakan hemoglobin, dan mensekresi sitokin.³²



Gambar 4. Trigonum Kiernan/ Area portal

(dikutip dari preparat histologi FK Undip)

Sel hepar atau hepatosit adalah sel yang berbentuk polihedral dengan permukaan 6 atau lebih, batas jelas, dan inti bulat di tengah. Hepatosit memiliki banyak mitokondria dan retikulum endoplasma halus sehingga sitoplasmanya berwarna eosinofilik. Di dalam sitoplasma terdapat lisosom, peroksisom, butir glikogen, dan tetesan lemak yang muncul terutama setelah puasa atau makan makanan berlemak.³²



Gambar 6. Hepatosit

(dikutip dari preparat histologi FK Undip)

Unit struktural terkecil hepar yang bernama lobulus hepar merupakan lobulus klasik hepar. Sedangkan unit fungsional utama hepar dinamakan lobulus portal. Lobulus portal terdiri dari bagian-bagian 3 lobulus klasik dengan duktus interlobularis sebagai pusatnya. Konsep terbaru mengenai unit fungsional terkecil adalah asinus hepar. Asinus hepar ialah bagian yang terletak di antara 2 vena sentralis dan memiliki cabang terminal arteri hepatica, vena porta, dan sistem duktuli biliaris.³²

2.2.3 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ parenkim terbesar. Itulah sebabnya hepar memiliki ragam fungsi yang banyak serta rumit. Bahkan hepar berperan pada hampir setiap fungsi metabolik tubuh, yaitu bertanggung jawab atas 500 aktivitas yang berbeda. Untungnya, hepar memiliki kapasitas cadangan yang besar, sehingga hanya dengan 10-20% jaringan yang berfungsi, hepar mampu mempertahankan kehidupan. Sebaliknya

kerusakan hepar secara total dalam 10 jam saja dapat menyebabkan kematian. Hepar memiliki kemampuan regenerasi, sehingga ketika sebagian hepar diambil karena rusakpun, hepar masih dapat membentuk jaringan baru. Bagaimana cara hepar bisa melakukan regenerasi masih belum dapat diketahui secara pasti, namun ada kemungkinan regenerasi dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti *hepatocyte growth factor*, TNF- α , dan interleukin-6.^{12,33}

Fungsi hepar antara lain sebagai berikut:

1) Pembentukan, metabolisme dan ekskresi empedu

Fungsi ini adalah fungsi utama dari hepar. Hepar mensekresi sekitar 1 liter empedu kuning tiap harinya. Garam empedu sendiri penting untuk absorpsi lemak di dalam usus halus. Setelah itu, sebagian besar garam empedu akan di reabsorpsi di ileum, kembali ke hepar, dan bisa kembali disekresi setelah dikonjugasi, atau di metabolisme menjadi bilirubin.¹²

2) Metabolisme karbohidrat

Hepar memegang peranan yang penting dalam metabolisme karbohidrat. Hepar mempertahankan glukosa darah normal, menyediakan energi untuk tubuh, dan menyimpan glukosa dalam bentuk glikogen.¹²

3) Metabolisme lemak

Hepar memegang peranan penting dalam sintesis kolesterol, dimana sebagian besar kolesterol akan diekskresi ke dalam empedu

sebagai asam kolat. Fungsi lain hepar adalah menghidrolisis trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein menjadi asam lemak dan gliserol.¹²

4) Metabolisme protein

Semua protein plasma kecuali gama globulin disintesis oleh hepar. Protein yang dimaksud antara lain albumin, faktor pembekuan (Faktor I, II, V, VII, VIII, IX, X). Sebagian besar degradasi asam amino juga dialami di hepar, dengan proses deaminasi atau pembuangan gugus NH_3 .¹²

5) Metabolisme steroid

Hepar menginaktifkan dan mensekresi aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron, dan testosteron.¹²

6) Detoksikasi

Hepar bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya untuk kemudian diekskresi lewat ginjal. Proses detoksifikasi memerlukan enzim-enzim hepar melalui proses oksidasi, reduksi, hidrolisis ataupun konyugasi. Biotransformasi pertama melalui jalur oksidasi memerlukan enzim sitokrom P-450. Tingkatan metabolik selanjutnya adalah konjugasi glukoronide atau sulfat atau glutation yang merupakan zat hidrofilik yang kemudian dilepaskan ke dalam plasma atau empedu oleh transport protein lokal di membran sel hepatosit yang kemudian diekresi ke ginjal atau saluran pencernaan.¹²

7) Penyimpanan vitamin dan mineral

Vitamin larut lemak (A,D,E,K), vitamin B₁₂, tembaga, dan besi disimpan di dalam hepar.¹²

2.2.4 Patologi Hepar

Lesi awal kerusakan hepar akibat bahan kimia (obat) ditandai dengan lesi biokimiawi. Lesi tersebut memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur pada hepar tersebut. Perubahan struktur hepar akibat obat yang dapat tampak pada pemeriksaan mikroskopis antara lain :

1) Radang

Radang adalah reaksi pertahanan tubuh melawan berbagai jejas. Secara mikroskopis tampak kumpulan sel – sel fagosit berupa monosit dan sel polimorfonuklear.³⁵

2) Fibrosis

Fibrosis terjadi apabila kerusakan sel tanpa disertai regenerasi sel yang cukup. Secara makroskopis dapat berupa atrofi atau hipertrofi, tergantung kerusakan mikroskopisnya.³⁵

3) Degenerasi

Degenerasi dapat terjadi pada inti maupun sitoplasma. Degenerasi yang dapat terjadi adalah :

a) Degenerasi Parenkimatosia

Degenerasi parenkimatosia sering disebut juga degenerasi albuminosa, degenerasi keruh, dan *cloudy swelling*. Degenerasi parenkimatosia merupakan degenerasi paling ringan serta

reversible, ditandai dengan pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma karena endapan protein. Hanya sebagian kecil dari struktur sel yang mengalami kerusakan, yaitu mitokondria dan retikulum endoplasma. Kerusakan ini mengakibatkan oksidasi sel terganggu sehingga sel yang sakit tidak dapat mengeliminasi air. Pada akhirnya air banyak tertimbun di dalam sel.³⁴⁻³⁵

b) Degenerasi Hidropik

Degenerasi hidropik disebut juga ballooning degeneration karena sel hepar dapat mengalami pembengkakan sampai dua kali normal. Sifat degenerasi ini masih reversibel, hanya saja memiliki derajat yang lebih parah daripada degenerasi parenkimatosa. Degenerasi ini memberikan gambaran vakuola dari ukuran kecil hingga besar yang berisi air dan tidak mengandung lemak.³⁴⁻³⁵

4) Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup, ditandai dengan perubahan morfologi sebagai tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas. Inti sel yang mati dapat terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti bisa menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik (kariolisis). Sel hepar yang mengalami nekrosis dapat meliputi daerah yang luas atau daerah yang kecil.³⁴⁻³⁵

Berdasarkan lokasi dan luas nekrosis dapat dibedakan menjadi berikut :

- a) Nekrosis fokal, adalah kematian sebuah sel atau kelompok kecil sel dalam satu lobus.³⁴⁻³⁵
- b) Nekrosis zonal, adalah kerusakan sel hepar pada satu lobus. Nekrosis zonal dapat dibedakan menjadi nekrosis sentral, midzonal dan perifer.³⁴⁻³⁵
- c) Nekrosis masif yaitu nekrosis yang terjadi pada daerah yang luas.³⁴⁻³⁵

Sedangkan berdasarkan bentuknya nekrosis dapat digolongkan antara lain :

- a) Nekrosis koagulativa, terjadi akibat hilangnya fungsi sel secara mendadak yang diakibatkan hambatan kerja sebagian besar enzim.³⁴⁻³⁵
- b) Nekrosis likuefaktif, terjadi karena pencairan jaringan akibat enzim hidrolitik yang dilepaskan sel yang mati.³⁴⁻³⁵
- c) Nekrosis kaseosa, merupakan bentuk campuran dari likuefaktif dan koagulatif. Secara makroskopik teraba kenyal seperti keju. Mikroskopik terlihat masa amorf yang eosinofilik.³⁴⁻³⁵

Untuk mengukur perubahan histopatologis sel hepar, maka digunakan sistem skoring yang mengacu pada sistem skoring *Manja Roenigk* yang dipublikasikan pada jurnal *Histological Patterns in Drug Induced Liver Diseases* sebagai berikut:³⁶

- 1) Nilai 1 = sel hepar normal
- 2) Nilai 2 = sel hepar degenerasi parenkimatosia
- 3) Nilai 3 = sel hepar degenerasi hidropik
- 4) Nilai 4 = sel hepar nekrosis

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kerusakan hepar antara lain:

a) Obat

Ada beberapa jenis obat yang dalam metabolismenya merusak sel hepar. Kerusakan yang ditimbulkan berupa lesi ultrastruktur atau biokimia tanpa peradangan dan nekrosis sel (kolestatik intrahepatik) sampai peradangan nyata dari bentuk ringan sampai nekrosis sel hepar yang luas. Kerusakan pada hepar akibat obat bisa diakibatkan reaksi hepar yang berulang, misalnya oleh isoniazid, asetaminofen, aspirin, metotreksat, daunorubisin, tetrasiklin, kloramfenikol, metildopa, metiltestosteron, oral kontrasepsi dan estrogen. Kerusakan hepar juga bisa diakibatkan hipersensitivitas, misalnya pada klorpromazin, halotan, rifampisin, fenilbutazon, asam *p*-aminosalisilat, oksifenistatin dan metildopa.³⁷

b) Dosis Paparan

Semakin besar dosis paparan, maka semakin banyak zat metabolit yang beredar maka semakin besar kerusakan sel yang terjadi.^{15,38}

c) Nutrisi

Individu yang mengalami malnutrisi akan lebih rentan mengalami kerusakan hepar dibandingkan dengan individu normal. Keadaan dimana konsumsi lemak berlebih bersamaan dengan konsumsi zat toksik juga akan mempengaruhi sel hepar. Sel hepar akan memprioritaskan untuk mengeliminasi zat toksik sehingga mengakibatkan metabolisme lemak terganggu dan tertimbun di dalam sel hepar.³⁵

d) Usia

Pada neonatus, maturasi sel-sel hepar belum sempurna sehingga metabolisme zat di hepar pun belum sempurna. Hal ini dapat menimbulkan potensi terjadinya intoksikasi. Pada usia lanjut keadaan fisiologi tubuh telah mengalami kemunduran, sehingga aliran darah pada hepar menurun. Akibatnya, metabolisme zat pun menjadi terganggu.³⁹

e) Penyakit

Penyakit-penyakit yang terjadi pada hepar seperti hepatitis, gangguan metabolisme herediter seperti sindroma Reye dan penyakit wilson, serta kolestatis akan mempengaruhi metabolisme hepar, terutama dalam hal biotransformasi zat.³⁷

f) Alkohol

Konsumsi alkohol yang berlebihan dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan perubahan pada sel hepar

yaitu perlemakan hepar, hepatitis alkoholik dan sirosis hepatis. Zat antara metabolisme alkohol yaitu asetaldehid dapat menyebabkan kelainan morfologik sel hepar dengan merusak membran sel serta sitoskeletonnya. Selain itu, alkohol dapat menyebabkan perlemakan pada hepar.³⁷

g) Zat toksik

Beberapa zat dilaporkan sebagai bahan toksik bagi hepar, antara lain etanol, bromobenzen, dan karbon tetraklorida. Zat-zat tersebut dapat memicu terjadinya perlemakan mikroversikuler, nekrosis sentrilobulus dan atau nekrosis masif pada hepar.³⁷

