

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN MERKURI KHLORIDA ( $HgCl_2$ )  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK  
MENCIT (*Mus musculus*)**



Oleh :

**ROHIMATUL ULUM**  
TULUNGAGUNG – JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**PENGARUH PEMBERIAN MERKURI KHLORIDA ( $H_2Cl_2$ )  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK  
MENCIT (*Mus musculus*)**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga  
Surabaya

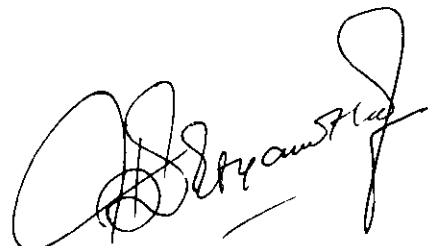
Oleh

**ROHIMATUL ULUM**  
069712435

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing



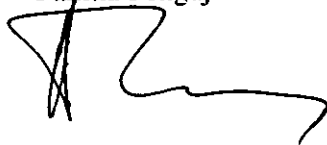
**Iwan Willyanto, M.Sc., Ph.D., Drh**  
Pembimbing Pertama



**Setiawati Sigit, M.S., Drh.**  
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**.

Menyetujui,  
Panitia Penguji



**Nurdianto Triakoso, M.P., Drh.**  
Ketua



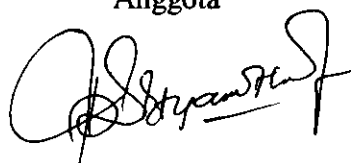
**Ajik Azmijah, SU., Drh.**  
Sekretaris



**Sulistianingwati Guntoro, Drh.**  
Anggota

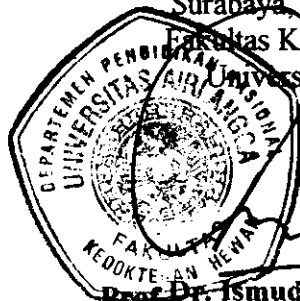


**Iwan Willyanto, M.Sc, Ph.D., Drh**  
Anggota



**Setiawati Sigit, M.S., Drh.**  
Anggota

Surabaya, 20 Agustus 2005  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan



**Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.**  
NIP. 130 687 297

**PENGARUH PEMBERIAN MERKURI KHLORIDA (HgCl<sub>2</sub>)  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK  
MENCIT (*Mus musculus*)**

**Rohimatul ulum**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian merkuri khlorida (HgCl<sub>2</sub>) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*).

Dalam penelitian ini digunakan 24 ekor mencit jantan berumur kurang lebih tiga bulan sebagai hewan coba. Sebelum diberi perlakuan mencit diadaptasikan selama satu minggu. Kemudian dibagi secara acak menjadi empat perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari enam ulangan. Keempat perlakuan tersebut adalah kontrol (P0) tanpa diberi merkuri khlorida, perlakuan pertama (P1) pemberian merkuri khlorida satu hari sekali, perlakuan kedua (P2) pemberian merkuri khlorida dua hari sekali, perlakuan ketiga (P3) pemberian merkuri khlorida tiga hari sekali. Pemberian merkuri khlorida dilakukan per oral dengan menggunakan sonde dengan dosis 0,6418 ppm atau sebanyak 0,0128 mg/0,5 cc aquadest selama 52 hari.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), hasil yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji F yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian merkuri khlorida berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*). Jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis terbanyak terdapat pada perlakuan pertama (P1) dengan pemberian merkuri khlorida satu hari sekali yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Sedangkan jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis paling sedikit terdapat pada perlakuan tiga (P3) dengan pemberian merkuri khlorida tiga hari sekali.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Alloh SWT yang telah memberikan hidayah dan melimpahkan rahmat serta karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi ini dengan baik.

Adapun tujuan penulisan ini, selain untuk memenuhi tugas akhir guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan, juga merupakan penerapan ilmu yang telah penulis pelajari selama menempuh studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Dengan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Bapak Iwan Willyanto, M.Sc. Ph.D selaku pembimbing pertama dan Ibu Setyawati Sigit M.S., Drh. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna demi kebaikan makalah sehingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis juga menyampaikan banyak terima kasih kepada semua penguji yang telah memberikan masukan dan perbaikan yang sangat membantu menyempurnakan makalah skripsi ini.

Dengan ketulusan hati dan rasa sayang penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak dan Ibuku tercinta, Mbak En dan Mas Maksum, adik-adikku, dan Mas Win atas dorongan semangat, doa restu, pengorbanan mental dan materi

serta kesabaran hati sehingga akhirnya penulis mampu menyelesaikan makalah skripsi ini.

Terima kasih tidak lupa penulis ucapkan kepada Bapak dan Ibu dosen pengajar di Fakultas Kedokteran Hewan atas ilmu yang telah diberikan, Ibu Ajik, drh, Bapak Epy Luqman, drh dan Ibu Narti atas bantuannya. Teman-temanku tercinta Andar muji, Evy rinso, Suit, Repeh dan Mas Heru, Esti, Indah Pman, Nur, Dita, Mak Nyak, Buyut, Cece, gg buntu cs, teman-teman kontrakan Kedung Tarukan, teman-teman angkatan '97 yang masih mengingat sebagai teman, teman-temanku dimanapun berada dan semua pihak yang telah membantu dan memberi semangat yang tidak bisa tersebut semuanya, penulis menyampaikan terima kasih atas doa, dorongan semangat yang tiada henti dan kesabarannya sehingga akhirnya makalah skripsi ini dapat terselesaikan.

Harapan penulis semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi masyarakat umumnya dan mahasiswa Kedokteran Hewan khususnya. Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah skripsi ini masih jauh dari sempurna. Untuk itu kritik dan saran sangat diperlukan guna kesempurnaan makalah skripsi ini.

Surabaya, Juli 2005

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Landasan Teori.....	5
1.5 Hipotesis Penelitian .....	6
1.6 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tinjauan Tentang Merkuri.....	7
2.1.1 Karakteristik dan Sumber .....	7
2.1.2 Penggunaan Merkuri dan Pencemarannya.....	8
2.1.3 Toksisitas Merkuri Khlorida .....	10
2.2 Tinjauan Tentang Otak .....	12
2.2.1 Anatomi Otak.....	12
2.2.2 Histologi Otak.....	14
2.2.3 Fisiologi Otak.....	17

## BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Materi Penelitian.....	19
3.2.1 Hewan Coba.....	19
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian .....	19
3.2.3 Alat-alat Penelitian.....	20
3.3 Metode Penelitian .....	20
3.3.1 Persiapan Hewan Percobaan.....	20
3.3.2 Tahap Perlakuan Hewan Percobaan.....	20
3.4 Peubah yang Diamati.....	21
3.5 Rancangan Penelitian dan Analisis Data .....	21
BAB IV HASIL PENELITIAN .....	23
BAB V PEMBAHASAN.....	25
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
RINGKASAN.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	38



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pemeriksaan Secara Mikroskopik Jumlah Sel yang Mengalami Nekrosis .....	25
2. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku Sel Piramid yang Mengalami Nekrosis pada Otak Mencit .....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi .....	41
2. Jumlah Rata-rata Sel Piramid yang Mengalami Nekrosis dalam Lima Lapang Pandang .....	45
3. Pengolahan Data Jumlah Sel yang Mengalami Nekrosis .....	46
4. Sidik Ragam .....	48
5. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%) .....	49
6. Penghitungan Pengenceran Dosis .....	50
7. Gambar Sel Piramid .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sel Piramid yang Normal .....	51
2. Sel Piramid yang Mengalami Nekrosis (Piknotis, Karioreksis, Kariolisis).....	51

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang Penelitian**

Berbagai macam aktivitas manusia dari hari ke hari telah menimbulkan efek yang tidak sedikit terhadap lingkungan. Hal ini didukung dengan kemajuan teknologi dari berbagai sektor termasuk sektor industri. Banyak berdirinya pabrik-pabrik baru di berbagai kota besar semakin menambah tingkat pencemaran lingkungan (pencemaran udara, tanah, dan air). Pencemaran lingkungan merupakan masalah yang masih sering menjadi topik untuk dicari pemecahannya terutama di kota-kota besar yang banyak terdapat kawasan industri seperti Jakarta dan Surabaya.

