

## DAFTAR PUSTAKA

1. Syaifuddin M. Pewarna Sintesis Rhodamin B; 2009 [cited 2013 January 18]. Available from: <http://www.scribd.com/doc/24416508/Zat-Warna-Rhodamin-B>.
2. Azizahwati, Kurniadi M, Hidayati H. Analisis Zat Warna Sintetik Terlarang Untuk Makanan Yang Beredar Di Pasaran. [cited 7 februari 2013] Available from: <http://journal.ui.ac.id/index.php/mik/article/download/1185/1091>
3. Soleh, Sardjono K, Wisnu C. Identifikasi Zat Warna Yang Dilarang (Rhodamin dan Methanyl Yellow) Pada Produk Makanan Dan Minuman. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Universitas Pasudan; 2003.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Men.Kes/Per/V/85, tentang Zat Warna Tertentu Yang Dinyatakan Sebagai Bahan Berbahaya. Jakarta; 1985.
5. Laymena H.E. Pengaruh Formailin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Otak Tikus Wistar; 2012; p.1.
6. Ganong W.F. Pernapasan. In: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 22. Jakarta: EGC; 2008.
7. Indriastutih R. Uji Toksisitas Akut Monocrotophos Dosis Bertingkat Per Oral Dilihat Dari Gambaran Histopatologis Paru-Paru Mencit Balb/C. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2010.
8. Junieva PN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran (*Phyllanthus Sp.* ) Terhadap Gambara Mikroskopik Paru Tikus Wistar Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2006.
9. Dorland, Newman WA. Kamus kedokteran Dorland Edisi 29. Jakarta : EGC; 2006.
10. Toxin – Definition from Merriam – Webster Online Dictionary. [cited 2013 January 28]. Available from: <http://www.merriam-webster.com/dictionary/toxin>.

11. Aroni, Rojali. Kajian Penghambatan Efek Toksik Karmoisin dan Rhodamin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Tikus Oleh Ekstrak Daun Jelatang (*Urtica dioica* L.); 2011. p. 4-6. Available from: <http://repository.ipb.ac.id>.
12. Astuti R, Meikawati W, Siti S. Penggunaan Zat Warna “Rhodamin B” pada Terasi Berdasarkan Pengetahuan dan Sikap Produsen Terasi di Desa Bonang Kecamatan Lasem Kabupaten Rembang; 2010. Available from : <http://jurnal.unimus.ac.id>
13. Material Safety Data Sheet Rhodamine B, O MSDS . [cited 2013 February 5]. Available from: <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9924812>
14. Sumarlin LO. Identifikasi Pewarna Sintetis Pada Produk Pangan Yang Beredar di Jakarta dan Ciputat; 2010. Available from: <http://journal.uinjkt.ac.id>
15. The EFSA Journal. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food; 2005 [cited 2012 December 13]. Available from: [http://www.iscientific.org/Volume\\_2\\_2012/10%20IJCBS-12-02-14.pdf](http://www.iscientific.org/Volume_2_2012/10%20IJCBS-12-02-14.pdf)
16. Ariani. Studi Toksisitas dan Bioakumulasi Senyawa Rhodamine B. Depok: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Kimia Universitas Indonesia; 2004.
17. Hanspeter R, Witschi, Jerold AL. Toxic response of respiratory system. In: Casarett and Doul’s Toxicology: The Basic Science of Poisons Fifth Edition. United States of America: McGraw-Hill Companies; 1995.
18. Hübner RH, Gitter W, El Mokhtari NE, Mathiak M, Both M, Bolte H, et al. Standardized Quantification of Pulmonary Fibrosis in Histological Samples. *BioTechniques* [Internet]; 2008 [cited 2013 January 20]; 44:507-517. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18476815>
19. Wilson LM. Gangguan sistem pernapasan. In: Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6 Volume 2. Jakarta: EGC; 2005.
20. Howatt AJ. Traktus respiratorius. In: Underwood J.C. Patologi Umum dan Sistemik Edisi 2 Volume 2. Jakarta: EGC; 1999.

21. Sarjadi. Respon sel terhadap rangsang. In: Patologi Umum. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2011.
22. Wilson LM. Cedera dan kematian sel. In: Price S.A, Wilson L.M. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6 Volume 1. Jakarta: EGC; 2005.
23. Underwood J.C. Patologi Umum dan Sistemik Edisi 2 Volume 1. Jakarta: EGC; 1999.
24. Putranto BE. Patologi saluran nafas. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2011.
25. Sopiudin DM. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan. Jakarta: Salemba Medika; 2012.
26. Ismail A. Sistem Respirasi. In: Histologi 2. Semarang: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2010.
27. Eroschenko VP. Sistem pernapasan. In: Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional. Jakarta: EGC; 2003.

