

NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH PAJANAN AKUT FORMALIN PER ORAL
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HATI
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**



SITI HANI AMIRALEVI

I1011131048

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**

2016

NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH PAJANAN AKUT FORMALIN PER ORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HATI TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**



SITI HANI AMIRALEVI

I1011131048

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**

2016

**LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**PENGARUH PAJANAN AKUT FORMALIN PER ORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HATI TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

Tanggung Jawab Yuridis Material Pada

**SITI HANI AMIRALEVI
I1011131048**

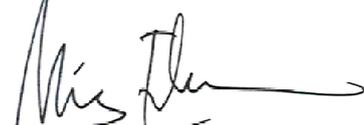
Disetujui Oleh

Pembimbing I



**dr. Virhan Novianry, M. Biomed
NIP. 19821129 200801 1 002**

Pembimbing II



**dr. Mistika Zakiah
NIP. 19880603 201504 2 003**

Penguji I



**dr. M. In'am Hmiawan, M. Biomed
NIP. 19791018 200604 1 002**

Penguji II



**dr. Andriani, M. Biomed
NIP. 19820417 200812 2 003**

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura**



**dr. Arif Wicaksono, M. Biomed
NIP. 19821016 200801 2 006**

**PENGARUH PAJANAN AKUT FORMALIN PER ORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

Siti Hani Amiralevi¹, Heru Fajar Trianto², Virhan Novianry³, Mistika Zakiah⁴

Intisari

Latar Belakang: Formalin merupakan bentuk cair dari formaldehid. Paparan formalin yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan di sel tubuh, termasuk hepatosit. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis gambaran histopatologis serta nilai kerusakan hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dipaparkan akut formalin per oral pada berbagai dosis (0, 25, 50, 100, dan 200 mg/kgBB) dan mengetahui dosis minimal formalin yang dapat menyebabkan perubahan gambaran histologis hati hewan uji. **Metodologi:** Penelitian ini merupakan eksperimental murni selama 14 hari perlakuan dengan rancangan acak menggunakan 25 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol normal (N) dipaparkan akuades 1,5 ml; kelompok perlakuan 1 (P1) dipaparkan formalin 0,01 ml; kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan formalin 0,03 ml; kelompok perlakuan 3 (P3) diberikan formalin 0,05 ml; dan kelompok perlakuan 4 (P4) diberikan formalin 0,1 ml. Kemudian organ hati diambil untuk dianalisis secara histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) pada perbesaran lensa objektif 40x. Hasil analisis kerusakan hepatosit kemudian dianalisis dengan *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan *Post hoc LSD* dengan program *SPSS v23*. **Hasil:** Paparan oral formalin menunjukkan gambaran kerusakan hepatosit berupa degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Nilai kerusakan histopatologis meningkat sesuai dengan peningkatan dosis formalin yang dipaparkan. Kerusakan hepatosit tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 4 (P4) dengan dosis 200 mg/kgBB. **Kesimpulan:** Paparan formalin per oral menyebabkan perubahan gambaran histologis hepatosit.

Kata Kunci : Formalin, hati, degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, nekrosis.

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 2) Departemen Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 3) Departemen Biokimia, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
 - 4) Departemen Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

**EFFECT OF ACUTE ORAL ADMINISTRATION FORMALIN TO
HISTOPATHOLOGIC APPEARANCE OF LIVER WHITE RATS
(Rattus norvegicus) STRAIN WISTAR**

Siti Hani Amiralevi¹, Heru Fajar Trianto², Virhan Novianry³, Mistika Zakiah⁴

Abstract

Background: Formalin is the liquid form of formaldehyde. Excessive exposure of formaldehyde can increase oxidative stress which can damage cells, including hepatocytes. **Objective:** The aim of this study are to look at histopathological appearance and the liver's damage score of white rats Wistar's liver that exposed by oral administration formalin at various doses (0, 25, 50, 100, and 200 mg/kgBW) and knowing the minimal dose of formalin that can cause changes histological appearance of hepatocytes. **Methodology:** The design of this study is true experimental with simple random sampling method within 14 days using 25 rats which were divided into 5 groups treatment. Normal Group (KN) received 1,5 ml aquadest; treatment group 1 (P1) received 0,01 ml formalin; treatment group 2 (P2) received 0,03 ml formalin; treatment group 3 (P3) received 0,05 ml formalin; and treatment group 4 (P4) received 0,1 ml formalin. At the end of the treatment, the liver was dissected for histopathologic analysis with Haematoxylin Eosin (HE) stain and observed under light microscopic with 40x objective lens. The data were analyzed using One-way ANOVA followed by Post Hoc Test LSD (SPSS v23). **Result :** Exposure of oral formalin caused hepatocyte damage which are parenchymatous degeneration, hydropic degeneration and necrosis. The liver's damage score are increasing according to the given doses. The highest damage of hepatocytes is in the treatment group 4 (P4) with 200 mg/kgWB dose of formalin. **Conclusion :** Exposure of oral formalin caused hepatocytes damage.