Limbah industri adalah suatu bahan yang dibuang dari sumber hasil aktivitas manusia maupun dari proses-proses alam. Apabila limbah yang dibuang jumlahnya relatif sedikit dan lingkungan tempat dibuangnya limbah masih dapat menetralkannya, maka limbah tersebut belum membahayakan lingkungan. Akan tetapi apabila jumlah limbah sudah diatas Nilai Ambang Batas (NAB) yang ditentukan maka akan timbul dampak yang merugikan serta membahayakan kesehatan manusia, lingkungan, dan habitat sekitarnya (Murtadho dan Sa'id, 1988).

Limbah yang menyebabkan pencemaran paling banyak ditemukan di sungai-sungai dimana sungai sering dijadikan sebagai tempat pembuangan limbah industri, limbah rumah tangga, dan juga sampah. Pembuangan limbah yang berasal dari industri, rumah tangga, dan pertanian ke dalam aliran sungai secara

terus-menerus dapat menyebabkan air sungai menjadi tercemar. Menurut Corner dan Miller (1984) dalam Pikir (1992) menyatakan bahwa bahan pencemar lingkungan tersebut terdiri dari senyawa-senyawa berbagai unsur, baik berupa senyawa organik maupun anorganik. Banyak diantaranya mempunyai sifat yang berbahaya untuk kesehatan manusia maupun makhluk hidup lainnya. Diantara bahan-bahan tersebut dapat berupa logam berat, misalnya Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Fe, Mn, ni, Pb, Sn, dan Zn. Diantara logam-logam berat tersebut yang bersifat racun sangat kuat yaitu Hg, Cd, dan Pb.

Secara alamiah logam-logam berat tersebut terdapat dalam air laut dalam kadar yang tidak membahayakan kehidupan karena logam berat tersebut dalam biota merupakan keadaan normal kehidupan laut (Simmons, 1981). Akan tetapi apabila logam berat tersebut melebihi ambang batas normal yang ditentukan maka akan berbahaya bagi kehidupan laut dan organisme sungai lainnya yang merupakan sumber makanan bagi manusia sehingga akan berdampak bagi kesehatan manusia.

Diantara logam-logam berat tersebut Merkuri (Hg) mempunyai sifat racun yang paling tinggi (Pikir, 1992). Luasnya pemakaian merkuri menyebabkan semakin mudah organisme mengalami keracunan (Palar, 1994). Keracunan adalah suatu keadaan dimana zat kimia tersebut telah mengganggu proses fisiologis sehingga keadaan tubuh organisme itu tidak dalam keadaan sehat lagi. Sifat dan intensitas keracunan tergantung pada jenis racun dan jumlah racun yang masuk ke dalam tubuh organisme sehingga mengalami keracunan (Koeman, 1987).

Keracunan yang disebabkan oleh merkuri biasanya berasal dari kebiasaan memakan makanan dari laut yang berasal dari perairan yang tercemar oleh merkuri (Palar, 1994). Di dalam air, merkuri akan mengalami proses oksidasi-reduksi ataupun proses metilasi menjadi metil merkuri atau menjadi merkuri bentuk lain yang berbahaya yaitu merkuri anorganik dan logam merkuri yang semuanya bersifat toksik. Metil merkuri ini di dalam air akan diabsorpsi oleh plankton yang selanjutnya melalui rantai makanan plankton, akan dimakan oleh ikan atau kerang, dan ikan atau kerang ini kemudian akan dimakan oleh manusia. Metil merkuri ini di dalam jaringan organisme plankton, ikan dan tubuh manusia sulit diekskresi oleh sebab itu akan terakumulasi sedikit demi sedikit di dalam jaringan yang bersangkutan sehingga akan mempengaruhi kesehatan. Oleh karena itu kandungan merkuri dalam makanan yang akan dikonsumsi perlu diketahui dan harus tidak melebihi kadar yang telah ditetapkan oleh WHO/FAO yaitu sebesar 0,5 ppm.

Di Pantai Kenjeran Surabaya telah berulang kali dilakukan penelitian oleh berbagai pihak yang berkaitan dengan pencemaran merkuri, baik penelitian terhadap biota air maupun dampaknya terhadap masyarakat di sekitarnya yang semuanya menunjukkan tingginya tingkat pencemaran merkuri di perairan Pantai Kenjeran Surabaya. Seperti hasil penelitian yang dilakukan oleh Handajani dan Budiono (2000) menunjukkan tingkat pencemaran merkuri yang terdapat pada kupang beras (*Corbula faba*) yang berasal dari Pantai Kenjeran Surabaya rata-rata 0,6418 ppm. Kadar tersebut melebihi batas minimum kadar merkuri dalam makanan yang ditetapkan oleh WHO/FAO yaitu sebesar 0,5 ppm.

Merkuri di dalam ikan atau kerang yang terkontaminasi apabila dikonsumsi akan dicerna dan diabsorpsi oleh saluran pencernaan, kemudian merkuri akan memasuki aliran darah, yang selanjutnya akan didistribusikan ke organ-organ tertentu seperti hati, ginjal dan otak. Merkuri bersifat neurotoksik yang secara mikroskopis menunjukkan adanya perubahan pada sel-sel di bagian korteks serebrum. Korteks serebrum tersusun dari enam lapisan sel saraf substansi kelabu dimana sel piramid merupakan jenis sel terbanyak penyusun korteks serebrum. Akumulasi merkuri di korteks serebrum akan mengakibatkan kerusakan pada sel-sel piramid (Despopoulos, 2000). Merkuri yang masuk akan diekskresikan melalui urine, feces, saliva, kulit, dan sebagian akan teretensi di dalam otak, rambut dan kuku. Ekskresi merkuri ini tergantung dari dosis dan lama paparan merkuri (Sjarkawi, 2002).