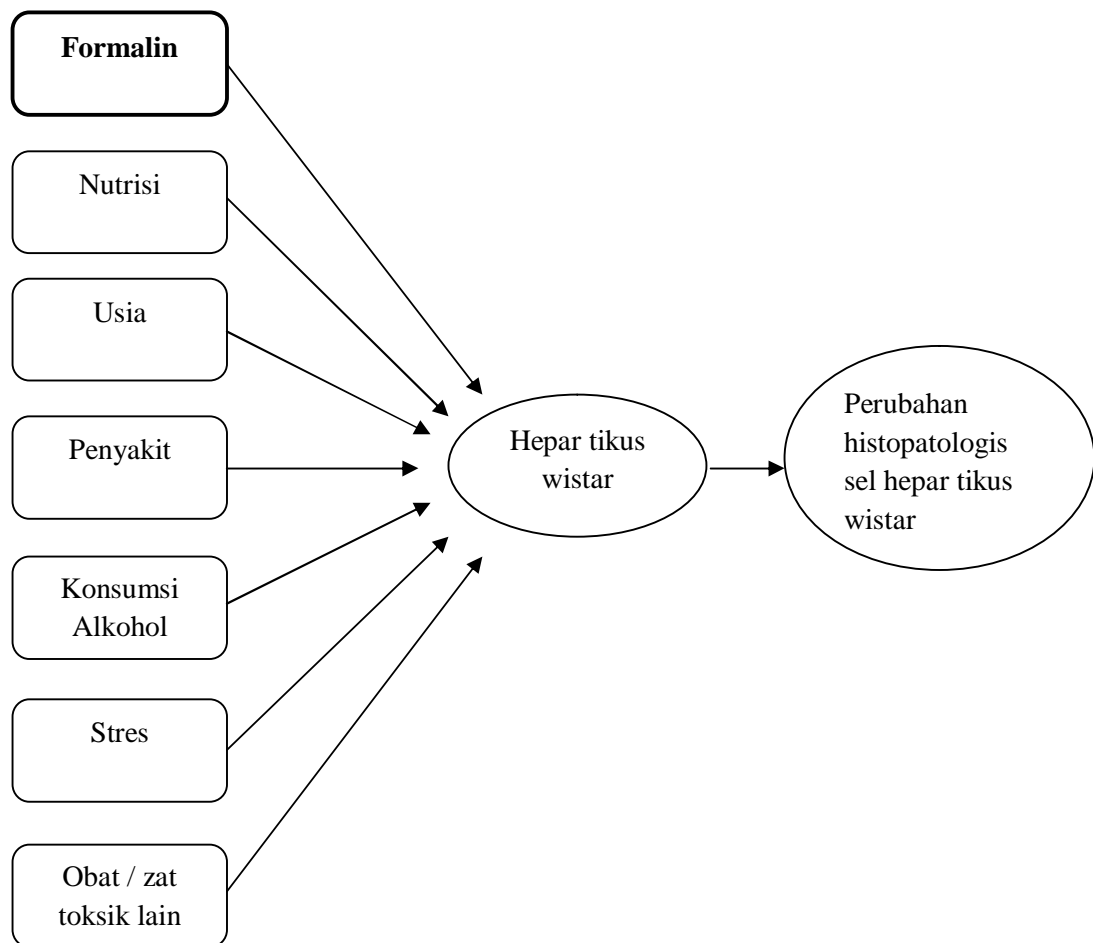
h) Stres psikologis

Selama stres terjadi peningkatan hormon kortisol yang disekresi oleh kelenjar adrenal. Hormon ini menekan kerja dan proliferasi leukosit. Hasilnya, imunitas tubuh menurun dan mudah terserang penyakit. Saat stres juga terjadi penekanan sel NK sehingga sel NK sulit masuk ke dalam hepar dalam fungsinya untuk membunuh virus dan benda asing. Akibatnya, hepar akan lebih mudah terserang penyakit.⁴⁰

BAB 3

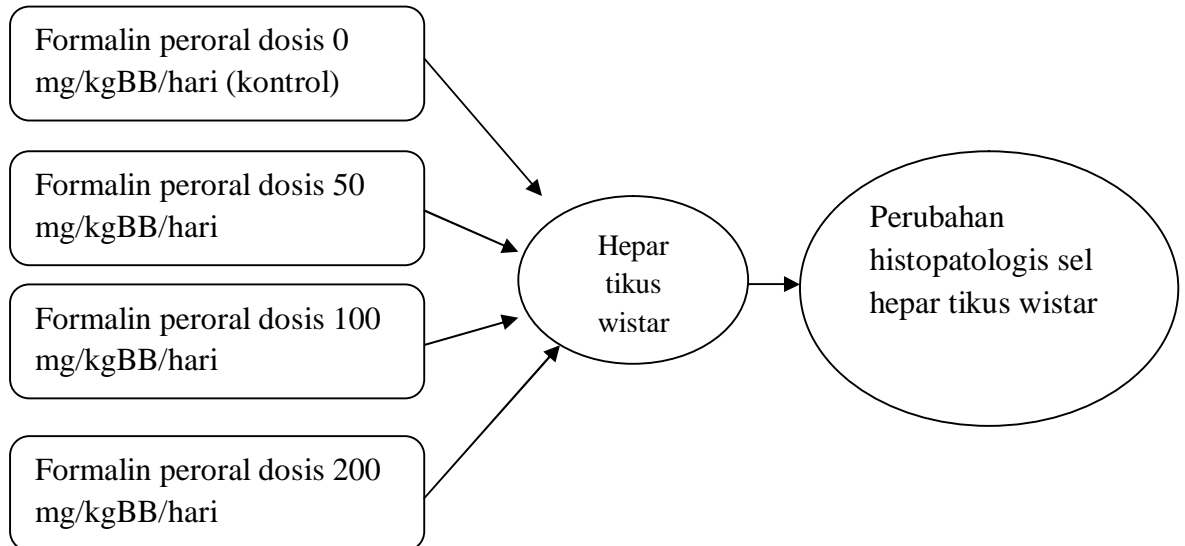
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

Kerangka konsep didapatkan seperti gambar di atas karena adanya beberapa keterbatasan dalam penelitian ini, antara lain :

- 1) Pengaruh nutrisi ditiadakan dalam penelitian karena semua tikus diberi makan dan minuman yang sama sehingga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna.
- 2) Pengaruh usia ditiadakan dalam penelitian karena tikus yang dipilih sebagai sampel berusia sama yaitu antara 3 bulan.
- 3) Pengaruh penyakit hepar ditiadakan dalam penelitian karena tikus yang dipilih sebagai sampel adalah tikus yang sehat dengan kriteria sehat pada umumnya, berat badan sesuai umur (antara 150 gram sampai 200 gram), aktifitas baik dan nafsu makan baik.

- 4) Pengaruh konsumsi alkohol ditiadakan dalam penelitian karena pada penelitian ini tidak memberikan paparan ataupun manipulasi alkohol.
- 5) Pengaruh stres ditiadakan dalam penelitian karena sulit untuk mengukur tingkat stres psikologis tikus. Pada penelitian ini semua tikus diperlakukan sama dan diamati dari awal penelitian sampai akhir sehingga dianggap memiliki tingkat stres psikologis yang sama.
- 6) Pengaruh obat atau zat toksik lain ditiadakan dalam penelitian karena pada penelitian ini tidak memberikan paparan ataupun manipulasi obat ataupun zat kimia selain formalin.

3.3 Hipotesis

3.1.1. Hipotesis Mayor

Terdapat perbedaan gambaran histopatologis hepar tikus wistar terhadap pemberian formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

3.1.2. Hipotesis Minor

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

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

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup ilmu dalam penelitian ini adalah Ilmu Kedokteran Forensik dan Ilmu Patologi Anatomi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

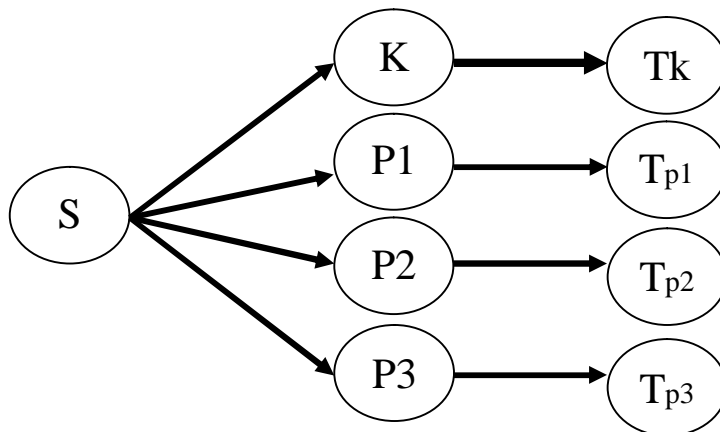
Adaptasi tikus wistar, perlakuan paparan dengan formalin peroral dosis 50, 100, 200 mg/ kgBB/ hari yang diminumkan dengan cara disonde selama 12 minggu, dan pembuatan blok parafin sampai pengecatan jaringan telah dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Sedangkan interpretasi hasil histopatologi sampel hepar telah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penelitian ini dilaksanakan selama 12 minggu, yakni mulai April 2012 hingga Juli 2012.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba tikus wistar sebagai objek percobaan.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Skema rancangan penelitian

Keterangan :

S = kelompok sampel

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

P1 = kelompok perlakuan 1 (formalin peroral 50 mg/kgBB)

P2 = kelompok perlakuan 2 (formalin peroral 100 mg/kgBB)

P3 = kelompok perlakuan 3 (formalin peroral 200 mg/kgBB)

Tk = tes kelompok kontrol

Tp1 = tes kelompok perlakuan 1

Tp2 = tes kelompok perlakuan 2

Tp3 = tes kelompok perlakuan 3

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah tikus wistar jantan.