Keywords: Formaldehyde, liver, degeneration, degeneration, necrosis.

-
- 1) Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
 - 2) Department of Histology, Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
 - 3) Department of Biochemistry, Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
 - 4) Department of Histology, Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

LATAR BELAKANG

Pangan yang sehat adalah pangan yang bergizi dan aman untuk dikonsumsi. Pangan yang tidak sehat dapat menyebabkan seseorang tidak terpenuhi gizinya, bahkan bisa mengganggu kesehatan.¹ Seiring dengan perkembangan teknik pengolahan pangan yang sangat pesat, penambahan pengawet makanan mulai sering digunakan. Salah satu bahan pengawet makanan yang sering digunakan oleh masyarakat adalah formalin. Formalin merupakan bahan kimia yang dilarang penggunaannya sesuai dengan peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/Menkes/Per/IX/1988.²

Tahun 2006 dilakukan pengambilan 761 sampel pangan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) di beberapa daerah di Indonesia. Hasil dari pengambilan sampel tersebut didapatkan mie basah yang tidak memenuhi syarat sebanyak 64,32% (213 sampel), tahu sebanyak 33,45% (290 sampel), dan ikan sebanyak 6,36% (256 sampel).³ Surat Peringatan BPOM nomor 04/53/094 pada tahun 2007 menyebutkan bahwa 7 dari 39 produk impor dari Cina yang beredar di Indonesia mengandung formalin.⁴ Pengujian bahan makanan juga dilakukan oleh BPOM Kalimantan Barat pada tahun 2013 dan 2014 di beberapa pasar tradisional Kota Pontianak dan Kabupaten Mempawah. Pengujian tersebut mendapatkan hasil bahwa berbagai jenis tahu, mie kuning, mie putih, ikan gembung, bihun jagung, manisan nanas, dan buah ceri merah postif mengandung formalin.^{5,6}

Formalin merupakan bentuk cair dari senyawa yang bernama formaldehid. mengandung 37% formaldehid dalam pelarut air, dan biasanya juga mengandung 10% metanol.⁷ Formaldehid (CH_2O) merupakan senyawa gas golongan aldehida yang tidak berwarna dan memiliki bau yang sangat menyengat. Formaldehid mudah larut dalam air, etanol, dan etil dieter. Formaldehid mudah diabsorpsi dan mudah didistribusikan ke dalam tubuh karena memiliki berat molekul yang kecil.⁸

Manusia dapat terpajan formalin melalui proses penelanan, inhalasi, maupun terpajan langsung pada kulit. Konsentrasi formalin yang tinggi dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi secara kimia dengan menekan fungsi sel dan menyebabkan kerusakan organ tubuh hampir semua zat di dalam sel.⁹ Pengaruh negatif yang sering terjadi akibat kontaminasi jangka panjang dari formalin adalah terjadinya kerusakan pada tingkat sel dan jaringan hati.¹⁰ Salah satu fungsi hati adalah untuk memetabolisme hampir seluruh zat yang masuk ke dalam tubuh.¹¹ Penelitian yang dilakukan oleh Pramono (2012) menunjukkan bahwa ada perubahan histopatologis hati tikus wistar berupa degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis pada sel hati, yaitu hepatosit, setelah pemberian formalin secara oral dosis bertingkat selama 12 minggu.¹²

Formalin dapat menyebabkan kerusakan pada hepatosit melalui produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan sehingga menyebabkan menurunnya antioksidan alami di dalam tubuh, seperti *superoxide dismutase* (SOD) dan glutation (GSH). Selain itu, formalin dapat menyebabkan peningkatan produksi malondialdehid (MDA) dan nitrooksid (NO) sebagai parameter terjadinya penurunan aktivitas antioksidan enzimatis dan terjadinya kerusakan oksidatif jaringan hati. Ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan di dalam tubuh disebut dengan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif dapat menyebabkan reaksi peroksidasi lipid dan jika berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan hingga kematian sel.¹³

Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin mengetahui gambaran tingkat kerusakan yang disebabkan oleh pajanan akut formalin pada organ hati, khususnya hepatosit. Organ hati dipilih sebagai organ yang diteliti karena merupakan tempat di mana terjadinya metabolisme hampir seluruh zat yang masuk ke dalam tubuh. Spesies tikus yang akan digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang memiliki metabolisme hampir sama dengan manusia, jinak, masa hidup pendek, dan sudah banyak memiliki data toksisitas zat tertentu.