Penelitian ini mengambil kadar merkuri dari hasil penelitian Handajani dan Budiono (2000) pada kupang beras dengan parameter kerusakan mikroskopis berupa nekrosis pada sel piramid korteks serebrum menciit. Merkuri khlorida ( $HgCl_2$ ) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jenis merkuri anorganik. Berdasarkan penelitian pada hewan percobaan senyawa merkuri anorganik tersebut menumpuk pada organ hati, ginjal dan otak (Palar, 1994). Pengaruhnya terutama pada ginjal dan gangguan sistem saraf (Hammond, 1991). Akumulasi merkuri pada jaringan saraf yang lama akan bersifat toksik terhadap organ neurologis atau jaringan susuna saraf pusat dan menimbulkan gejala keracunan merkuri seperti kelemahan umum, kelemahan motorik, reflek abnormal, kelumpuhan dan dapat menyebabkan kematian (Sjarkawi, 2002). Gejala yang



khas adalah tremor. Pertama penderita biasanya mengalami tremor pada otot muka dan kemudian merambat ke jari-jari tangan (Darmono, 1995).

Mengingat bahaya yang ditimbulkan akibat dari keracunan merkuri maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan informasi kepada masyarakat luas sehingga dapat dicari pemecahan tentang masalah pencemaran merkuri.

## 1.2 Perumusan Masalah

Dengan adanya permasalahan pencemaran perairan sungai oleh logam berat khususnya merkuri seperti diatas, maka penulis ingin mengetahui apakah pemberian merkuri khlorida dengan dosis 0,6418 ppm dengan interval pemberian yang berbeda dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel-sel piramid korteks serebrum mencit (*Mus musculus*).

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran histopatologi sel piramid korteks serebrum mencit yang telah diberi merkuri khlorida ( $HgCl_2$ ) secara oral dan melihat perubahan yang terjadi dan perbedaannya dengan sel piramid korteks serebrum mencit kontrol.

## 1.4 Landasan Teori

Merkuri merupakan salah satu logam berat yang mendapat perhatian utama dalam segi kesehatan karena dampaknya terhadap pencemaran lingkungan yaitu sifat toksiknya yang berbahaya. Berbagai jenis aktivitas manusia dapat meningkatkan kadarnya di lingkungan (Lu, 1995).

Senyawa merkuri (Hg) yang mencemari kawasan pantai tersebut akan diabsorpsi oleh organisme air seperti plankton dan zooplankton yang merupakan

rantai pertama dalam rantai makanan, kemudian organisme ini akan dikonsumsi oleh ikan dasar perairan dan seterusnya ke tingkat yang lebih tinggi sampai akhirnya akan terkumpul dalam jaringan tubuh ikan besar (Williams, 1997). Dan hasil laut seperti ikan dan kerang-kerangan adalah makanan yang sering dikonsumsi oleh manusia, jika manusia mengonsumsi hasil laut yang tercemar tersebut akan berbahaya bagi kesehatan.

Dari hasil penelitian Handajani dan Budiono (2000) tentang kadar merkuri dalam kupang beras didapatkan hasil bahwa kadar dalam kupang beras (*Corbula faba*) asal pantai Kenjeran Surabaya rata-rata 0,6418 ppm. Hasil ini melebihi batas minimum kadar merkuri dalam makanan yang ditetapkan oleh WHO/FAO yaitu sebesar 0,5 ppm.

Merkuri dan timbal jika terakumulasi dalam otak dapat menyebabkan gangguan pada susunan saraf. Histopatologi otak akibat paparan merkuri yaitu adanya degenerasi dan nekrosis sel saraf pada focal dari area korteks serebrum (Roizin, 1977). Ciri khas dari sel-sel saraf yang terdapat pada korteks serebrum adalah adanya bentukan sel piramid (Fawcett, 2002). Semua bentuk merkuri dapat bereaksi secara katalitik maupun langsung dengan fosfolipid yang merupakan bagian penting dari struktur sel dalam sistem saraf (Palar, 1994).

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah pemberian merkuri klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) secara oral dengan dosis 0,6418 ppm dengan interval pemberian yang berbeda akan berpengaruh pada gambaran histopatologi sel piramid korteks serebrum mencit.

## 1.6 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk :

1. Mengetahui sejauh mana efek merkuri khlorida terhadap organ otak pada hewan mencit.
2. Memberikan informasi kepada pihak-pihak yang terkait dengan kesehatan masyarakat agar kandungan logam berat terutama merkuri pada produk-produk hasil laut dapat dikontrol sehingga aman bagi kesehatan masyarakat.

## **BAB II**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2. 1. Tinjauan Tentang Merkuri

##### 2.1.1. Karakteristik dan Sumber Merkuri

Logam merkuri atau air raksa dilambangkan dengan *Hg* yang berasal dari bahasa Yunani *hydragiras* yang berarti perak cair. Pada tabel periodik unsur-unsur kimia menempati urutan (NA) 80 dan mempunyai berat atom (BA) 200,59 (Palar, 1994).

Merkuri berbeda dari kebanyakan logam lain dimana merkuri berbentuk cair pada suhu kamar (25°C) dan mempunyai berbagai macam bentuk (Watts, 1998). Merkuri juga mempunyai titik beku yang paling rendah sekitar (-39°C), masih berwujud cair pada suhu 396°C. Pada suhu 396°C ini telah terjadi pemuaihan secara menyeluruh, merkuri juga mempunyai kecenderungan menguap lebih besar, mudah dicampur dengan logam lain menjadi logam campuran (amalgam), mudah mengalirkan arus listrik sehingga merkuri sangat baik digunakan sebagai konduktor (Slamet, 1994 ; Connel and Miller, 1983).

Sumber utama merkuri di alam berasal dari emisi volcano gunung berapi atau dari kerak bumi atau dari evaporasi yang berasal dari air laut. Sumber lainnya berasal dari penambangan merkuri maupun penambangan emas dimana merkuri digunakan untuk mengekstraksi emas, untuk setiap 1 kg emas yang dihasilkan akan dilepaskan 1,4 kg merkuri ke lingkungan (Sylvaine, 1998). Selain itu merkuri bisa berasal dari pembakaran bahan bakar fosil seperti batubara, penambangan logam sulfida dan pembuatan semen ( Saeni, 2000).

### 2.1.2. Penggunaan Merkuri dan Pencemarannya

Merkuri adalah unsur logam yang sangat penting dan telah digunakan sejak jaman dahulu kala. Merkuri banyak digunakan dalam berbagai bidang industri, pengobatan, pertanian maupun untuk kebutuhan lainnya (Darmono, 2001). Penggunaan merkuri pada industri baterai karena baterai yang menggunakan bahan merkuri dapat tahan lama dan tahan pada kelembaban tinggi. Banyak pabrik menggunakan lampu uap merkuri untuk penerangan karena biaya pemasangan dan operasinya murah dan arus listriknya dapat dialiri dengan voltase yang tinggi. Dalam industri klor-alkali, yang memproduksi klorin ( $\text{Cl}_2$ ) dan kaustik soda yang diproduksi dengan jalan elektrolisis dari larutan garam  $\text{NaCl}$ , merkuri dalam bentuk amalgam dicampur dengan logam natrium dan digunakan sebagai katoda. Penggunaan merkuri disini pada dasarnya berbentuk larutan konduksi dan kemampuannya mengikat logam natrium sebagai amalgam dan membebaskan klor (Soesanto, 1985)

Pada bidang kedokteran merkuri digunakan untuk alat-alat kedokteran gigi yaitu sebagai penambal lobang gigi (amalgam), sebagai cream dental pada bayi untuk memutihkan gigi, sebagai diuretik merkuri, untuk kosmetik, juga sebagai antiseptik lokal dan untuk pengobatan syphilis (Doull, 1981).