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah tikus wistar jantan keturunan murni, umur 3 bulan, berat badan 150 – 200 gram, sehat, dan tidak ada

abnormalitas anatomi, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES).

4.4.3 Sampel

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Keturunan murni
- 3) Sehat
- 4) Anatomi tampak normal
- 5) Berat badan 150– 200 gram
- 6) Umur 3 bulan

4.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus sakit dan terlihat tidak aktif sewaktu mendapat perlakuan
- 2) Tikus mati sewaktu mendapat perlakuan

4.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel adalah dengan menggunakan *simple random sampling*. Randomisasi dilakukan pada tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta telah diadaptasi pakan selama 7 hari.

4.4.5 Besar Sampel

Berdasarkan WHO, maka besar sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 tikus. Karena akan dilakukan percobaan terhadap 4 kelompok, maka total tikus yang dibutuhkan adalah 20 ekor.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formalin peroral dosis bertingkat.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologis hepar 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 yang digunakan adalah formalin yang mengandung 37% formaldehid. Formalin diberikan per oral dengan dosis 0mg/kgBB/hari, 1/16 dosis lethal yaitu 50 mg/kgBB (0,019 -0,025 ml/hari), 1/8 dosis lethal yaitu 100 mg/kgBB (0,038 -0,050 ml/hari), dan 1/4 dosis lethal yaitu 200 mg/kgBB(0,075 -0,100 ml/hari). Cara memasukkan formalin peroral adalah dengan mengukur volume formalin menggunakan spuit 1 cc (tuberkulin) sebanyak 0,019 - 0,025 ml, 0,038 -0,050 ml, dan 0,075 - 0,100 ml yang kemudian dicampur dalam air minum sampai 3 ml. Air minum tersebut kemudian dimasukkan ke traktus digestivus dengan cara disonde. Dosis letal yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu 800 mg/kgBB	K = 0 mg/hari P1 =50 mg/kgBB P2 =100mg/kgBB P3 = 200 mg/kgBB	Rasio

Tergantung	Gambaran histopatologis hepar tikus wistar	Preparat histopatologis hepar tikus wistar dibuat menggunakan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE), kemudian diamati gambaran histopatologisnya di daerah sekitar vena sentralis dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x pada 4 lapangan pandang masing-masing 25 sel. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar dinilai dengan menghitung tingkat kerusakan tingkat hepatosit berdasarkan skor derajat perubahan struktur histopatologis sel hepar menurut <i>Manja Roenigk</i> sebagai berikut: ³⁶	Skoring derajat histopatologis hepar yang digunakan berdasarkan uji skoring penelitian <i>Histopatology Liver Induced Drugs Manja Roenigk</i> . ⁴¹ Uji ini dilakukan dengan membuat skor pada tiap kerusakan sel hepar. 1 = Normal 2 = Degenerasi parenkimatosa 3 = Degenerasi hidropik 4 = Nekrosis	Interval
		<ol style="list-style-type: none"> 1) Normal : tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dinding sel berbatas tegas. 2) Degenerasi parenkimatosa: pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh bergranula. 3) Degenerasi hidropik: tampak sel sembab, akumulasi cairan dan terdapat banyak vakuola. 4) Nekrosis : kerusakan permanen sel atau kematian sel, terdapat 3 bentuk yaitu : <ol style="list-style-type: none"> a) Piknotik : tampak inti sel kecil berwarna gelap (<i>basofilik</i>) dan sitoplasma sel kemerahan. b) Karioreksis : sel mengecil, kontur sel ireguler, fragmentasi inti sel menjadi beberapa bagian kecil. c) Kariolisis : inti sel hilang 		

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Asam pikrat
- 3) Formalin 100%
- 4) Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
 - a) Larutan *Bouin*
 - b) Larutan buffer formalin 10%
 - c) Parafin
 - d) Albumin
 - e) *Hematoksin 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 Pemberi Perlakuan

- 1) Kandang tikus
- 2) Sonde
- 3) Spuit 1cc (tuberkulin)
- 4) Spuit 5 cc

4.7.2.2 Alat Autopsi

- 1) Skalpel
- 2) Pinset

- 3) Gunting
- 4) Botol untuk menyimpan organ

4.7.2.3 Alat Pemeriksaan Histopatologis

- 1) Mikroskop cahaya
- 2) *Object glass* dan *deck glass*
- 3) Kamera digital

4.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer, yaitu data berasal dari hasil penelitian jumlah perubahan histopatologis sel hepar tikus wistar dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi paparan formalin peroral dosis bertingkat.

4.7.4 Cara Kerja

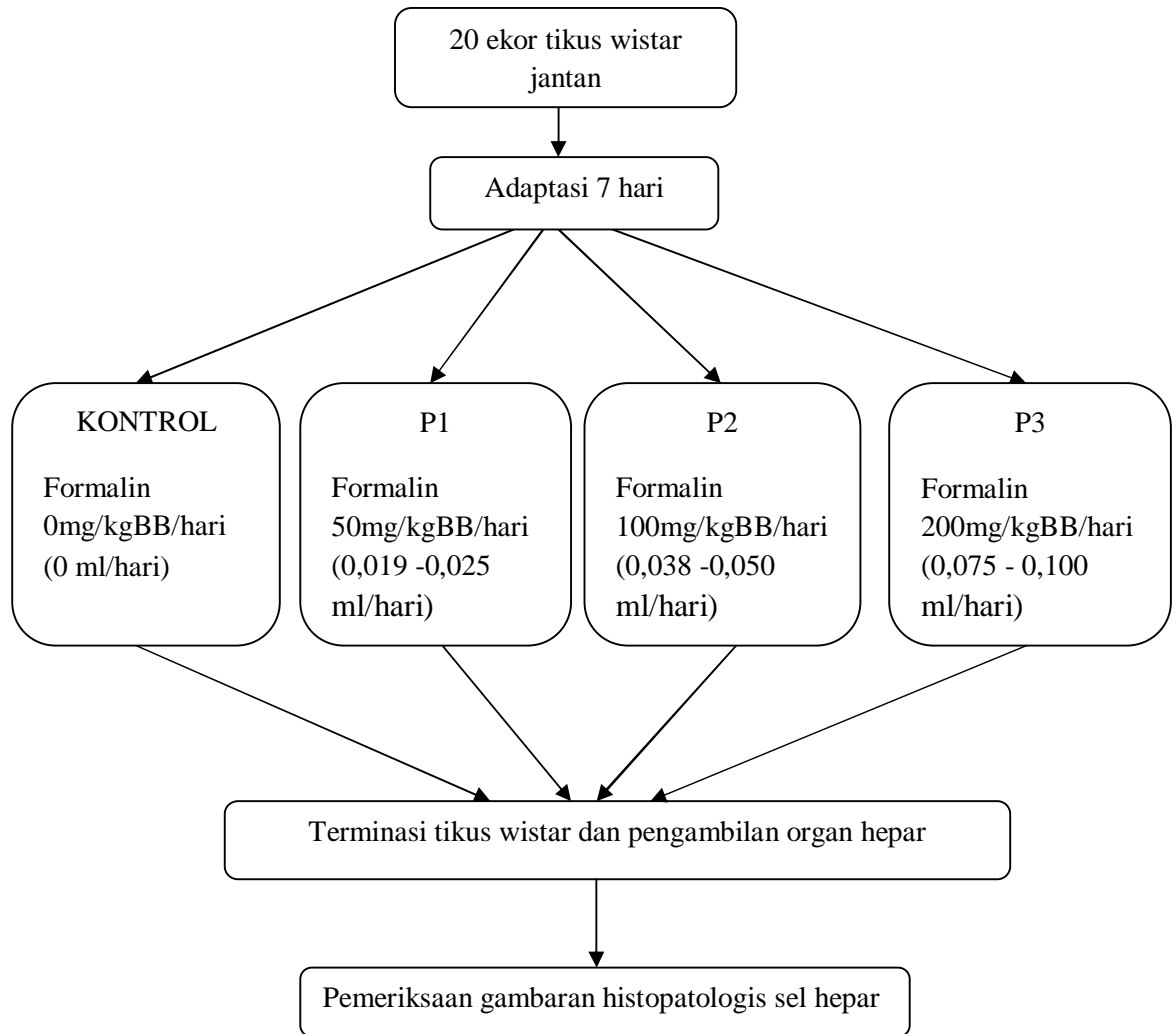
- 1) Adaptasi dilakukan terhadap 20 ekor tikus wistar jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*.
- 2) Pada hari ke-8, tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak (*simple random sampling*). Kemudian tikus wistar ditandai dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala dan punggung.
- 3) Berat badan masing-masing tikus ditimbang.
- 4) Mulai hari ke-8 sampai hari ke-84 pada kelompok kontrol (K) diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* tanpa diberi

formalin peroral. Kelompok P1 diberikan formalin dengan dosis 50 mg/kgBB/hari (0,019 - 0,025 ml/hari) yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan perorale sekali sehari, pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok P2 diberikan formalin dengan dosis 100 mg/kgBB/hari (0,038 - 0,050 ml/hari) yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml sekali sehari, pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok P3 diberikan formalin dengan dosis 200 mg/kgBB/hari (0,075 - 0,100 ml/hari) yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml sekali sehari, pakan standar dan minum *ad libitum*.