## Lampiran 1. *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



### **ETHICAL CLEARANCE** **No.228 /EC/FK/RSDK/2013**

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP, dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah Usulan Penelitian dengan judul :

#### **PENGARUH DOSIS BERTINGKAT RHODAMINE B PERORAL SELAMA 12 MINGGU TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU TIKUS WISTAR**

Peneliti Utama : Wilson Nugraha Abdy  
Pembimbing : Saebani, SKM, M.Kes  
Penelitian : Dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA)  
Universitas Negeri Semarang

Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, yang diamended di Seoul 2008 dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2011

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

Semarang, 24 Mei 2013

Komisi Etik Penelitian Kesehatan  
Fakultas Kedokteran Undip/RSUP Dr. Kariadi  
Ketua  
  
Prof. Dr. dr. Suprihati, M.Sc, Sp.THT-KL(K)  
NIP. 19500621197703 2 001

## Lampiran 2. Surat keterangan melakukan penelitian



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI**  
Alamat: Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229

### SURAT KETERANGAN

No. /UN.37.1.4.5/PP/2013

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

Nama : Wilson Nugraha Abdy  
NIM : G2A009072  
Fakultas/ Universitas : Kedokteran / Universitas Diponegoro Semarang  
Judul : Pengaruh Rhodamine B Peroral Dosis Bertingkat terhadap Gambaran Paru Tikus Wistar Jantan

telah melakukan penelitian di Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada bulan April - Juli 2013.

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

Semarang, Juli 2013

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES

Anudin Pradana, S.Pd, M.Si  
NIP. 1974031020.0003.1001

Kepala Laboratorium

Dra. Lina Herlina, M.Si  
NIP. 19670207.199203.2001

**Lampiran 3.** Cara perhitungan dosis

- 1) Berat molekul sebesar 479 g/mol
- 2) Dosis lethal Rhodamine B tikus wistar= 887 mg/kgBB/hari
  - a) Perlakuan pertama = 1 Dosis lethal =  $1 \times 887 = 887$  mg/kgBB/hari.
  - b) Perlakuan kedua =  $1/2$  Dosis lethal =  $1/2 \times 887 = 443,5$  mg/kgBB/hari.
  - c) Perlakuan ketiga =  $1/4$  Dosis lethal =  $1/4 \times 887 = 221,75$  mg/kgBB/hari.
  - d) Perlakuan keempat =  $1/8$  Dosis lethal =  $1/8 \times 887 = 110,88$  mg/kgBB/hari.
  - e) Perlakuan kelima =  $1/16$  Dosis lethal =  $1/16 \times 887 = 55,44$  mg/kgBB/hari.
  - f) Perlakuan keenam (kelompok kontrol) = 0 Dosis lethal =  $0 \times 887 = 0$  mg/kgBB/hari

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

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

- 1) Mengambil jaringan sesegera mungkin setelah tikus wistar diterminasi dengan cara dislokasi leher (maksimal 2 jam)
- 2) Kemudian memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebagai berikut:
  - a) Fiksasi dalam larutan formalin 10%
  - b) Dehidrasi dengan alcohol 30% selama 20 menit I, 20 menit II, dan 20 menit III

Lalu lanjutkan dengan Alkohol 40% 1 jam

Alkohol 50% 1 jam

Alkohol 70% 1 jam

Alkohol 80% 1 jam

Alkohol 90% 1 jam

Alkohol 96% 1 jam

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

- c) Larutan xylol alcohol 1 : 1 dengan waktu kurang lebih 24 jam
- d) *clearing* dengan larutan xylol 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang

- e) xylol parafin 1 : 1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven 60° celcius
- f) *Embeding* dan *bloking* : parafin 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 pemotong blok (sectioning)**

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

## **C) Komposisi Reagen**

- 1) MG I
  - 0.2 Ponceau
  - 0.1 gr Asam Fuchsin
  - 100 ml Aquadest



- 2) MG II
  - 4 gr Phospotrustif
  - 2 gr OG
  - 100 ml Aquadest
- 3) MG III
  - 0.2 gr Light Green
  - 0.2 ml asam asetat
  - 100ml akuades

#### **D) Cara Pengecatan Masson's Trichrome**

- 1) Deparafin dengan alcohol 70 %
- 2) Weigert ( Van Gieson A + B ) , Perbandingan 1:1
- 3) Cuci dengan air, bilas aquadest
- 4) MG I            5-10 menit
- 5) Cuci dengan Asam Acetat 1 %
- 6) MG II         5-10 menit
- 7) Cuci dengan Asam Acetat 1 %
- 8) MG III        5-10 menit
- 9) Cuci dengan Asam Acetat 1 %, keringkan

## Lampiran 5. Hasil Analisis Pengamatan Histopatologis Paru Tikus Wistar

### Kruskal-Wallis Test

#### Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Fibrosis	kontrol	5	6.00
	perlakuan1	5	9.30
	perlakuan2	5	11.90
	perlakuan3	5	16.30
	perlakuan4	5	21.50
	Total	25	

#### Test Statistics(a,b)

	Fibrosis
Chi-Square	14.595
df	4
Asymp. Sig.	.006

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Kelompok

### Mann-Whitney Test

#### Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	kontrol	5	5.00	25.00
	perlakuan1	5	6.00	30.00
	Total	10		

#### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.542
Asymp. Sig. (2-tailed)	.588
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	kontrol	5	3.80	19.00
	perlakuan2	5	7.20	36.00
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.894
Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	kontrol	5	3.20	16.00
	perlakuan3	5	7.80	39.00
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.495
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	kontrol	5	3.00	15.00
	perlakuan4	5	8.00	40.00
	Total	10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.677
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan1	5	4.90	24.50
	perlakuan2	5	6.10	30.50
	Total	10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	9.500
Wilcoxon W	24.500
Z	-.673
Asymp. Sig. (2-tailed)	.501
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan1	5	4.10	20.50
	perlakuan3	5	6.90	34.50
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	20.500
Z	-1.565
Asymp. Sig. (2-tailed)	.118
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan1	5	3.30	16.50
	perlakuan4	5	7.70	38.50
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.386
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan2	5	4.30	21.50
	perlakuan3	5	6.70	33.50
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-1.386
Asymp. Sig. (2-tailed)	.166
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan2	5	3.30	16.50
	perlakuan4	5	7.70	38.50
Total		10		

### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Mann-Whitney Test

### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrosis	perlakuan3	5	3.90	19.50
	perlakuan4	5	7.10	35.50
Total		10		

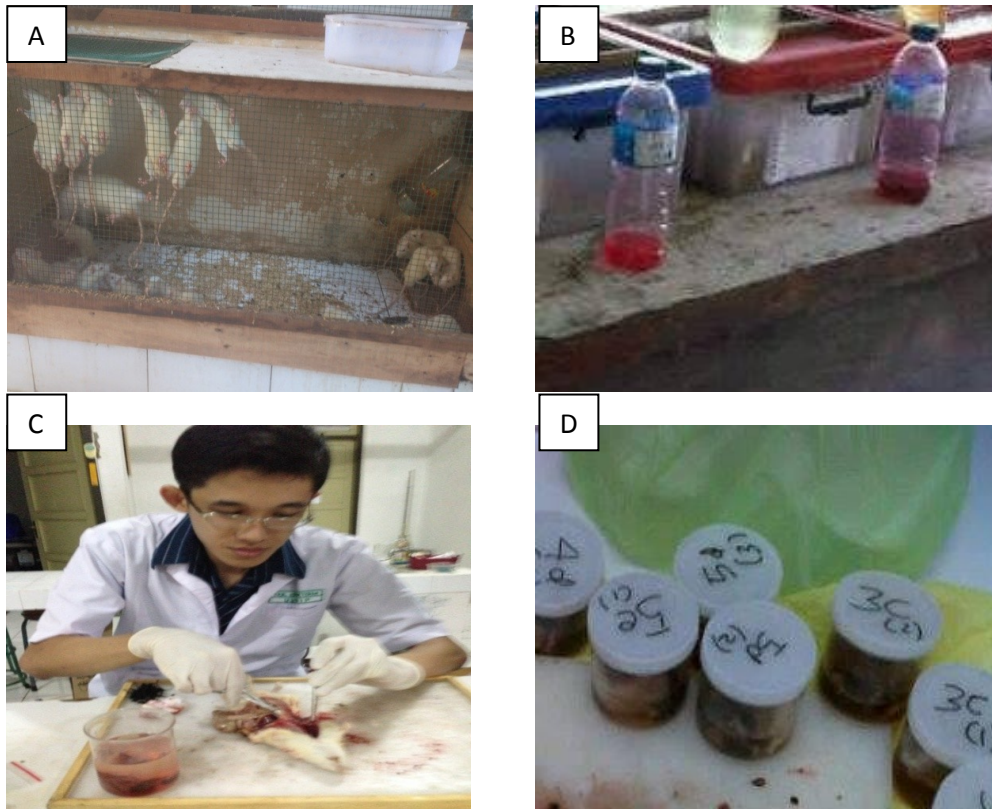
### Test Statistics(b)

	Fibrosis
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.890
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Kelompok

## Lampiran 6. Dokumentasi penelitian



Gambar proses penelitian di labotarium F-MIPA UNNES

- A. Pemilihan hewan sesuai kriteria inklusi dan eksklusi
- B. Pengelompokan hewan
- C. Pembedahan tikus
- D. Organ paru dalam tabung berisi formalin



**Lampiran 7. Biodata mahasiswa****Identitas**

Nama : Wilson Nugraha Abdy  
NIM : G2A009072  
Tempat/tanggal lahir : Semarang, 31 Agustus 1991  
Jenis Kelamin : Laki-laki  
Alamat : jl. Telaga Mas Raya A. 17A, Semarang  
Nomor Telepon : 024-3547663  
Nomor HP : 081914443431  
Email : [wilsonnugraha@hotmail.com](mailto:wilsonnugraha@hotmail.com)

**Riwayat Pendidikan Formal**

- |        |  |                    |
|--------|--|--------------------|
| 1. SD  | : SD Negeri 1 Sukamara                       | Lulus tahun : 2003 |
| 2. SMP | : SMP Negeri 1 Sukamara                      | Lulus tahun : 2006 |
| 3. SMA | : SMA Karangturi                             | Lulus tahun : 2009 |
| 4. S1  | : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro | Masuk tahun : 2009 |