Dalam bidang pertanian senyawa merkuri digunakan untuk mencegah tumbuhnya jamur pada produk hasil pertanian. Dasarnya adalah menggunakan sifat racun dari merkuri untuk merusak jaringan jamur (Lu, 1995).

Hampir semua senyawa merkuri yang digunakan akhirnya masuk ke dalam lingkungan (Soesanto, 1985). Secara alamiah logam-logam berat termasuk

merkuri terdapat di alam dengan kadar yang tidak membahayakan bagi kehidupan, tetapi jika kandungan logam berbahaya terutama merkuri melebihi ambang batas normal maka hal tersebut akan sangat membahayakan bagi lingkungan (Slamet, 1994). Banyak industri yang membuang limbahnya yang mengandung antara lain merkuri ke sungai yang kemudian limbah tersebut terbawa ke laut dan mencemari lingkungan estuari atau kawasan pantai sehingga mencemari biota yang menjadi rantai makanan manusia yang kemudian menimbulkan efek pada kesehatan masyarakat (Sjarkawi, 2002).

Dalam lingkungan hidup, merkuri bentuk apapun cenderung membentuk rantai pertukaran antara udara, tanah dan air. Di dalam air merkuri mampu membentuk senyawa lain yang lebih kompleks. Ion  $Hg^{2+}$  akan mengalami proses metilasi menjadi senyawa metil-merkuri dan dimetil merkuri serta dapat pula terjadi interkonversi di antara keduanya. Hg anorganik bisa juga terbentuk dari pemecahan berbagai senyawa Hg organik. Senyawa merkuri organik yang dibuang ke lingkungan juga mengalami perubahan menjadi merkuri anorganik, sehingga akan membentuk suatu siklus merkuri di lingkungan (Anonimus, 1990; Sumengen, 1988).

Senyawa merkuri sangat toksik dan dapat memasuki rantai makanan dan bila hewan air yang mengandung merkuri ini dikonsumsi manusia dan hewan, maka dapat menimbulkan gangguan faktor biologi, perubahan patologi dan gangguan fungsi jaringan (Sulaksmo, 2000).

### 2.1.3. Toksisitas Merkuri Khlorida

Merkuri mempunyai tiga bentuk yang semuanya bersifat toksik. Tiga bentuk tersebut adalah bentuk elemen (merkuri murni), merkuri organik dan merkuri anorganik. Merkuri organik dapat berupa senyawa alkil merkuri yang mempunyai struktur hidrokarbon rantai lurus seperti metil merkuri khlorida ( $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ) dan etil khlorida ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{HgCl}$ ) dan senyawa aril merkuri dengan struktur yang mengandung cincin hidrokarbon aromatik seperti fenil merkuri asetat. Merkuri anorganik termasuk garam-garamnya seperti merkuri nitrat ( $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ), merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) dan merkuri oksida ( $\text{HgO}$ ) (Palar, 1994).

Merkuri dalam berbagai bentuk bersifat toksik bila diabsorbsi dengan toksisitas yang berbeda (Fardiaz, 1992). Efek toksisitas merkuri juga tergantung pada dosis dan waktu individu mempertahankan hidupnya (Anderson and Conning, 1993). Bentuk merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) lebih toksik daripada bentuk merkuro ( $\text{HgCl}$ ) disebabkan karena  $\text{HgCl}_2$  berbentuk divalen yang lebih mudah larut daripada bentuk monovalen. Selain itu, bentuk  $\text{HgCl}_2$  juga cepat dan mudah diabsorbsi sehingga daya toksisitasnya lebih tinggi (Darmono, 2001).

Merkuri masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi, ingesti dan kontak dengan kulit. Pada umumnya pemaparan merkuri secara kronis adalah melalui ingesti atau pencernaan makanan, sedangkan yang melalui inhalasi dan kontak dengan kulit biasanya akibat pemaparan merkuri yang bersifat akut (Sjarkawi, 2002).

Senyawa merkuri anorganik seperti merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) berdasarkan hasil penelitian terhadap hewan percobaan senyawa-senyawa tersebut akan



terakumulasi pada organ hati, ginjal dan otak. Paling banyak didistribusikan ke organ ginjal (Palar, 1994; Fahy 1987). Pada mencit merkuri anorganik yang masuk ke dalam tubuh akan diabsorpsi kurang lebih 15% pada saluran pencernaan (Sjarkawi, 2002). Merkuri yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses fisiologis dalam tubuh (Palar, 1994). Menurut Flanagan (1995) merkuri khlorida sangat toksik dimana bila terjadi pemaparan secara ingesti sebesar 1 gram terbukti menyebabkan keracunan yang fatal pada orang dewasa.

LD<sub>50</sub> (Lethal Dosis) dari merkuri khlorida yang diberikan secara oral adalah sebesar 29 mg/kg. Pemberian merkuri khlorida HgCl<sub>2</sub> pada air minum tikus percobaan selama 50-70 hari menunjukkan peningkatan autoimun (Hullman, 1998). Merkuri dapat mempengaruhi terbentuknya autoimmun-system dan immuno-complex pada hewan percobaan, sehingga mempunyai efek imunologik dan menyebabkan iritasi kulit (Hullman, 1998; Rowie, 1998).

Toksisitas merkuri anorganik seperti merkuri khlorida dapat menyebabkan toksisitas akut. Pada keracunan akut terdapat pengendapan protein pada selaput lendir akibat garam merkuri dan menyebabkan warna mulut, faring dan saluran cerna keabu-abuan disertai nyeri hebat dan muntah. Muntah ini bersifat protektif karena menyingkirkan merkuri dari lambung (Syamsudin, 1995).

Efek keracunan merkuri khlorida kronis menyebabkan kerusakan sistem saraf pusat. Bila terjadi keracunan kronis, gejalanya berupa kelemahan umum, dispnue, nyeri dada dan perut, muntah, disartia, kelemahan otot motoris dan gangguan reflek yang abnormal. Gejala motorik antara lain tremor halus, terutama pada tangan, bibir, lidah dan geraham, parestesia pada penciuman dan pengecap.

Pada mata, lapang pandangan menjadi menyempit. Kelumpuhan otot motorik dapat menyebabkan kematian (Simmons, 1981).

Peristiwa keracunan merkuri khlorida pernah dilaporkan di Kanada pada sapi yang menggunakan salep yang mengandung merkuri khlorida. Setelah lima minggu masa pengobatan menggunakan salep yang mengandung merkuri khlorida, sapi menderita diare, kelumpuhan tubuh bagian belakang, tremor, batuk, kontraksi rumen berhenti dan akhirnya mati (Darmono, 2001).

## **2.2 Tinjauan tentang Otak**

### **2.2.1. Anatomi Otak**

Otak terdapat dalam rongga kranial yang dilingkungi suatu kapsula tulang yaitu tengkorak. Otak mengapung di dalam suatu cairan yaitu cairan serebrospinal. Cairan ini menunjang otak yang lembek dan halus dan bekerja sebagai penyerap guncangan akibat pukulan dari luar terhadap kepala. Otak ini terdapat di dalam rongga subaraknoid (diantara piameter dan araknoid) dan di dalam rongga-rongga bilik bagian dalam otak (Noback, 1991).