- 5) Hari ke-84 tikus wistar dimatikan dengan cara dislokasi leher.
- 6) Dilakukan autopsi pada masing-masing tikus dan organ hepar diambil. Sampel hepar tersebut kemudian diukur dan ditimbang, diamati secara makroskopik selanjutnya diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet buffer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian hepar dan 9 bagian buffer formalin 10 %.
- 7) Tabung berisi sampel hepar tikus wistar diletakkan ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis guna mengolahnya mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Dari setiap sampel hepar dibuat preparat dengan potongan longitudinal. Preparat tersebut akan dibaca 100 sel dalam empat lapangan pandang dengan perbesaran 400x di daerah sekitar vena

sentralis. Sasaran yang dibaca adalah perubahan histopatologis sel hepar tikus wistar dengan penilaian *Manja Roenigk*.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat kurva distribusi datanya dengan uji *Shapiro Wilk*. Bila kurva distribusi datanya normal, dilakukan uji beda dengan *One Way Anova*, jika $p < 0,05$

maka dilanjutkan dengan uji analisis *Post Hoc*. Bila distribusi datanya tidak normal, atau varians data tidak sama, maka data ditransformasi. Jika setelah ditransformasi distribusi data tetap tidak normal, maka dilakukan uji beda dengan menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*. Jika didapatkan $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik non parametrik *Mann Whitney*

- a) Jika $P < 0,05$ maka ada perbedaan yang bermakna
- b) Jika $P > 0,05$ maka tidak ada perbedaan yang bermakna

Jika didapatkan perbedaan yang bermakna, maka ada hubungan antara formalin dengan perubahan gambaran histopatologis hepar tikus wistar.

4.10 Etika penelitian

Ethical clearance telah didapat 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 coba diberi makan dan minum *ad libitum*. Untuk perlakuan, formalin dosis bertingkat dicampur dengan air hingga 3ml kemudian dimasukkan melalui oral dengan cara peronde. Hewan coba diterminasi dengan cara dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan. Biaya penelitian ditanggung oleh peneliti.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

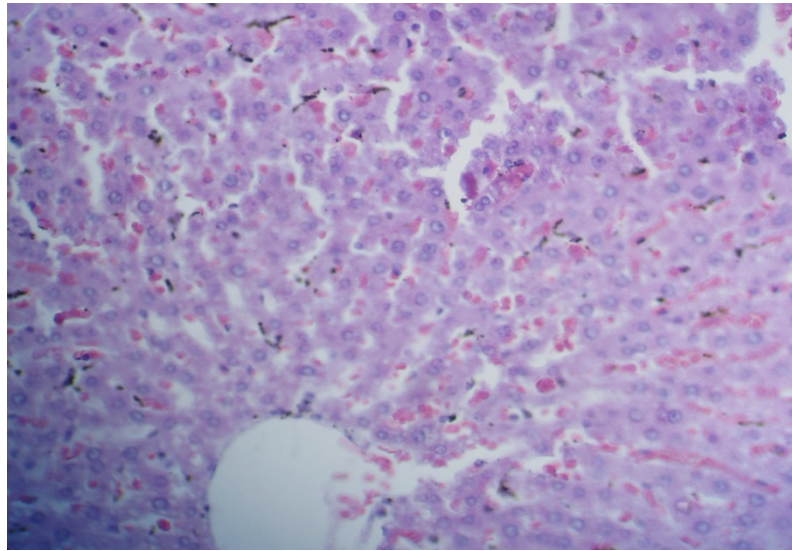
5.1 Analisis Sampel

Penelitian telah dilakukan menggunakan sampel sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K (kontrol), P1 (perlakuan 1) yang diberi dosis formalin peroral 0,019 -0,025 ml/hari, P2 (perlakuan 2) yang diberi dosis formalin peroral 0,038 -0,050 ml/hari, dan P3 (perlakuan 3) yang diberi dosis formalin peroral 0,075 - 0,100 ml/hari. Jumlah sampel pada masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus wistar yang ditentukan secara acak (*simple random sampling*). Tikus wistar diberikan formalin melalui oral dengan cara perorale. Sebelum penelitian, dilakukan adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari. Penelitian dilaksanakan selama 12 minggu, setelah itu semua tikus wistar diterminasi dengan dislokasi leher. Kemudian organ hepar tiap sampel diambil untuk dibuat sediaan preparat histopatologis dan dilakukan pengamatan sebanyak 25 sel hepar / lapangan pandang dalam 4 lapangan pandang dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x.

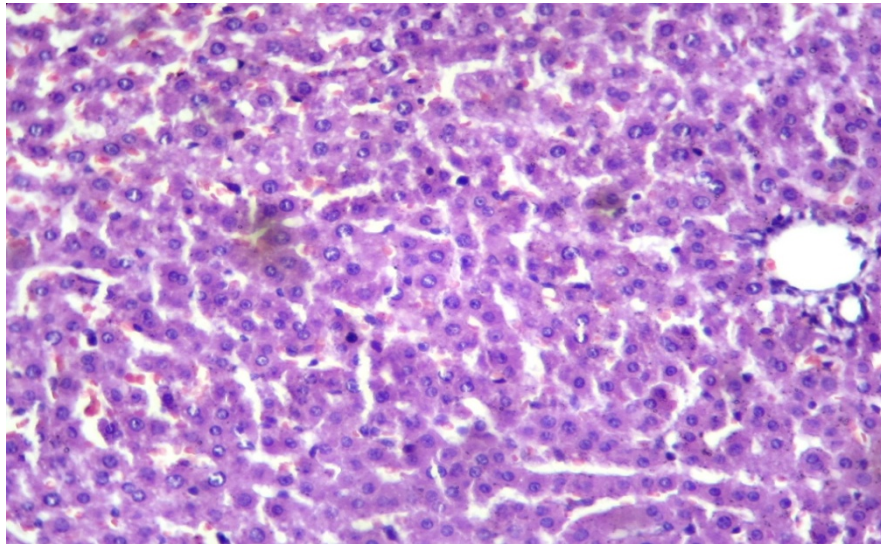
Pengamatan histopatologis telah dilakukan bersama-sama dengan dokter konsultan patologi anatomi. Untuk menghindari bias, analisis hasil dilakukan dengan teknik *double blind*, di mana kedua pemeriksa tidak mengetahui tiap-tiap anggota kontrol dan perlakuan. Kemudian hasil ditulis dalam formulir untuk dianalisa lebih lanjut dengan program komputer.

5.2 Analisis Deskriptif

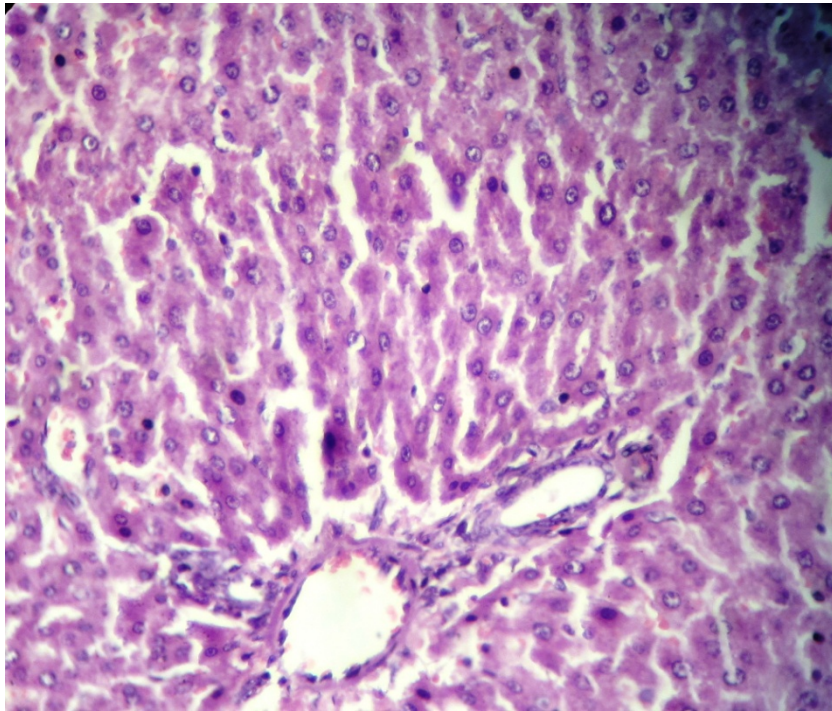
Gambar 10-14 menyajikan hasil pengamatan mikroskopis sel hepar pada kelompok K, P1, P2, P3.



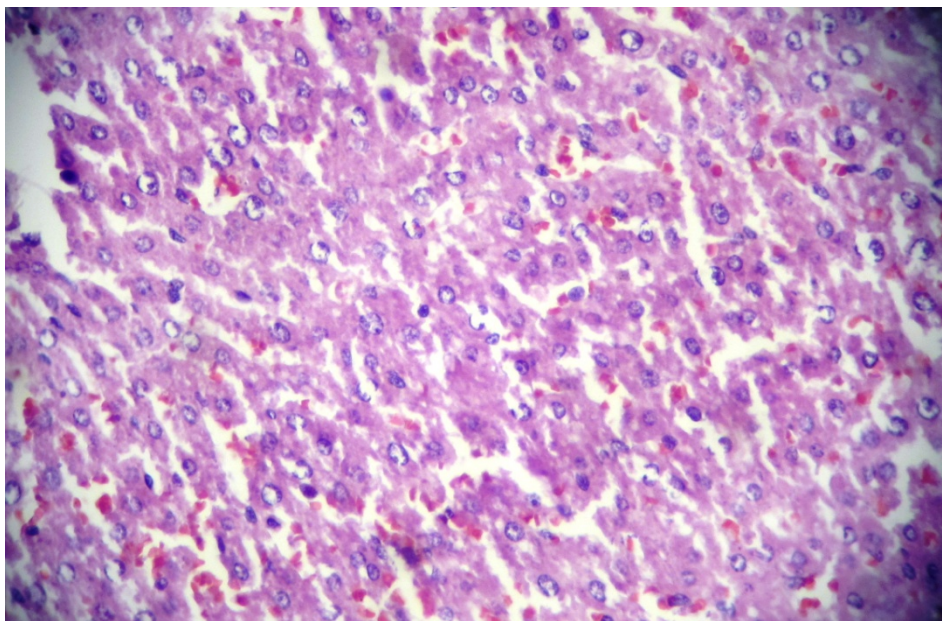
Gambar 10. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok kontrol dengan perbesaran 400x