METODOLOGI

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental murni yang dilakukan secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *post test only*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan sejak bulan Agustus 2015 hingga bulan Januari 2016. Perlakuan pada tikus dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dan proses pembuatan sediaan serta pewarnaan dengan Hematoksilin dan Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah Soedarso. Proses pengamatan gambaran mikroskopis kemudian dilanjutkan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah sonde, gelas kimia, kaca objek, mikroskop, mikrotom, bak bedah, alat bedah minor, *staining jar*, dan piranti komputer *Image Raster* dan *AxioCam*. Bahan perlakuan antara lain adalah formalin, akuades, dan eter. Bahan pemeriksaan histopatologis antara lain adalah formalin buffer 10%, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%), alkohol absolut, larutan xilol, parafin cair, dan pewarna Hematoksilin dan Eosin (HE).

Hewan Uji

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar sebanyak 25 ekor yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan kriteria umur 3 bulan dan berat badan 180-200 g. Hewan uji tersebut kemudian diadaptasikan dengan

lingkungan laboratorium selama 14 hari dan dipajan makan pakan standar dan minum *ad libitum*.

Prosedur Penelitian

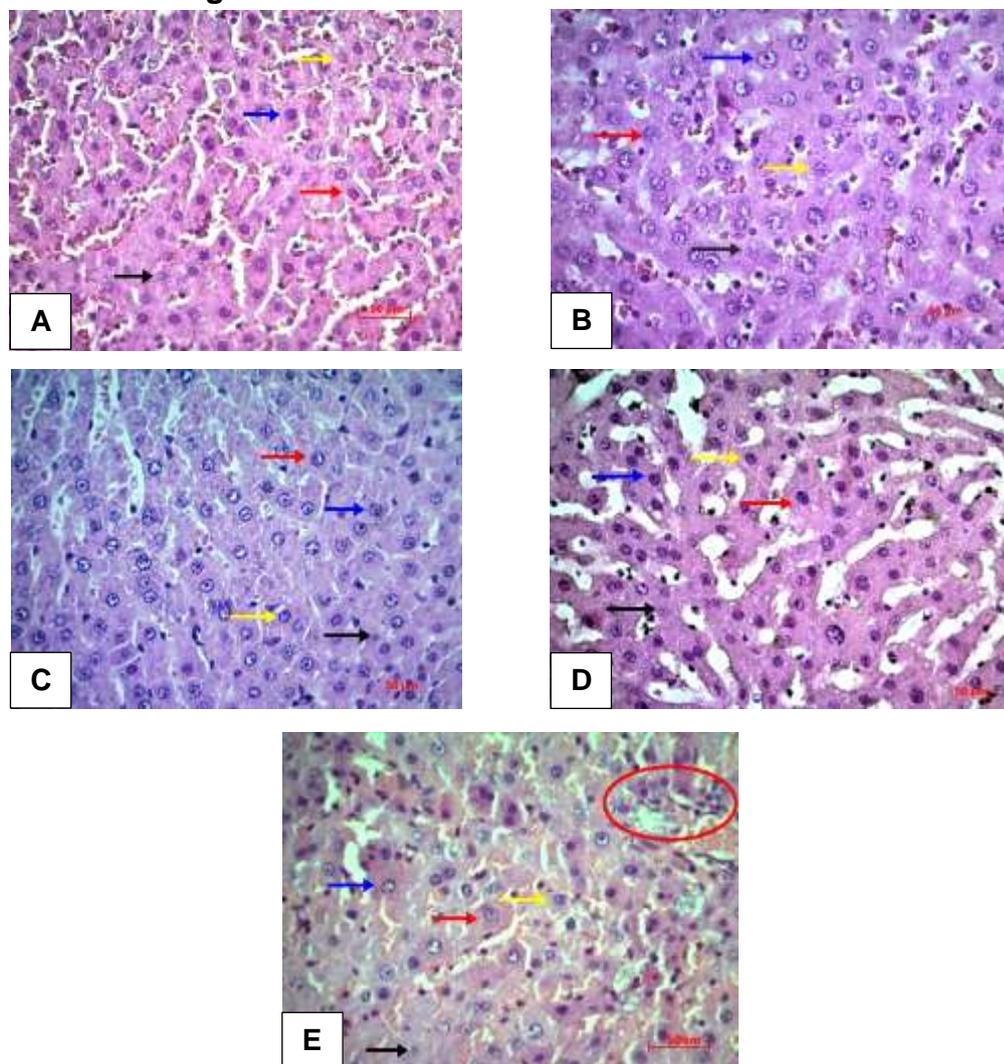
Perlakuan yang dilakukan terhadap hewan uji pada penelitian ini adalah dilakukan pemajanan formaldehid dengan dosis bertingkat, yaitu 25, 50, 100, dan 200 mg/kgBB selama 14 hari. Setelah hewan uji diberi perlakuan, dilakukan eutanasia dengan cara dimasukkan ke dalam wadah tertutup berisi eter jenuh, selanjutnya dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ hati. Organ hati yang telah diambil dicelupkan ke dalam larutan NaCl sebanyak 100 ml untuk menghilangkan darah yang menempel, kemudian difiksasi menggunakan cairan formalin 10%. Organ hati tersebut kemudian dipotong dengan tebal irisan 5 μ m dan dibuat preparat histologis dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran objektif 40x pada 5 lapang pandang. Perhitungan pengamatan dilakukan secara semikuantitatif dengan menjumlahkan skor kerusakan yang terdapat pada setiap lapang pandang. Aspek yang dinilai pada masing-masing lapang pandang diberikan skor berdasarkan sistem skoring pada tabel 1.