Otak terbungkus secara berlapis-lapis oleh tiga selaput yang dikenal sebagai selaput otak (mening), yaitu piameter, araknoid dan durameter (selaput otak keras) terdiri atas jaringan ikat kolagen dengan banyak serabut kenyal. Dua lapisan yang lunak dan tipis yaitu arachnoide (kulit sarang laba-laba) dan piameter, bersama-sama membentuk leptomening (selaput otak dan selaput sungsung tulang belakang yang lunak). Durameter dan leptomening dipisahkan dengan suatu pemisah sempit yaitu cavum subdural (Mutschler, 1991).

Otak (ensefalon) secara konvensional dibagi dalam lima bagian utama yaitu otak besar (telensefalon), otak antara (diensefalon), otak tengah (mesensefalon), otak belakang (metensefalon), dan medula oblongata atau sambungan sumsum belakang (mielensefalon). Telensefalon dan diensefalon membentuk rombensefalon (otak belah ketupat). Metensefalon terdiri dari pons dan serebelum. Serebrum mencakup telensefalon, diensefalon dan otak tengah bagian atas (Noback, 1991).

Serebrum dibagi menjadi dua bagian yang sama yaitu hemisfer kiri dan hemisfer kanan oleh suatu fisur longitudinal vertikal yang dalam (Ratna, 1996). Kedua hemisfer serebri menutup semua bagian-bagian otak lain sehingga hanya serebelum dan batang otak yang tampak. Permukaan hemisfer serebri ditandai dengan adanya lekuk-lekuk, sulci dan gelung-gelung giri. Di bawah permukaan gelung-gelung terdapat korteks serebri (Kahle, 1990).

Otak bagian dalam terdapat ruang-ruang berlubang yang disebut ventrikel otak (bilik otak). Bilik otak dibedakan menjadi empat yaitu ventrikel lateral (ventrikel kesatu dan kedua) yang merupakan rongga di dalam hemisfer serebrum di dalam otak belakang, ventrikel ketiga dalam bagian otak akhir dan otak antara serta ventrikel keempat dalam otak belakang. Bilik otak yang satu berhubungan dengan bilik otak yang lain membentuk sistem yang saling bergantung yang diisi dengan cairan serebrospinalis (*liquor serebrospinalis*) (Mutschler, 1991).

Medula oblongata terletak pada otak bagian belakang. Medula oblongata dan pons berisi serabut saraf yang membantu fungsi motoris dan sensoris (Kimble and Colman, 1995).

Mesensefalon (otak tengah) merupakan bagian otak yang paling kecil. Mesensefalon mengandung antara lain, tempat penglihatan untuk saluran saraf penglihatan dan pendengaran ke sel-sel ganglion yang termasuk dalam sistem ekstra piramidal dan inti asal dari saraf-saraf otak (Mutschler, 1991).

Serebelum adalah struktur yang berfisur dan berlobus yang menjadi modulator serta koordinator aktivitas motorik (Noback, 1991). Serebelum (otak kecil) terletak di belakang lekuk kranium dan dipisahkan dari lobus utama belakang otak besar oleh tentorium cerebeli (Mutschler, 1991). Serebelum dibagi menjadi 3 pedunkel pada masing-masing sisi. Pedunkel serebelum bagian bawah, pedunkel serebelum bagian tengah (branchium pontis) dan pedunkel serebelum bagian atas (branchium conjunctivum) (Nolte, 1993). Serebelum tersusun dari substansia alba di bagian dalam dan substansia grisea di bagian luar. Substansia alba dibentuk oleh serat-serat bermielin. Serat-serat ini merupakan serat yang masuk korteks dan serat eferen korteks. Substansia grisea menyusun korteks.

### **2.2.2 Histologi Otak**

Susunan saraf pusat (SSP) terdiri atas otak dan medula spinalis yang mengandung sel-sel saraf yang disebut neuron dan sel-sel penyokong yang disebut neuroglia (Fawcett, 2002).

Neuron atau sel saraf adalah suatu satuan anatomis dan fungsional independen dengan ciri morfologis majemuk. Berperan pada penerimaan, penghantaran, pemrosesan rangsang, pencetus aktivitas sel tertentu, pelepas neurotransmitter dan molekul-molekul penyampai informasi (Junqueira, 1997). Neuron terdiri atas tiga bagian yaitu dendrit, badan sel dan akson. Dendrit

merupakan juluran-juluran panjang untuk menerima stimulus dari lingkungan, sel epitelia sensoris dan dari neuron lain. Badan sel atau perikarion merupakan pusat trofik untuk seluruh sel saraf yang peka terhadap rangsang, mengandung inti dan sitoplasma disekelilingnya. Akson merupakan juluran tunggal khusus untuk membangkitkan atau menghantar impuls saraf ke sel lain (sel saraf, sel otot dan sel kelenjar) (Junqueira, 1997). Substansi neuroaktif ada tiga jenis yaitu neurotransmitter yang bekerja cepat dan setempat untuk mengubah aktivitas sel-sel sasaran, neuromodulator yang mengatur dan secara tidak langsung mempengaruhi neurotransmisi, neurohormon yang bekerja lambat dan luas melalui cairan ekstrasel atau darah (Fawcett, 2002).

Impuls saraf keluar masuk susunan saraf pusat melalui cabang neuron panjang yang disebut akson. Setelah menerima rangsang dari luar atau dari dalam tubuh bentuk dan aliran energi rangsang (mekanis, terminal, kimiawi, dan sebagainya) ditransduksi oleh struktur khusus yaitu reseptor, menjadi potensial listrik yang kemudian membangkitkan rangsang saraf. Deretan impuls kemudian diteruskan ke pusat-pusat saraf yang membangkitkan pola aktivitas tambahan dalam sel saraf lain yang menimbulkan respon motoris (Fawcett, 2002).

Jaringan saraf tidak mempunyai matriks intraselluler dan sel-sel glia menyediakan lingkungan mikro yang sesuai untuk aktivitas neuron. Sel-sel glia mempunyai asal, morfologi, fisiologi dan patologi yang berbeda. Sel-sel glia digolongkan menurut asal dan fungsinya yaitu oligodendrosit, astrosit. Sel schawn, sel endim, dan mikroglia (Bajpai, 1989).

Otak terdiri atas serebrum, serebelum. Pada potongan melintang otak tampak daerah yang berwarna putih (substansi putih) dan daerah yang berwarna kelabu (substansi kelabu) (Fiore, 1992). Substansi putih mengandung akson yang bermielin dan oligodendrosit yang memproduksi mielin tetapi tidak terdapat badan sel neuron. Substansi kelabu mengandung badan sel neuron, dendrit dan bagian awal dari akson dan sel glia yang tidak bermielin. Substansi kelabu biasanya berada pada permukaan serebrum dan serebelum membentuk korteks serebral dan serebelar (Fawcett, 2002). Kumpulan badan sel neuron yang membentuk pulau-pulau substansi kelabu yang dikelilingi oleh substansi putih disebut nuklei (Junqueira, 1997).