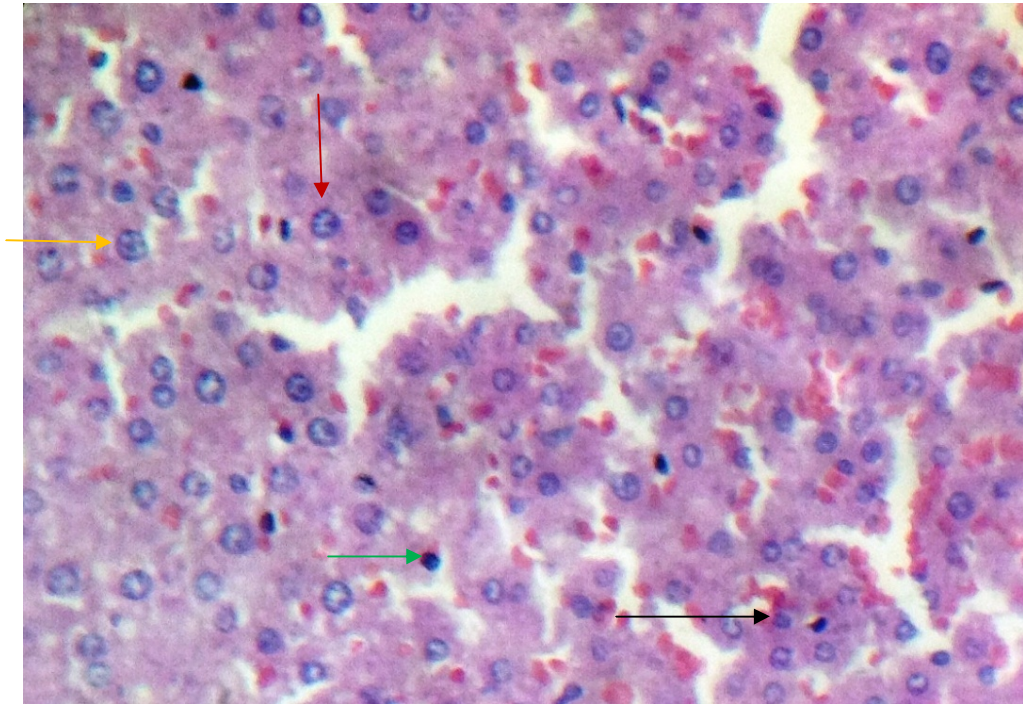
Gambar 11. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P1 dengan perbesaran 400x



Gambar 12. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P2
dengan perbesaran 400x



Gambar 13. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P3
dengan perbesaran 400x



Gambar 14. Gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok P3 dengan perbesaran 400x

Keterangan :

- ▶ Sel hepar normal
- ▶ Sel hepar degenerasi parenkimatosa
- ▶ Sel hepar degenerasi hidropik
- ▶ Sel hepar nekrosis

Tabel 4 menampilkan hasil skoring pembacaan preparat histopatologi hepar tikus wistar dalam 4 lapangan pandang yang dihitung 25 sel tiap lapangan pandang pada setiap kelompok perlakuan menurut kriteria *Manja Roenigk*.

Tabel 4. Hasil skoring pengamatan gambaran histopatologis hepar tikus wistar

Kelompok	Sel normal		Deg.parenkimatosa		Deg. Hidropik		Nekrosis		Total		Rata2	
	Σ	Skor	Σ	Skor	Σ	Skor	Σ	Skor	Σ	Skor		
K	1	88	88	7	14	3	9	0	0	100	111	1,11
K	2	98	98	2	4	0	0	0	0	100	102	1,02
K	3	95	95	4	8	1	3	0	0	100	106	1,06
K	4	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1,00
K	5	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1,00
P1	1	60	60	18	36	6	18	12	48	100	162	1,62
P1	2	56	56	28	56	13	39	3	12	100	163	1,63
P1	3	69	69	13	26	12	36	6	24	100	155	1,55
P1	4	58	58	18	36	14	42	10	40	100	176	1,76
P1	5	78	78	11	22	5	15	6	24	100	139	1,39
P2	1	43	43	20	40	26	78	10	40	100	201	2,01
P2	2	49	49	20	40	11	33	20	80	100	202	2,02
P2	3	35	35	22	44	32	96	11	44	100	219	2,19
P2	4	34	34	35	70	26	78	5	20	100	202	2,02
P2	5	27	27	37	74	17	51	19	76	100	228	2,28
P3	1	3	3	36	72	38	114	23	92	100	281	2,81
P3	2	10	10	17	34	11	33	62	248	100	325	3,25
P3	3	43	43	24	48	15	45	18	72	100	208	2,08
P3	4	32	32	29	58	19	57	20	80	100	227	2,27
P3	5	8	8	33	66	34	102	25	100	100	276	2,76

Keterangan:

Skor = Σ x faktor pengali

Analisis deskriptif gambaran histopatologis sel hepar tikus wistar dapat dilihat dari tabel di bawah ini:

Tabel 5. Analisis deskriptif sel hepar tikus wistar

Kelompok	Mean	Standar deviasi	Maksimum	Minimum
Kontrol	1,04	0,05	1,11	1,00
Perlakuan 1	1,59	0,14	1,76	1,39
Perlakuan 2	2,10	0,12	2,28	2,01
Perlakuan 3	2,63	0,47	3,25	2,08

Berdasarkan tabel 5, rerata tertinggi perubahan gambaran histopatologis hepar tikus wistar terdapat pada kelompok P3 (2,63) sedangkan rerata terendah terdapat pada kelompok kontrol (1,04), dimana terdapat peningkatan rerata jumlah sel hepar tikus wistar yang mengalami perubahan histopatologis dimulai dari kelompok kontrol sampai dengan kelompok P3.

5.3 Analisis Analitik

Dilakukan uji normalitas *Saphiro-wilk* pada data hasil skoring perubahan histopatologis hepar tikus wistar dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*

No	Kelompok	<i>p</i>
1	Kontrol	0,243
2	Perlakuan 1	0,833
3	Perlakuan 2	0,071
4	Perlakuan 3	0,753

Dari tabel di atas, didapatkan distribusi data normal ($p > 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan menguji homogenitas varians data. Didapatkan $p = 0,002$ yang berarti varians data tidak homogen. Oleh karena itu, data harus ditransformasi terlebih dahulu. Setelah ditransformasi, nilai $p > 0,05$ (0,214) yang berarti varians data normal.

Setelah distribusi data dan varians data normal, kemudian dilakukan uji *One-Way Anova*. Hasil uji *One-Way Anova* adalah $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Artinya, paling tidak terdapat perbedaan gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan

yang bermakna, maka dilakukan uji *Post Hoc*. Hasil uji *Post Hoc* untuk melihat perbedaan antar kelompok dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Nilai p pada uji *Post Hoc* tiap kelompok

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
Perlakuan 1	0,000*		
Perlakuan 2	0,000*	0,000*	
Perlakuan 3	0,000*	0,000*	0,016*

*Ada perbedaan yang bermakna bila $p < 0,05$

Pada uji *Post Hoc* antar kelompok didapatkan perbedaan gambaran histopatologis hepar yang bermakna antara kelompok kontrol dengan seluruh kelompok perlakuan ($p = 0,000$), antara kelompok P1 dengan P2 ($p = 0,000$), dan antara kelompok P1 dengan P3 ($p = 0,000$). Sedangkan pada kelompok P2 dan P3 juga terdapat perbedaan yang bermakna dimana $p = 0,016$.

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini terjadi perubahan gambaran histopatologi sel hepar pada kelompok kontrol dan semua kelompok perlakuan, yaitu dosis 0,019 - 0,025 ml/hari (P1), 0,038 - 0,050 ml/hari (P2), dan 0,075 - 0,100 ml/hari (P3).

Secara teoritis seharusnya kelompok kontrol tidak mengalami perubahan histopatologis. Namun pada penelitian ini, ternyata terjadi perubahan histopatologis berupa degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik. Perubahan ini dapat terjadi diakibatkan faktor-faktor selain formalin, antara lain faktor stres dan faktor imunitas tikus wistar. Stes dapat meningkatkan sekresi dari hormon kortisol, dimana hormon ini akan menekan laju leukosit untuk menempel ke daerah infeksi, salah satunya di daerah hepar. Selain itu, kortisol juga menghambat proliferasi mastosit, neutrofil, eosinofil, sel T dan sel B. Dengan berkurangnya kemampuan leukosit, maka imunitas tubuh akan berkurang dan mudah terserang penyakit.⁴⁰

Pada kelompok perlakuan yang diberi formalin peroral dosis bertingkat, terjadi perubahan histopatologis yang nyata sesuai dengan hipotesis yang telah disampaikan penulis. Perubahan yang terjadi meliputi degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Formalin peroral yang masuk ke hepar akan diubah dengan cepat menjadi asam format melalui enzim formaldehid dehidrogenase yang berada di mitokondria dan sitosol sel hepar. Kemudian asam format akan diekskresi lewat ginjal dalam bentuk asam format atau diubah

menjadi karbondioksida dan air untuk selanjutnya diekskresi melalui paru-paru. Namun ekskresi dan metabolisme asam format tersebut merupakan reaksi yang lambat, sehingga terjadi penumpukan asam format di dalam hepar. Hal tersebut akan menghambat proses transport elektron di hepar. Sintesis ATP terhambat dan terjadi hipoksia sel hepar. Dengan paparan yang rutin, maka kerusakan hepar tidak dapat dihindari, seperti yang terjadi pada kelompok perlakuan.²⁵⁻²⁷

Hasil uji beda antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna yaitu antara kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dengan P1 yang diberi dosis 0,019 - 0,025 ml/hari ($p = 0,000$), antara kontrol dengan P2 yang diberi dosis 0,038 - 0,050 ml/hari ($p = 0,000$) dan antara kontrol dengan P3 yang diberi dosis 0,075 - 0,100 ml/hari ($p = 0,000$). Hasil ini menunjukkan bahwa formalin yang digunakan pada dosis subletal selama 12 minggu dapat mempengaruhi gambaran histopatologis hepar dibandingkan dengan yang tidak mengonsumsi formalin. Perubahan histopatologis hepar akibat paparan formalin sendiri didukung oleh penelitian dari Cikmaz dkk pada tahun 2010, di mana tikus wistar albino yang mendapatkan paparan formalin selama kurun waktu tertentu mengalami perubahan histopatologis hepar.¹⁵