Tabel 1. Skor penilaian kerusakan jaringan hati

Tingkat Perubahan	Skor
Tidak ditemukan kerusakan dalam setiap lapang pandang	0
Ditemukan degenerasi parenkimatosa / degenerasi hidropik / nekrosis setempat dalam setiap lapang pandang	1
Ditemukan degenerasi parenkimatosa / degenerasi hidropik / nekrosis di beberapa tempat dalam setiap lapang pandang	2
Ditemukan degenerasi parenkimatosa / degenerasi hidropik / nekrosis yang merata dalam setiap lapang pandang	3

Hasil dan Pembahasan

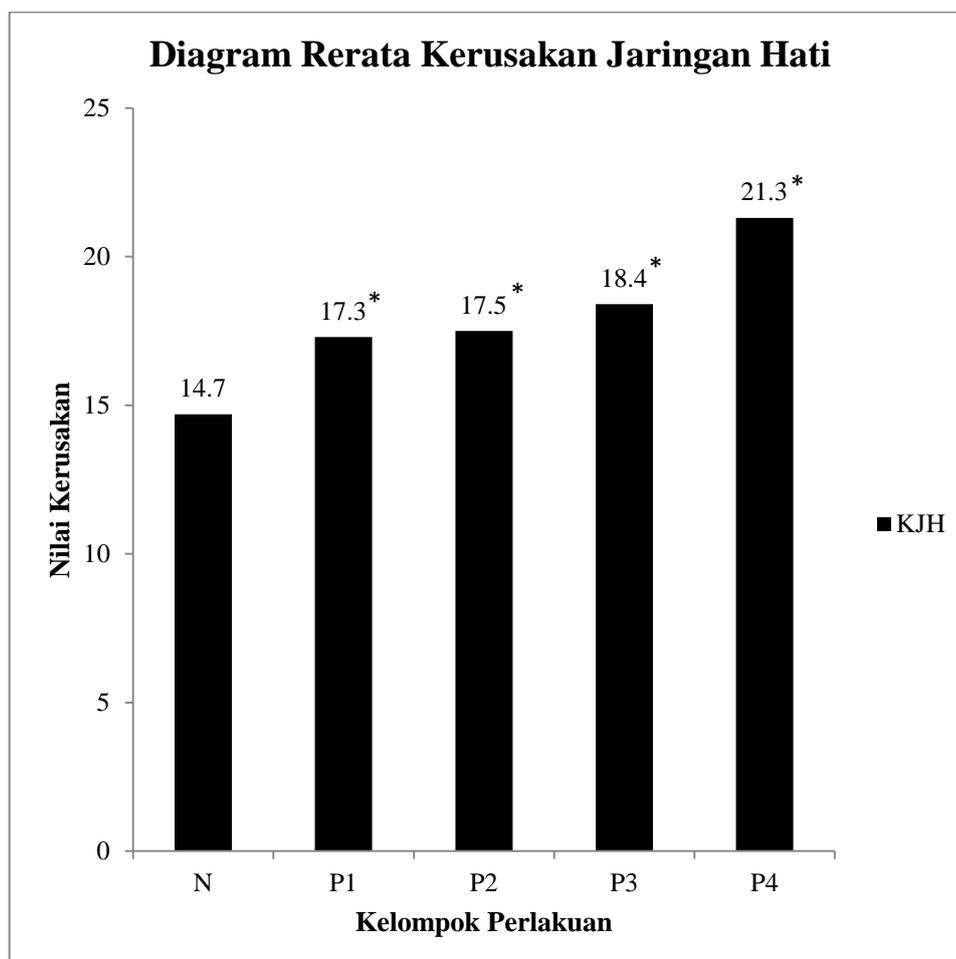
Gambaran Histologis Hati



Gambar 1. Gambaran histopatologis hati hewan uji seluruh kelompok perlakuan. Kelompok Normal (A) tanpa pajanan formaldehid, Kelompok Perlakuan 1 (P1) dengan dosis formaldehid 25 mg/kgBB, Kelompok Perlakuan 2 (C) dengan dosis formaldehid 50 mg/kgBB, Kelompok Perlakuan 3 (D) dengan dosis formaldehid 100 mg/kgBB, dan Kelompok Perlakuan 4 (E) dengan dosis formaldehid 200 mg/kgBB. Panah biru (→) menunjukkan hepatosit yang normal, panah merah (→) menunjukkan hepatosit yang mengalami degenerasi parankimatosa, panah kuning (→) menunjukkan hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik, panah hitam menunjukkan nepatosit yang mengalami nekrosis (→). Serbukan limfosit ditunjukkan dengan lingkaran merah (○). HE Objektif 40x.

Rerata Kerusakan Jaringan Hati

Rrerata penilaian kerusakan jaringan semua kelompok dapat disajikan dalam bentuk diagram pada gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Rerata hasil skoring kerusakan hepatosit semua kelompok (N = 25) (Anova, $p = 0,000$). KJH = Kerusakan jaringan hati, N = Kelompok normal. P1 = Kelompok perlakuan 1. P2 = Kelompok perlakuan 2. P3 = Kelompok perlakuan 3. P4 = Kelompok Perlakuan 4.
* = Berbeda terhadap kelompok normal

Penelitian ini menggunakan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 23 for windows*. Analisis data untuk menguji normalitas dan homogenitas data menunjukkan bahwa distribusi data normal dan homogen. Berdasarkan hal tersebut, analisis data dilanjutkan

dengan menggunakan uji parametrik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD. (lampiran 4)

Kelompok normal menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok perlakuan 2 ($p = 0,029$), kelompok perlakuan 3 ($p = 0,013$), dan kelompok perlakuan 4 ($p = 0,000$). Adanya perbedaan bermakna pada kelompok normal menunjukkan perbedaan skor derajat kerusakan histopatologis yang signifikan terhadap gambaran histopatologis kelompok perlakuan yang lain. Kelompok normal menunjukkan perbedaan tidak bermakna terhadap kelompok perlakuan 1 ($p = 0,51$), yang menandakan bahwa skor derajat kerusakan histopatologis tidak berbeda dengan kelompok perlakuan normal.