Korteks serebeli dibagi menjadi tiga lapisan yaitu lapisan molekuler luar dengan beberapa sel yang relatif sedikit dan dengan serat-serat yang berjalan horisontal. Pada zona paling dalam dari lapisan molekuler terdapat suatu lapisan neuron berbentuk buah labu yang disebut lapisan sel purkinje, sel purkinje bentuknya piriform dan mempunyai dendrit yang bercabang yang meluas ke dalam lapisan molekuler. Lapisan granular dalam dengan banyak sel kecil dengan nuklei yang berwarna nyata dan lapisan intermediate dari sel purkinje (Fiore, 1992; Bajpai, 1989).

Berbagai jenis sel terdapat dalam korteks serebrum. Walaupun terdapat variasi susunan sel-sel dalam berbagai bagian korteks serebrum, ditemukan enam lapisan dasar (fundamental), yaitu lapisan paling luar adalah bagian molekuler dimana bagian perifernya tersusun oleh serat saraf yang arahnya horisontal. Bagian yang lebih dalam, terletak sel horisontal dari Cajal yang sel-selnya

berbentuk seperti bintang atau berbentuk kumparan, aksonnya keluar menjadi serat horizontal. Yang meliputi lapisan molekular adalah piameter. Empat lapisan berikutnya adalah lapisan granular luar, lapisan sel piramidal, lapisan granular dalam, dan lapisan dalam dan sel yang terbanyak adalah sel piramid. Adanya sel piramid ini merupakan ciri khas dari korteks serebrum. Sel piramid bervariasi ukurannya antara 10-70 mikrometer, sel piramid yang berukuran besar disebut sel Betz yang mempunyai ukuran 100 mikrometer. Dendrit-dendrit sel piramid arahnya ke perifer dan aksonnya keluar dari basis sel. Sel piramid ini khusus sel motoris (Nolte, 1993; Fiore, 1992).

### **2.2.3 Fisiologi Otak**

Otak memerlukan kira-kira seperlima jumlah darah yang dipompa oleh jantung (sepertiga curah jantung bagian kiri), sebab otak menghabiskan sekitar 20% dari jumlah oksigen yang digunakan tubuh. Aliran darah ke otak terutama diatur oleh efek hasil metabolik dalam aliran darah terhadap tonus vaskulus (arteriola) pembuluh darah serebrum (Noback, 1991). Secara umum kecepatan aliran darah ke otak sangat tinggi yaitu 750 ml/menit, yang merupakan 15% dari jumlah aliran darah ke seluruh tubuh. Hal ini mencerminkan kerja otak yang besar (Ratna, 1996). Kebutuhan aliran darah yang besar ini oleh karena otak memiliki hanya sedikit cadangan metabolik dan memperoleh energinya semata-mata dari glukosa (Noback, 1991). Karbohidrat dalam bentuk glukosa merupakan sumber pokok energi bagi sel-sel jaringan susunan saraf pusat. Karbohidrat berfungsi sebagai unsur utama dalam pembangunan asam amino dan asam laktat serta menjadi sumber CO<sub>2</sub> yang membantu mengatur pH (Chusid, 1990).

Susunan saraf merupakan bagian yang vital dalam tubuh. Susunan saraf dilindungi dari toksikan dalam darah oleh suatu mekanisme protektif yaitu sawar darah otak dan sawar darah saraf (Lu, 1995). Sawar darah otak memisahkan dua kompartemen utama dari susunan saraf yaitu otak dan *liquor cerebrospinalis* dari kompartemen ketiga yaitu darah (Mardjono dan Sidharta, 1978). Sawar darah otak berada di dinding kapiler. Di sana sel-sel endotel kapiler bertaut rapat sehingga hanya sedikit atau tidak ada pori-pori di antara sel-sel itu (Bradbury, 1984). Meskipun demikian susunan saraf rentan terhadap berbagai jenis toksikan. Contohnya metil merkuri yang terutama mempengaruhi susunan saraf, meskipun kadarnya dalam otak sebanding dengan kadar dalam berbagai jaringan lainnya bahkan kadarnya jauh lebih rendah di hati dan ginjal (Lu, 1995).

Batang otak mentransmisikan semua serabut sensorik dan motorik yang melintas antara otak dan korda spinalis. Beberapa nucleus di dalam batang otak mengontrol aktivitas tubuh yang penting. Fungsi medula oblongata adalah sebagai pusat pengaturan jantung, pernafasan, vasomotor, pusat reflek muntah, batuk, dan menelan. Daerah-daerah pada batang otak disebut pusat vital dan jika terkena trauma akan bersifat fatal (Wilson dan Ross, 1990).

Fungsi utama dari serebelum adalah mengkoordinasi aktivitas muskuler baik pada pergerakan maupun postur atau disebut juga sebagai pengatur keseimbangan (Nolte, 1993). Trauma pada serebelum ditandai dengan hilangnya kemampuan koordinasi, kesulitan bicara, limbung, kerja otot lemah, dan hilangnya tonus otot (Dixon, 1986).



Fungsi serebrum adalah mengatur aktivitas mental meliputi memori intelegensi, perasaan tanggungjawab, berfikir dan moral, menerima rangsang termasuk rasa sakit, temperatur, sentuhan, penglihatan, pendengaran, rasa dan bau, inisiasi dan kontrol dari kontraksi otot voluntary (Wilson dan Ross, 1990).

# **BAB III**

## **MATERI DAN METODE**

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di kandang hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dilaksanakan selama 52 hari dimulai dari tanggal 15 Agustus sampai 5 Oktober 2003. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi otak mencit dilaksanakan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

#### 3.2 Materi Penelitian

##### 3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) strain CBR yang berumur  $\pm$  3 bulan diperoleh dari PUSVETMA Surabaya.

##### 3.2.2. Bahan-bahan penelitian

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini berupa merkuri khlorida, pakan ayam tipe 511 yang diproduksi oleh PT Charoen Pokphand yang berbentuk crumble untuk pakan mencit, air PDAM untuk minum yang diberikan secara *ad libitum*.

Bahan kimia yang akan di gunakan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah : formalin 10%, alkohol absolut, xylol, parafin, canada balsem serta *Hematoxylin Eosin*.

### **3.2.3. Alat-alat Penelitian**

Alat-alat yang dipergunakan adalah: kandang mencit yang terbuat dari plastik berbentuk persegi panjang sebanyak 4 buah beserta tutup yang terbuat dari kawat yang masing-masing dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, jarum sonde, gunting bedah, skalpel, pot salep, obyek glass, cover glass, mikrotom, mikroskop, alat fotografi.

## **3.3 Metode Penelitian**

### **3.3.1 Persiapan Hewan Percobaan**

Sebelum penelitian dilakukan mencit dipelihara selama 1 minggu sebagai masa adaptasi terhadap lingkungan dan pakan baru. Kemudian dibagi secara acak menjadi 4 perlakuan, masing-masing dengan 6 ulangan, setelah itu mencit ditempatkan di dalam kandang berdasarkan perlakuan yaitu Po, P1, P2, P3.

### **3.3.2 Tahap Perlakuan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang telah dibagi menjadi 4 perlakuan yang berbeda dengan masing-masing perlakuan terdiri dari 6 ulangan, diberi larutan merkuri khlorida secara oral menggunakan sonde. Penentuan dosis berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Handajani dan Budiono (2000) tentang pencemaran merkuri pada kupang beras asal Pantai Kenjeran Surabaya yaitu sebesar 0,6418 ppm atau setara dengan 0,0128 mg merkuri khlorida yang diberikan pada mencit (lampiran 6).