Hasil uji beda antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna, yaitu antara kelompok P1 dengan P2 ($p = 0,000$), P1 dengan P3 ($p = 0,000$), dan P2 dengan P3 ($p = 0,016$). Kelompok P3 memiliki derajat perubahan yang terberat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Kelompok P2 memiliki derajat perubahan lebih berat dari pada kelompok P1 namun lebih ringan

daripada P3. Kelompok P1 memiliki derajat perubahan paling ringan dibandingkan kelompok perlakuan lain. Hasil ini sesuai dengan hipotesis yang disampaikan oleh penulis. Dari uji beda dapat disimpulkan bahwa ada hubungan dosis-respon yaitu semakin tinggi dosis formalin peroral, semakin tinggi pula efek toksiknya pada hepar. Efek toksik tersebut dapat dibuktikan dengan perubahan histopatologis sel hepar. Semakin tinggi dosis formalin peroral maka akan semakin banyak formalin yang diubah menjadi metabolit berupa asam format. Hal ini menyebabkan metabolit yang beredar di hepar semakin banyak. Akibatnya, semakin banyak pula sel hepar yang mengalami perubahan histopatologis.³⁸

Pada penelitian ini ada beberapa kelemahan yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, antara lain kondisi kandang tikus wistar yang kurang ideal, faktor stress tikus wistar, pengaruh penyakit lain, serta faktor internal lain seperti daya tahan dan kerentanan tikus wistar. Faktor-faktor di atas dapat mempengaruhi perubahan gambaran histopatologi hepar tikus wistar. Kondisi preparat yang tidak sempurna dan mengandung artefak membuat pembacaan menjadi lebih sulit dan meningkatkan resiko terjadinya kesalahan dalam pembacaan.

Pada penelitian selanjutnya hendaknya paparan formalin diberikan pada dosis yang lebih bervariasi atau dosis yang biasa beredar di masyarakat, kurun waktu yang lebih lama, dan dapat pula menggunakan paparan formalin melalui kulit atau inhalasi. Untuk perlakuan perlu digunakan kandang yang lebih layak huni dan pembuatan preparat histopatologis di tempat yang khusus untuk melayani penelitian.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7. 1 Simpulan

Terdapat perubahan gambaran histopatologis hepar tikus wistar pada kelompok perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan formalin dosis bertingkat. Perubahan yang terjadi berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Terdapat perbedaan histopatologis hepar yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan formalin dosis bertingkat. Terdapat perbedaan histopatologis hepar yang bermakna pula antar kelompok yang diberi perlakuan formalin dosis bertingkat.

7. 2 Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian formalin menggunakan dosis yang lebih bervariasi dan dosis yang biasa beredar di masyarakat.
- 2) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian formalin dengan dosis dan waktu yang lebih lama (kronik).
- 3) Perlu dilakukan studi epidemiologi mengenai keracunan formalin di masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Tyas RS, Endah I, Nurani. Pengaruh Formalin, Diazepam, dan Minuman Beralkohol Terhadap Konsumsi Pakan, Minum, dan Bobot Tubuh *Mus musculus* [internet]. Semarang : Universitas Diponegoro. 2009[cited 2011 Okt 1]. Available from : http://eprints.undip.ac.id/2351/1/NAPZA_bu_tyas.pdf
- 2) Undang-Undang No.7 Tahun 1996 Tentang Pangan [internet]. Jakarta: Departemen Lingkungan Hidup; 2002 [cited 2011 Okt 1]. Available from: <http://bk.menlh.go.id/files/UU-796.pdf>
- 3) UU No 8/1999 Tentang Perlindungan Konsumen [internet]. Jakarta : Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral; 2005 [cited 2011 Okt 1]. Available from: www.esdm.go.id/prokum/uu/1999/uu-8-1999.pdf
- 4) PP No 28 tahun 2004 Tentang Keamanan Pangan [internet]. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2007 [cited 2011 Okt 1]. Available from: <http://www.litbang.depkes.go.id/sites/download/regulasi/pp/PP-No.-28-Th-2004.pdf>
- 5) Peraturan Menteri Kesehatan No. 1168/Menkes/PER/X/1999 [internet]. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2002 [cited 2011 Okt 1]. Available from: http://hukum.unsrat.ac.id/men/menkes_1168_1999.pdf
- 6) Ditemukan Formalin pada Jajanan Sekolah [internet]. Kompas. 2011 [cited on 2011 Okt 1]. Available from:<http://regional.kompas.com/read/2011/06/13/20462223/Ditemukan.Formalin.pada.Jajanan.Sekolah>
- 7) 15 Ayam di Pasar Kebayoran Lama Positif Mengandung Formalin [internet]. Detiknews. 2011 [cited 2011Okt1]. Available from: <http://www.detiknews.com/read/2011/08/03/115247/1695433/10/15-ayam-di-pasar-kebayoran-lama-positif-mengandung-formalin>
- 8) Formaldehida [internet]. Wikipedia Indonesia. Jan 2006 [cited 2011 Okt 3]. Available from : <http://id.wikipedia.org/wiki/Formaldehida>

- 9) Aprilianti A, Ma'ruf A, Fajarina Z.N, Purwanti D. Studi Kasus Penggunaan Formalin pada Tahu Takwa di Kotamadya Kediri [internet]. Kediri: Universitas Muhammadiyah Malang. 2007 [cited 2011 Okt 4]. Available from: http://student-research.umm.ac.id/index.php/pkmi/article/viewFile/3/3_umm_student_research.pdf
- 10) Setyabudi D.A, Winarti C, Risfaheri. Perlunya Standar Mutu Buah Impor : Studi Kasus Kontaminan pada Buah-buahan Impor [internet]. Jakarta: Puslitbang. 2008[cited 2012 Jul 31]. Available from: <http://www.bsn.go.id/files/@LITbang/PPIS/2008/PPIS/Jakarta/17-/PERLUNYA/STANDAR/MUTU/BUAH/IMPOR.pdf>
- 11) Bagian Anatomi FK Undip. Situs Abdominalis. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2009; 22-7
- 12) Guyton&Hall. Fisiologi Kedokteran. Jakarta : EGC; 1999; 1103-7
- 13) Khan A, Bachaya HA, Khan MZ, Mahmood F. Pathological effect of formalin (37% Formaldehyde) feeding female Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*). Hum Exp Toxicol. 2005; 24(8):415-22
- 14) Al Omari O.K , Khamas W.A and Elbeteiha A . Effect oral administration of formalin on blood gases parameter in rats. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2007; 6 (3): 304-9
- 15) Cikmaz S, Kutoglu T, Kanter M, Mesut R. Effect of formaldehyde inhalation on rat livers: A Light and Electron Microscopic Study. Toxicol Ind Health. 2010 Mar;26(2):113-9
- 16) Goldfrank, Lewis R.; Flomenbaum, Lewin, Neal A et al. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. 6th Ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1998; 1359-75
- 17) Lu F, Kacew S. Lu's Basic Toxicology. New York: Informa Healthcare; 2009;160-1
- 18) Material Data Sheet Formaldehyde 37% solution [internet]. 2005 [updated 2010 Jan 11; cited 2012 Feb 10]. Available from: <http://www.sciencelab.com>

- 19) A Khan, SM Husain et al. Effect of formalin feeding or administering into the crops of white leghorn cockerels on hematological and biochemical parameters. *Poult sci.* 2006; 85: 1513-19
- 20) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 88. Lyon: World Health Organization; 2006; 273
- 21) Health Effects of Formaldehyde Solutions [internet]. 2006 [cited 2012 Mar 8]. Available from: http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/formaldehyde/health_for.html
- 22) No More Toxic Tub: Getting Contaminants Out Of Children's Bath & Personal Care Products, Campaign for Safe Cosmetics [internet]. 2009 [cited 2012 Feb 10]. Available from: http://www.safecosmetics.org/downloads/NoMoreToxicTub_Mar09Report.pdf
- 23) Jansen W. *Forensic Histopathology*. Berlin: Springer Verlag ; 1984; 293-303
- 24) Kum S, Sandikci M, Eren U , Metin N. Effects of formaldehyde and xylene inhalations on fatty liver and kidney in adult and developing rats. *Medwell Journal*. 2010; 9(2): 396-401
- 25) WHO Regional Office of Europe. *Air Quality Guidelines* [internet]. Copenhagen:WHO; 2001 [cited 2012 Jan 28]. Available from: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0014/123062/AQG2ndEd_5_8Formaldehyde.pdf
- 26) Klaassen CD. *Casarett and Doull's Toxicology the basic science of poisons*. New York : Mc Graw Hill; 2001; 59, 134-219 ,894-97
- 27) Rose RL, Levi PE. Reactive methabolite. In : Hodgson E (editor). *A textbook of modern toxicology*. Ed 3. New Jersey : Wiley interscience; 2004; 149-61
- 28) Wakefield JC. *Formaldehyde toxicological overview* [internet]. London: Health Protection Agency. 2008 [cited 2012 Jan 28]. Available from: http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1219908739327
- 29) Hearn WL, Walls HC. Introduction to postmortem toxicology. In : *Postmortem toxicology of abused drug*. Boca Raton (US): CRP; 2007;1-11