Kelompok perlakuan 1 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok perlakuan 4 ($p = 0,002$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan skor derajat kerusakan histopatologis hati yang signifikan. Kelompok perlakuan 1 menunjukkan perbedaan tidak bermakna terhadap kelompok normal ($p = 0,051$), kelompok perlakuan 2 ($p = 0,778$) dan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,525$), yang menandakan bahwa skor derajat kerusakan histopatologis tidak berbeda dengan kelompok perlakuan 1.

Kelompok perlakuan 2 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok normal ($p = 0,029$) dan kelompok perlakuan 4 ($p = 0,004$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan skor derajat kerusakan histopatologis hati yang signifikan. Kelompok perlakuan 2 menunjukkan perbedaan tidak bermakna terhadap kelompok perlakuan 1 ($p = 0,788$) dan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,712$), yang menandakan bahwa skor derajat kerusakan histopatologis tidak berbeda dengan kelompok perlakuan 2.

Kelompok perlakuan 3 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok normal ($p = 0,013$) dan kelompok perlakuan 4 ($p = 0,009$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan skor derajat kerusakan histopatologis hati yang signifikan. Kelompok perlakuan 2

menunjukkan perbedaan tidak bermakna terhadap kelompok perlakuan 1 ($p = 0,525$) dan kelompok perlakuan 2 ($p = 0,712$), yang menandakan bahwa skor derajat kerusakan histopatologis tidak berbeda dengan kelompok perlakuan 3.

Kelompok perlakuan 4 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok normal ($p = 0,000$), kelompok perlakuan 1 ($p = 0,002$), kelompok perlakuan 2 ($p = 0,004$), dan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,009$), yang menandakan bahwa terdapat perbedaan skor derajat kerusakan histopatologis yang signifikan dengan kelompok perlakuan 4 dan kelompok perlakuan lain.

Pembahasan

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian formalin dengan pemberian dosis bertingkat selama 14 hari pada hewan uji memberikan hasil yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada penelitian ini (lampiran 4). Kerusakan yang ditemukan pada pengamatan gambaran histopatologis jaringan hati hewan uji berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis yang terdapat pada setiap kelompok perlakuan.