Perincian keempat perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

Po : kontrol, tidak diberi merkuri khlorida

P1 : diberi merkuri khlorida 0,0128 mg/ 0,5 cc aquadest setiap hari

P2 : diberi merkuri khlorida 0,0128 mg/ 0,5 cc aquadest setiap 2 hari sekali

P3 : diberi merkuri khlorida 0.0128 mg/ 0,5 cc aquadest setiap 3 hari sekali.

Pemberian dilakukan setiap pagi hari secara peroral menggunakan sonde selama 52 hari yang bertujuan untuk menimbulkan efek subkronik sehingga menghasilkan suatu efek toksik pada pemberian ulang harian (Blodinger, 1994). Pada hari ke-52 tikus dibunuh dan dilakukan seksi untuk pengambilan otak. Selanjutnya otak dimasukkan ke dalam pot yang berisi formalin 10% untuk dibuat preparat histopatologi. Setelah pembuatan preparat histopatologi dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik.

### **3.4 Peubah yang diamati**

Penilaian secara mikroskopik terhadap histopatologi otak ditunjukkan dengan adanya perubahan pada sel-sel piramid korteks serebrum yaitu pada sel-sel piramid yang mengalami nekrosis (meliputi : piknotis, karioreksis, kariolisis). Selanjutnya dilakukan pengamatan perubahan dari lima lapangan pandang yang berbeda mulai dari sudut kiri, kanan, bagian atas, bawah serta bagian tengah dari preparat histopatologi dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Selanjutnya dijumlahkan semua sel-sel yang mengalami nekrosis dan kemudian dihitung persentase sel piramid yang nekrosis terhadap sel piramid yang normal.

### 3. 5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penghitungan sel-sel piramid adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan dari masing-masing perlakuan. Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan F hitung dan dibandingkan dengan F tabel dari sidik ragam. Jika F hitung lebih besar daripada F tabel berarti ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan ( $p < 0,05$ ). Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan, dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ) 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang menyebabkan perubahan terbesar pada gambaran histopatologis korteks serebrum mencit (Kusriningrum, 1989).

## **BAB IV**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan mencit (*mus musculus*) yang terbagi dalam 4 perlakuan (P0, P1, P2, P3), dapat diketahui bahwa secara makroskopik tidak terjadi perubahan pada otak mencit yang diberi perlakuan merkuri khlorida secara oral.

Pada pengamatan mikroskopik dari masing-masing perlakuan terdapat perubahan pada gambaran histopatologi korteks serebrum mencit (*mus musculus*), yaitu terjadinya nekrosis pada sel piramid.

Data yang diperoleh dari penelitian tentang pengaruh pemberian merkuri khlorida terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*mus musculus*) dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Secara Mikroskopik Jumlah Sel yang Mengalami Nekrosis (%)**

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
1	6,25	67,95	44,23	48,81
2	7,72	64,72	48,31	35,35
3	7,92	70,32	47,41	35,38
4	7,85	73,67	56,77	33,95
5	3,47	60,65	55,53	40,73
6	9,72	51,49	41,86	57,94
$\Sigma X$	42,93	388,80	294,11	252,16
$\bar{X}$	7,155	64,80	49,018	42,027
SD	2,115	7,918	5,996	9,539



Berdasarkan data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam (Anava) diperoleh  $F$  (hitung) = 90,616,  $F$  (tabel) 0,05 = 3,10, maka  $F$  (hitung) >  $F$  (tabel). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan memberikan pengaruh yang nyata diantara perlakuan terhadap jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis.

Hasil rata-rata dan simpangan baku sel piramid yang mengalami nekrosis dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Rata-Rata dan Simpangan Baku Sel Piramid yang Mengalami Nekrosis pada Otak Mencit (%)**

Perlakuan	Sel piramid yang nekrosis ( $X \pm SD$ )
P0	7,155 <sup>c</sup> $\pm$ 2,155
P1	64,800 <sup>a</sup> $\pm$ 7,918
P2	49,018 <sup>b</sup> $\pm$ 5,996
P3	42,027 <sup>b</sup> $\pm$ 9,538

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%, untuk membandingkan antar perlakuan. Dari uji tersebut dapat diketahui pada perlakuan P1 (pemberian merkuri khlorida tiap hari) menunjukkan jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis terbanyak yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Sedangkan jumlah sel yang mengalami nekrosis paling sedikit pada perlakuan P3 (pemberian merkuri khlorida tiap 3 hari sekali) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P2 (pemberian merkuri tiap 2 hari sekali).

# **BAB V**

## **PEMBAHASAN**

## BAB V

### PEMBAHASAN

Gambaran histopatologi korteks serebrum mencit memperlihatkan adanya perubahan sel piramid berupa nekrosis. Dari hasil analisis statistik menunjukkan adanya pengaruh merkuri klorida terhadap otak ( $p < 0,05$ ). Terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan kontrol. Jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis terbanyak terlihat pada gambaran histopatologi perlakuan dengan pemberian merkuri klorida setiap hari. Semakin sering frekuensi pemberian merkuri klorida maka semakin nyata pengaruhnya terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum mencit. Seperti yang disebutkan oleh Waldichuk (1974) bahwa efek toksik merkuri di dalam tubuh organisme tergantung pada banyaknya zat tersebut dalam tubuh, tempat masuknya zat serta jangka waktu kontak antara merkuri dengan permukaan organ yang rentan terhadap merkuri sehingga semakin seringnya kontak dengan merkuri maka akan menyebabkan efek toksik yang semakin tinggi. Merkuri mempunyai toksisitas yang lebar karena merkuri mempunyai berbagai macam bentuk dan jenis sifat toksik.

Merkuri anorganik yang masuk melalui ingesti akan memasuki saluran pencernaan. Pada saluran pencernaan akan terjadi proses metilasi dimana merkuri bentuk anorganik ( $\text{HgCl}_2$ ) akan diubah menjadi merkuri bentuk organik yaitu metil merkuri. Proses metilasi ini terbentuk melalui aktivitas bakteri meta organik yang melibatkan enzim metilkobalamin (analog dengan vitamin B12). Peran vitamin B12 ini sangat penting yaitu untuk memindahkan metil yang diperlukan

dalam biosintesa. Gugus metil aktif ini sudah ada ini sudah ada dan dimiliki oleh tubuh. Juga bisa terdapat dalam tubuh akibat tertelan bersama bahan makanan atau terhirup dari udara bebas. Dengan bantuan bakteri tersebut terbentuk ikatan metil-B12 yang bersifat sangat reaktif terhadap ion-ion logam yang merusak tubuh. Garam merkuri yang masuk ke saluran pencernaan akan bereaksi dengan metil-B12 membentuk senyawa metil merkuri. Selanjutnya metil merkuri yang terbentuk akan diabsorpsi oleh vili usus dan akan masuk ke dalam pembuluh darah menuju vena porta ke hati dan ke seluruh tubuh (Satmoko, 2002; Palar, 1994; Anonimus, 1991).