- 30) Til HP, Woutersen RA, Feron VJ, Hollanders VH, Falke HE, Clary JJ. Two year drinking water study of formaldehyde in rats. *Food Chem Toxicol.* 1989 Feb; 77-87.
- 31) Davarian A, Fazelli SA, et al. Histopatologic changes of rat tracheal mucosa following formaldehyde exposure. *Int J Morphol.* 2005; 23(4): 369-72
- 32) Bagian Histologi FK Undip. *Lecture Notes Histologi II.* Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2009; 37-41
- 33) Liver Regeneration May Be Simpler Than Previously Thought [internet]. American Society for Biochemistry and Molecular Biology; 2007 [cited 2012 Feb 10]. Available from: <http://www.sciencedaily.com/releases/2007/04/070411170842.htm>
- 34) Bhara M. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar. Semarang : Universitas Diponegoro; 2005; 25-6
- 35) Kasno, Prasetyo A. Patologi hati dan saluran empedu ekstra hepatic. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2008; 18-20, 34-6
- 36) Roenigk M. Histological Patterns in Drug Induced Liver Diseases [internet]. *Journal of Clinical Pathology.* 2009 [cited 2011 Dec 10]; 62:481-492
- 37) Robbins, Kumar. *Buku Ajar Patologi II.* Ed 4. Jakarta: EGC; 1995;303-35
- 38) Lee WM. Drug induced hepatotoxicity. *NEJM.* 2003; 349:474-85
- 39) Galinsky RE, Johnson DH, Kane RE, Franklin MR. Effect of aging on hepatic biotransformation in female Fischer 344 rats: changes in sulfotransferase activities are consistent with known gender-related changes in pituitary growth hormone secretion in aging animals [internet]. *JPET.* 1990; 255(2): 577-583. Available from: <http://jpet.aspetjournals.org/content/255/2/577.htm>
- 40) Vere C.C, Steba C.T, Steba L.M, Ionescu A.G, Sima F. Psychosocial Stress and Liver Disease Status [internet]. *PMC* 2009; 15(24): 2980-2986. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2702105/>

Lampiran

LAMPIRAN 1. CARA PERHITUNGAN DOSIS

- Massa jenis (ρ) formalin = $1,08 \text{ kg/m}^3$
- Karena kandungan formaldehid dalam formalin 37% = $37\% \times 1,08 \text{ kg/m}^3 = 399,6 \text{ mg/ml} \rightarrow 1 \text{ ml formalin mengandung } 399,6 \text{ mg formaldehid} \rightarrow 3,996 \text{ mg/ } 0,01 \text{ ml}$.
- Dosis letal formaldehid tikus wistar = 800 mg/kgBB/hari

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

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

Bila 1 ml formalin mengandung 400 mg formaldehid, maka dosis pada tikus (dalam ml) adalah $7,5/399,6 \times 1 \text{ ml} - 10/399,6 \times 1 \text{ ml} = \mathbf{0,019 - 0,025 \text{ ml/hari}}$.

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

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

Bila 1 ml formalin mengandung 400 mg formaldehid, maka dosis pada tikus (dalam ml) adalah $15/399,6 \times 1 \text{ ml} - 20/399,6 \times 1 \text{ ml} = \mathbf{0,038 - 0,050 \text{ ml/hari}}$.

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

Berat badan tikus = 150 – 200 gram, maka dosis pada tikus (dalam mg) adalah **30 – 40 mg/hari**

Bila 1 ml formalin mengandung 400 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 2. METODE BAKU HISTOLOGIS PEMERIKSAAN JARINGAN

A. Cara pengambilan jaringan dan fiksasi

- 1) Mengambil jaringan sesegera mungkin setelah mencit diterminasi (maksimal 2 jam) dengan ukuran 1x1x1 cm³.
- 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 xylool alkohol 1:1 dengan waktu kurang lebih 24 jam.
- d) *Clearing* dengan larutan xylool 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang.
- e) Xylool parafin 1:1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven 60⁰ celcius.

- f) *Embeding* dan *bloking*: paraffin 1,2,3 selama 20 menit, lalu jaringan dicetak blok parafin, kemudian didinginkan, sehingga cetakan dapat dibuka.
- g) *Trimming*: memotong balok-balok parafin 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 60⁰ 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 60⁰ 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 3. *ETHICAL CLEARANCE*

 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		 RSUP Dr. KARIADI
ETHICAL CLEARANCE No. 221/EC/FK/RSDK/2012		
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	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Otak Tikus Wistar
Peneliti II	:	Martina Wibowo
Judul Penelitian	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar
Peneliti III	:	Naomi Ditya Sari
Judul Penelitian	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus Tikus Wistar
Peneliti IV	:	Ridha Abdi Wahab
Judul Penelitian	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus Wistar
Peneliti V	:	Sherly Katerina
Judul Penelitian	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Tikus Wistar
Peneliti VI	:	Sugeng Pramono
Judul Penelitian	:	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar



**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

Fakultas Kedokteran Undip
Dekan

dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K)
NIP. 19560806 198503 2 001

Prof. dr. Siti Fatmahan Muis, M.Sc, Sp.GK
NIP. 19480806 19700

LAMPIRAN 4. SURAT IJIN 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 50229

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 : Sugeng Pramono
 NIM : G2A008183
 Fakultas/ Universitas : Kedokteran / UNDIP Semarang
 Judul : Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar 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. 1974.031020.0003.1001

Dra. Lina Herlina, M.Si
 NIP. 19670207.199203.2001

LAMPIRAN 5. HASIL ANALISIS

Explore

Case Processing Summary

	kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
skoring	kontrol	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	perlakuan 1	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	perlakuan 2	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	perlakuan 3	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%

Descriptives

	kelompok	Statistic	Std. Error		
skoring	kontrol	Mean	1,0380	,02107	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,9795	
			Upper Bound	1,0965	
		5% Trimmed Mean		1,0361	
		Median		1,0200	
		Variance		,002	
		Std. Deviation		,04712	
		Minimum		1,00	
		Maximum		1,11	
		Range		,11	
	Interquartile Range		,08		
	Skewness		1,069	,913	
	Kurtosis		-,040	2,000	
	perlakuan 1	Mean	1,5900	,06042	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,4223	
			Upper Bound	1,7577	
		5% Trimmed Mean		1,5917	
Median			1,6200		
Variance			,018		
Std. Deviation			,13509		

	Minimum		1,39	
	Maximum		1,76	
	Range		,37	
	Interquartile Range		,22	
	Skewness		-,517	,913
	Kurtosis		1,162	2,000
	Mean		2,1040	,05537
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	1,9503	
	Mean	Upper Bound	2,2577	
	5% Trimmed Mean		2,0994	
	Median		2,0200	
	Variance		,015	
perlakuan 2	Std. Deviation		,12381	
	Minimum		2,01	
	Maximum		2,28	
	Range		,27	
	Interquartile Range		,22	
	Skewness		,894	,913
	Kurtosis		-1,661	2,000
	Mean		2,6340	,20805
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	2,0564	
	Mean	Upper Bound	3,2116	
	5% Trimmed Mean		2,6306	
	Median		2,7600	
	Variance		,216	
perlakuan 3	Std. Deviation		,46522	
	Minimum		2,08	
	Maximum		3,25	
	Range		1,17	
	Interquartile Range		,86	
	Skewness		,095	,913
	Kurtosis		-1,143	2,000

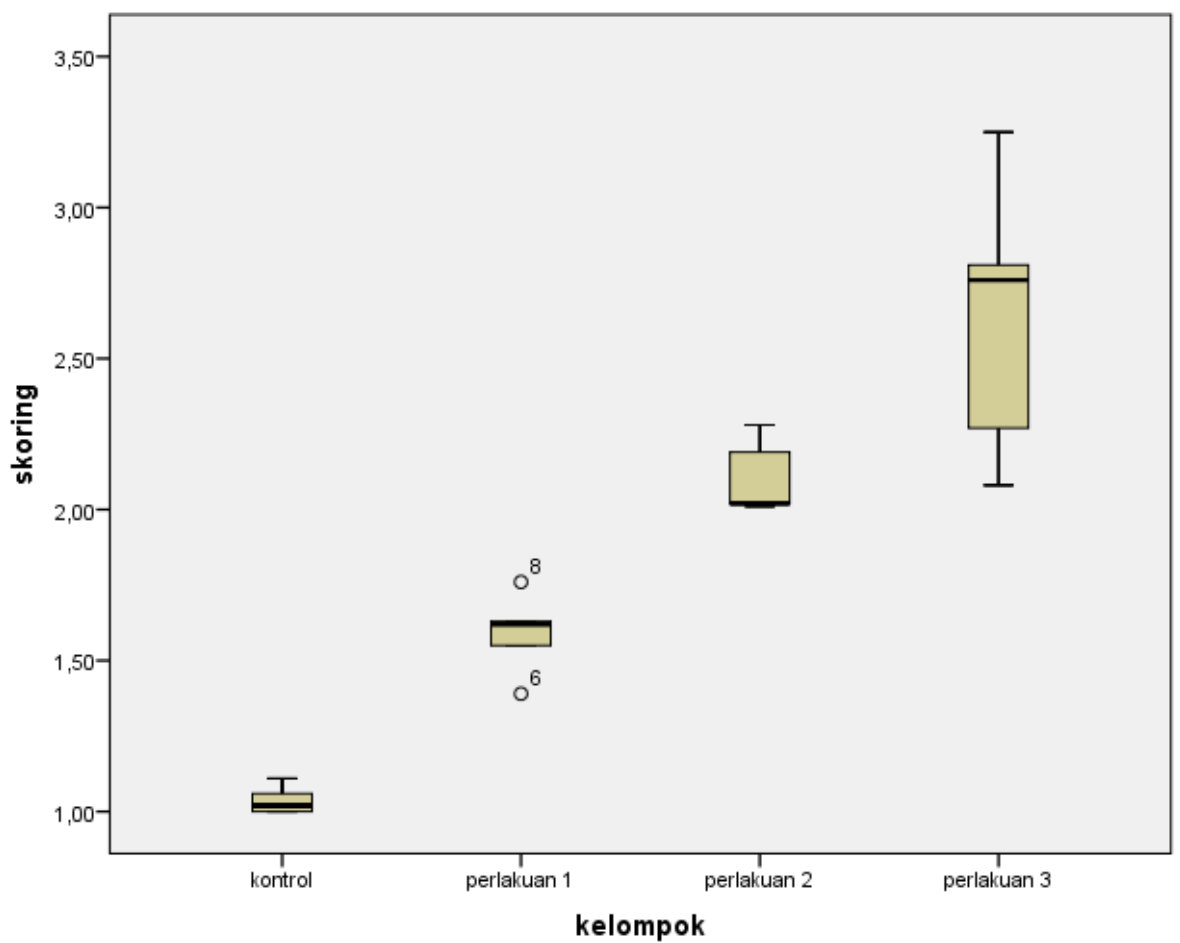
Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a	Shapiro-Wilk
----------	---------------------------------	--------------