Konversis dosis formalin dapat dihitung berdasarkan perbandingan berat badan manusia (70 kg) dan tikus (200 g). Dosis pemberian formalin yang dipajankan pada hewan uji secara berturut-turut setara dengan 0,56 mg/hari, 1,68 mg/hari, 2,08 mg/hari dan 5,6 mg/hari pada manusia.¹⁴

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Pramono (2012) yang meneliti tentang derajat kerusakan hepatosit setelah pajanan formalin dosis bertingkat, yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB selama 12 minggu secara intraperitoneal, mengakibatkan perubahan gambaran histologi pada hewan uji. Kerusakan hepatosit yang terjadi berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis.¹²

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Abdulqader dan Mustafa (2014) yang mengamati kerusakan hepatosit yang terjadi setelah

pajanan formalin dengan dosis 1 ml/hari selama 7 hari secara inhalasi. Kerusakan hepatosit yang terjadi berupa degenerasi parenkimatosia ringan hingga berat yang diikuti oleh vakuolisasi, perubahan nukleus hepatosit, infiltrasi dari leukosit, dan terlihat nekrosis di beberapa tempat.¹⁵

Kelompok normal (KN) pada penelitian ini terjadi perubahan histopatologis berupa degenerasi parenkimatosia, degenerasi hidropik, dan nekrosis. 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 salah satunya di daerah hepar. Berkurangnya kemampuan leukosit dapat menyebabkan imunitas tubuh akan berkurang sehingga mudah terserang penyakit.¹⁶

Pajanan formalin yang berlebihan akan mempengaruhi proses fisiologis sel-sel yang berada di jaringan. Formalin akan dimetabolisme menjadi asam format oleh *Aldehyde dehydrogenase 2* (ALDH2) yang berada di mitokondria sel dan oleh *Alcohol dehydrogenase 3* (ADH3) yang berada di sitosol melalui beberapa tahapan. *Alcohol dehydrogenase 3* akan mengoksidasi formalin menjadi asam format dalam tiga tahapan. Tahap pertama, GSH bereaksi secara spontan dengan formalin untuk membentuk *S-hydroxymethylglutathione*. Tahap kedua, *S-hydroxymethylglutathione* digunakan sebagai substrat ADH3 untuk menghasilkan *S-formylglutathione*. Tahap ketiga, *S-formylglutathione* dihidrolisis oleh *S-formylglutathione hydrolase* sehingga menghasilkan asam format dan terjadi deplesi GSH.^{17,18}

Proses ekskresi asam format tergolong reaksi yang lambat, sehingga dapat terjadi penumpukan di dalam hepar. Penumpukan asam format yang berlebihan dapat menyebabkan sintesis *Adenosine Triphosphate* (ATP) menurun. ATP merupakan sumber energi sel yang diproduksi oleh fosforilasi oksidatif *Adenosine Diphosphate* (ADP) selama reduksi oksigen dalam sistem transpor elektron mitokondria. Penyebab utama penurunan

ATP adalah kurangnya pasokan oksigen dan nutrisi, kerusakan mitokondria, dan pajanan berlebihan oleh zat toksin.¹⁹

Depleksi ATP akan menyebabkan beberapa efek pada sel, yaitu berkurangnya aktivitas dari membran plasma pompa Na^+K^+ ATPase sehingga menyebabkan akumulasi Na^+ intraselular dan keluarnya K^+ , peningkatan kompensasi glikolisis anaerob dalam upaya untuk mempertahankan sumber energi sel, kegagalan pompa Ca^{2+} ATPase sehingga menyebabkan masuknya Ca^{2+} ke dalam sel, dan dapat menyebabkan gangguan secara struktural sintesis protein oleh retikulum endoplasma kasar.¹⁹

Mitokondria merupakan organel sel yang sensitif terhadap berbagai macam stimulus, termasuk hipoksia, pajanan zat toksin, dan radiasi. Kerusakan mitokondria dapat menyebabkan beberapa abnormalitas secara biokimia, seperti kegagalan fosforilasi oksidatif yang menyebabkan depleksi ATP, sering dikaitkan dengan pembukaan *high-conductance channel* pada membran mitokondria yang disebut *mitochondrial permeability transition pore*, dan pelepasan protein di sitoplasma mitokondria dapat menyebabkan cedera internal serta aktivasi jalur apoptosis.¹⁹

Cedera sel pada beberapa kondisi dapat disebabkan oleh radikal bebas, satu di antaranya adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu sebuah derivat oksigen radikal bebas. Secara fisiologis, ROS diproduksi dalam jumlah kecil selama proses reduksi-oksidasi di dalam tubuh yang sangat reaktif tetapi dapat terbentuk toksin intermediet berumur pendek ketika kadar oksigen berkurang. Selain ROS, terdapat intermediet lain seperti superoksida yang diubah menjadi hidrogen peroksidase secara spontan melalui reaksi enzim superoksida dismutase. Akan tetapi, hidrogen peroksida lebih stabil daripada superoksida dan dapat melewati membran sel.¹⁹