		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
skoring	kontrol	,249	5	,200*	,864	5	,243
	perlakuan 1	,188	5	,200*	,964	5	,833
	perlakuan 2	,351	5	,043	,793	5	,071
	perlakuan 3	,207	5	,200*	,952	5	,753

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

a. Lilliefors Significance Correction



Test of Homogeneity of Variances

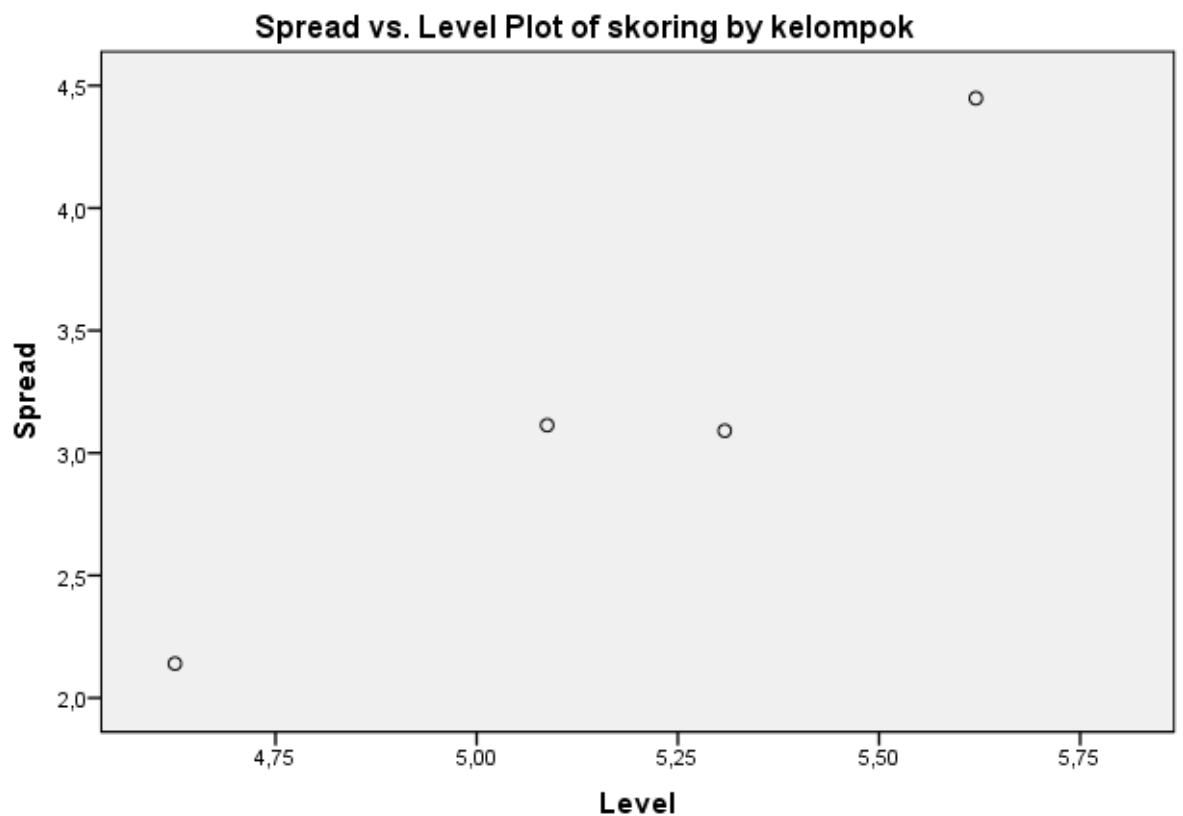
skoring

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,619	3	16	,002

ANOVA

skoring

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,029	3	2,343	37,157	,000
Within Groups	1,009	16	,063		
Total	8,038	19			



* Plot of LN of Spread vs LN of Level

Slope = 2,154 Power for transformation = -1,154

HASIL UJI SETELAH TRANSFORMASI

Test of Homogeneity of Variances

skoring_tr

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,668	3	16	,214

ANOVA

skoring_tr

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,964	3	,321	121,939	,000
Within Groups	,042	16	,003		
Total	1,006	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: skoring_tr

LSD

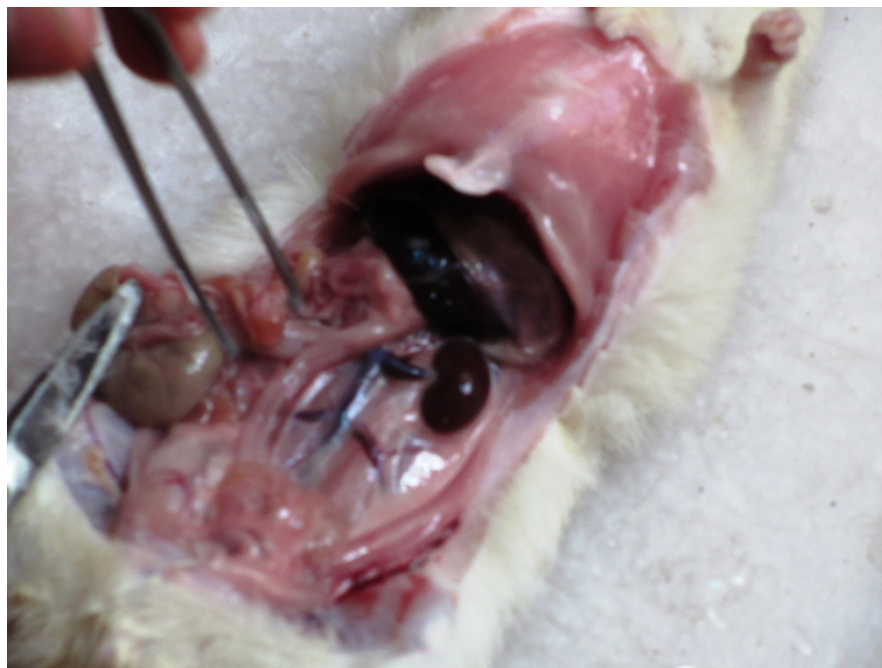
(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	perlakuan 1	,33223 [*]	,03247	,000	,2634	,4011
	perlakuan 2	,48837 [*]	,03247	,000	,4195	,5572
	perlakuan 3	,57550 [*]	,03247	,000	,5067	,6443
perlakuan 1	kontrol	-,33223 [*]	,03247	,000	-,4011	-,2634
	perlakuan 2	,15614 [*]	,03247	,000	,0873	,2250
	perlakuan 3	,24327 [*]	,03247	,000	,1744	,3121
perlakuan 2	kontrol	-,48837 [*]	,03247	,000	-,5572	-,4195
	perlakuan 1	-,15614 [*]	,03247	,000	-,2250	-,0873
	perlakuan 3	,08713 [*]	,03247	,016	,0183	,1560
perlakuan 3	kontrol	-,57550 [*]	,03247	,000	-,6443	-,5067
	perlakuan 1	-,24327 [*]	,03247	,000	-,3121	-,1744
	perlakuan 2	-,08713 [*]	,03247	,016	-,1560	-,0183

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

LAMPIRAN 6. DOKUMENTASI PENELITIAN



Autopsi tikus wistar



Organ dalam tikus wistar



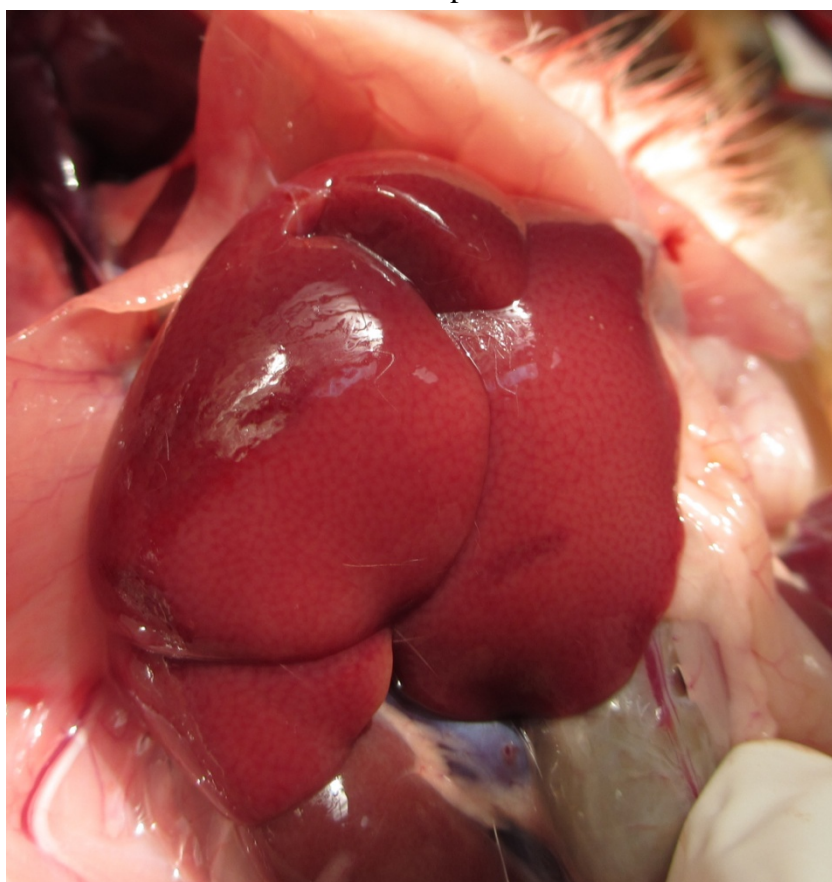
Pengambilan sampel hepar



Pengawetan sampel organ hepar



Blok hepar



Gambaran makroskopis hepar pada kelompok P3

LAMPIRAN 7. BIODATA PENULIS

Nama : Sugeng Pramono
NIM : G2A 008 183
Tempat/Tanggal lahir : Jakarta / 18 Desember 1990
Jenis Kelamin : Laki-laki
Alamat : Jl. Widosari V No.21 Semarang
Email : pramono.yohanessugeng@gmail.com

Riwayat Pendidikan Formal

- 1) SD : Lulus tahun 2002
- 2) SMP : Lulus tahun 2005
- 3) SMA : Lulus tahun 2008
- 4) FK Undip : Masuk tahun : 2008

Keanggotaan Organisasi

- 1) BEM Ekuin Tahun 2009 sd 2010