Sebagai respon terhadap adanya radikal bebas, tubuh sebenarnya telah memiliki beberapa sistem enzimatik dan nonenzimatik untuk

menonaktifkan radikal bebas tersebut, yang meliputi superoksida dismutase (SOD), glutation (GSH), katalase, dan antioksidan endogen lainnya. Penurunan kadar GSH sebagai antioksidan alami menyebabkan peningkatan terbentuknya ROS yang disebabkan oleh pajanan formalin yang berlebihan. Ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan di dalam tubuh di sebut sebagai stres oksidatif. Mekanisme cedera sel yang disebabkan oleh ROS yaitu melalui tiga reaksi utama, yaitu peroksidasi membran lipid, reaksi silang protein, dan kerusakan DNA.¹⁹

Peroksidasi lipid membran dapat disebabkan karena kerentanan ikatan rangkap pada membran lipid ganda tidak jenuh yang diserang oleh derivat oksigen radikal bebas. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel. Apabila suatu sel mengalami jejas yang disebabkan oleh berbagai faktor, maka akan terjadi serangkaian perubahan morfologi pada sel. Perubahan tersebut dapat bersifat subletal yaitu degeneratif atau pun letal berupa nekrosis.¹⁹

Reaksi silang protein dan perubahan protein dapat disebabkan karena radikal bebas memediasi reaksi silang antara sulfidril dan protein, mengakibatkan degradasi atau kehilangan aktivitas enzimatik. Reaksi radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi polipeptida.¹⁹

Kerusakan DNA dapat disebabkan oleh reaksi radikal bebas dengan timin di nukleus dan DNA mitokondria menghasilkan penutusan untai tunggal. Sel hidup mempunyai mekanisme untuk memperbaiki DNA yang rusak, tetapi apabila kerusakannya terlalu berat, seperti setelah terkena radiasi atau stres oksidatif, sel hidup dapat menginisiasikan program bunuh diri melalui apoptosis.¹⁹

Kerusakan hepatosit yang terjadi pada hepar setelah dipajan formalin selama 14 hari berupa degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Degenerasi parenkimatosa merupakan bentuk degenerasi yang paling ringan dan bersifat reversibel. Gambaran mikroskopik degenerasi parenkimatosa berupa pembengkakan sel dan kekeruhan

sitoplasma. Degenerasi hidropik merupakan suatu jejas reversibel yang terjadi sebagai respon terhadap cedera nonletal. Gambaran mikroskopik dari degenerasi hidropik berupa vakuola-vakuola kecil yang terdapat di sitoplasma sel. Bahan-bahan toksik dapat menyebabkan degenerasi hidropik. Degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik disebabkan oleh kegagalan pompa Na^+K^+ ATPase akibat penurunan jumlah ATP. Kegagalan pompa ion yang ada di membran plasma akan menyebabkan gangguan pada keseimbangan cairan dan ion di dalam sel, sehingga terjadi pembengkakan sel dan timbulnya gambaran vakuola–vakuola kecil di sitoplasma. Gangguan pompa natrium-kalium ini diduga diakibatkan oleh peroksidasi lipid membran akibat pemberian formalin yang berlebihan secara terus-menerus.^{20,19}

Nekrosis merupakan kerusakan sel ireversibel yang disebabkan oleh kekurangan ATP yang berkepanjangan dan peroksidasi lipid akibat peningkatan ROS. Gambaran mikroskopik dari nekrosis berupa inti sel kecil berwarna gelap (piknotik), fragmentasi inti sel menjadi beberapa bagian (karioreksis) dan inti sel menghilang (kariolisis). Gambaran tersebut sebagian disebabkan oleh meningkatnya pengikatan eosin terhadap protein intrasitoplasmik yang mengalami denaturasi, dan sebagian akibat hilangnya basofil yang normalnya didapat dari RNA dalam sitoplasma. Bila enzim telah mendegradasi organela, sitoplasma menjadi bervakuola. Akhirnya, dapat terjadi kalsifikasi sel yang mati. Perubahan nuklear memberikan satu dari tiga pola, yang semuanya disebabkan oleh pemecahan nonspesifik DNA. Pola pertama adalah kariolisis, yaitu hilangnya DNA oleh aktivasi enzim endonuklease yang disebabkan karena influks Ca^{2+} , inti sel akan terlihat lebih basofilik dan terjadi pemudaran kromatin. Pola kedua adalah piknosis, ditandai dengan susutnya inti sel dan terlihat lebih basofilik kemudian kromatin berkondensasi menjadi massa yang padat yang disebabkan oleh perubahan pH sel. Pola ketiga adalah karioreksis, di mana inti sel yang piknotik mengalami fragmentasi menjadi beberapa kromatin yang

menggumpal dan setelah itu menghilang. Dalam 1-2 hari, ini dalam sel yang mati benar-benar menghilang. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat lagi kembali seperti semula dan akan mengalami kematian.¹⁹

Berbeda dengan nekrosis, sel yang mengalami apoptosis akan melepaskan berbagai mediator-mediator yang akan memulai proses inflamasi dan menarik datangnya sel-sel radang. Adanya sel radang ini dapat diamati pada beberapa kelompok hewan uji yang diberi paparan formalin secara terus menerus, yang sejalan dengan penelitian oleh Abdulqader dan Mustafa (2014) yang didapatkan gambaran histopatologis akumulasi dari serbukan leukosit pada jaringan hepar.^{15,19}

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 dan ditandai dengan terjadinya perubahan histopatologis hepatosit.²¹

KESIMPULAN

Berdasarkan data, analisis, dan pembahasan dalam penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Paparan akut formaldehid per oral dosis 25, 50, 100 dan 200 mg/kgBB menyebabkan kerusakan yang bermakna secara histopatologis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, yaitu degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis.
2. Dosis minimal formaldehid yang menyebabkan perubahan gambaran histopatologis hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar adalah 25 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Direktorat Jendral Bina Gizi Kesehatan Ibu dan Anak. Pedoman keamanan pangan di sekolah dasar. Kementrian Kesehatan; 2011.
2. Peraturan Menkes RI, Nomor 722/Menkes/Per/IX/88.
3. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2006.
4. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2007.
5. Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan Kalimantan Barat. Data sekunder : laporan hasil sampling dan uji bahan makanan yang mengandung formalin di pasar tradisional percontohan. 2013.
6. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Kalimantan Barat. Data sekunder : laporan hasil sampling dan uji bahan makanan yang mengandung formalin di pasar tradisional percontohan. 2014.
7. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2011.
8. IARC. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tertbutoxypropan-2-ol. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2006;88:1–478.
9. Cahyadi W. Analisis dan aspek kesehatan: bahan tambahan pangan. 2nd ed. Jakarta: Bumi Aksara; 2006.
10. Mahdi C, Aulaniam. Efek paparan formaldehid (formalin) dan suplementasi yogurt terhadap profil dan karakter protein hepar tikus (*Rattus norvegicus*). Indo J Chem. 2010;10 (1):132–7.
11. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.
12. Pramono S. Pengaruh formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologiss Hepar Tikus Wistar. [Semarang]: Universitas Diponegoro; 2012.
13. Maiese K, Chong Z, Hou J, Shang Y. Oxidative stress : biomarkers and novel therapeutic pathways. Exp Gerontol. 2010;45.
14. Suhardjono D. Percobaan hewan laboratorium. Yogyakarta: Gajah Mada University Press; 2007.

15. Abdulqader S, Mustafa I. The protective role of vitamin c against formaldehyde induced-hepatotoxicity and nephrotoxicity in male rats. *IOSR J Pharm Biol Sci.* 2014;9(4):21–6.
16. Harris C, Wang S, Lauchu J, Hansen J. Methanol metabolism and embryotoxicity in rat and mouse conceptuses: comparisons of alcohol dehydrogenase (ADH1), formaldehyde dehydrogenase (ADH3), and catalase. *Reprod Toxicol.* 2003;17.
17. Klassen CD. Casarett and Doull's toxicology the basic science of poisons. New York: McGraw Hill; 2001.
18. Schulte U, Bernauer S, Madle H, Mielke U, Herbst H. Assessment of the carcinogenicity of formaldehyde. Berlin; 2006.
19. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins SL, editors. Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2013.
20. Abdelhalim MAK, Jarrar BM. Gold nanoparticles induced cloudy swelling to hydropic degeneration, cytoplasmic hyaline vacuolation, polymorphism, binucleation, karyopyknosis, karyolysis, karyorrhexis and necrosis in the liver. *Lipids Health Dis.* 2011;10(1):166.
21. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 2003;349(5):474–85.

LAMPIRAN

KAJI ETIK PENELITIAN



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124

Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049

E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : http://www.kedokteran.untan.ac.id

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK (ETHICAL – CLEARANCE)

No : 9091 /UN22.9/DT/2015

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Pengaruh Paparan Formaldehid Per Oral Dosis Akut terhadap Gambaran Histopatologi Otak, Gaster, Ginjal dan Hepar Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)

Peneliti utama (*Principal Researcher*) : Metha Husada Persiwi
 Peneliti anggota (*Researcher Members*) : Abidah Bazlinah Dermawan / Maylisa
 Santauli Manurung / Siti Hani Amiralevi
 Nama institusi (*Institution*) : Program Studi Pendidikan Dokter
 Fakultas Kedokteran Untan

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Pontianak, 21 September 2015
 Ketua (*Chairman*),

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
 NIP. 19841013 200912 1 005