Suatu zat kimia toksik seperti merkuri apabila memasuki aliran darah maka akan didistribusikan ke semua organ tubuh sehingga akan menyebabkan gangguan metabolisme. Gangguan metabolisme pada sistem saraf pusat (otak) pada umumnya merupakan kelanjutan dari gangguan metabolisme umum (Mardjono dan Sidharta, 1978).

Dari dalam darah metil merkuri ini akan ditransport ke dalam sel organ atau jaringan tubuh. Merkuri masuk ke dalam sel organ melalui mekanisme transport pasif atau melalui cara difusi karena sifatnya yang larut lemak. Di dalam sel organ merkuri mudah terikat dengan molekul yang mengandung gugus sulfhidril terutama di dalam enzim sehingga daya kerja yang dimiliki enzim menjadi berkurang atau tidak dapat bekerja sama sekali. Keadaan ini secara keseluruhan akan mempengaruhi berbagai organel di dalam sel sehingga sel mengalami kerusakan (Fardiaz, 2000; Descoter, 1988).

Melalui peredaran darah metil merkuri akan sampai ke otak dan dapat menembus barier otak sehingga masuk ke dalam jaringan otak (Struhs, 1997). Sistem darah otak biasanya sulit dilalui zat toksik, tetapi bila terjadi kenaikan konsentrasi dan paparan secara terus menerus maka akan bisa memasuki otak melalui sistem darah tersebut (Windarti, 1997). Karena sifat metil merkuri yang larut lemak, metil merkuri dapat bereaksi secara katalitik maupun langsung dengan fosfolipid yang merupakan bagian penting dari struktur sel dalam sistem saraf (Palar, 1994). Di dalam otak metil merkuri akan di metabolisme menjadi merkuri anorganik. Karena sifat merkuri anorganik yang tidak larut lemak maka merkuri anorganik ini tidak dapat keluar menembus barier otak sehingga akan terakumulasi di dalam jaringan otak sehingga menyebabkan kerusakan pada sel-sel otak (Sjarkawi, 2002).

Sehingga walaupun konsentrasi merkuri di dalam darah sudah menurun tetapi konsentrasi merkuri anorganik di dalam otak masih tetap tinggi. Waktu paruh merkuri di otak cukup lama. Pada manusia diperkirakan sekitar 40 hari dan pada hewan percobaan sekitar 1-2 tahun. Oleh karena itu tetap terjadi retensi meskipun paparan merkuri dihentikan (Anonimus, 1991; Amsyari, 1989; Goyer, 2000).

Metil merkuri ini mempunyai hubungan yang erat dengan susunan saraf pusat karena dapat menyebabkan disfungsi neurologis. Merkuri bersifat neurotoksik yang secara mikroskopis menunjukkan adanya perubahan pada sel-sel korteks serebrum (Granjean, 1997).

Hasil analisis statistik menunjukkan pengaruh merkuri khlorida yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis ( $p < 0,05$ ). Jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis pada mencit yang diberi larutan merkuri khlorida dengan perbedaan pada frekuensi pemberian berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan masing-masing perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis terbanyak terlihat pada perlakuan dengan pemberian merkuri khlorida setiap hari, sedangkan nekrosis paling sedikit terlihat pada pemberian merkuri tiap tiga hari sekali yang tidak berbeda nyata dengan pemberian merkuri tiap dua hari sekali.

Perubahan yang terjadi pada inti sitoplasma dari sel yang mengalami nekrosis meliputi piknotis, yaitu ditandai dengan adanya penggumpalan kromatin sehingga anak inti (nukleolus) tidak bisa dikenali lagi, serta warna sitoplasma berubah menjadi lebih gelap atau lebih tua setelah dilakukan proses pewarnaan. Karioreksis, yaitu ditandai dengan terjadinya kerusakan pada inti dimana inti menjadi pecah berkeping-keping dan meninggalkan pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel atau inti, bentuknya menjadi tidak teratur dan sitoplasma mulai memanjang. Kariolisis, yaitu pelarutan kromatin inti yang ditandai dengan intinya yang mulai tak jelas atau hilang, sehingga sulit dikenal lagi dan bentuk sel menjadi lebih memanjang serta warna menjadi tidak begitu jelas setelah dilakukan pewarnaan (Himawan, 1994)

Terjadinya nekrosis sel piramid pada kelompok perlakuan disebabkan karena merkuri yang terakumulasi dalam jaringan menyebabkan gangguan metabolisme pada sintesa protein dalam organel sel sehingga menyebabkan

nekrosis yang ditandai dengan adanya perubahan pada inti sitoplasmik (Clarkson, 1983). Ada kemungkinan akumulasi merkuri yang terjadi yang menyebabkan nekrosis pada sel piramid tidak hanya disebabkan dari hasil akumulasi paparan merkuri perlakuan, ada kontribusi dari faktor lain yang berasal dari bahan-bahan makanan dan juga dari air minum. Meskipun intake merkuri yang bersumber dari air minum pada umumnya sulit diperkirakan tetapi kadarnya lebih rendah dari merkuri pada pemberian perlakuan (Sukoadi, 2002).

# **BAB VI**

## **KESIMPULAN DAN SARAN**



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI. 1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan hasil analisis data tentang pengaruh pemberian merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*) dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

Pemberian merkuri khlorida dengan dosis 0,6418 ppm secara oral dengan interval pemberian yang berbeda selama 52 hari memberikan perubahan gambaran histopatologi otak mencit berupa nekrosis sel piramid korteks serebrum. Pada pemberian setiap hari terlihat nekrosis sel piramid yang paling banyak yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Sedangkan nekrosis sel piramid paling sedikit terlihat pada pemberian merkuri khlorida setiap tiga hari sekali.

#### VI. 2. SARAN

1. Perlu diadakan penelitian secara periodik tentang kadar merkuri dalam perairan terutama di sekitar daerah perindustrian agar kadar merkuri tetap dalam kadar normal sehingga tidak membahayakan bagi kesehatan manusia dan hewan.
2. Perlu pengawasan lebih ketat tentang kandungan logam berat terutama merkuri dalam makanan hasil laut agar aman untuk dikonsumsi manusia dan hewan.

3. Perlu penyebaran informasi tentang bahaya merkuri kepada masyarakat agar masyarakat lebih berhati-hati dalam mengkonsumsi makanan terutama makanan hasil laut.

## RINGKASAN

ROHIMATUL ULUM. Pengaruh pemberian merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*) di bawah bimbingan Iwan Wiliyanto, sebagai pembimbing pertama dan Setyawati Sigit, sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian merkuri khlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) dengan dosis 0,6418 ppm dengan interval pemberian yang berbeda secara oral terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*).

Penelitian ini dilakukan di kandang hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Hewan percobaan yang digunakan yaitu 24 ekor mencit jantan strain CBR yang berumur kurang lebih 3 bulan, dibagi secara acak menjadi empat perlakuan dengan enam ulangan tiap perlakuan. Perlakuan meliputi perlakuan kontrol (P0) yaitu tanpa pemberian merkuri khlorida, perlakuan pemberian merkuri khlorida satu hari sekali (P1), pemberian merkuri khlorida dua hari sekali (P2) dan pemberian merkuri khlorida tiga hari sekali (P3). Perlakuan merkuri khlorida diberikan per oral dengan menggunakan sonde selama 52 hari.

Dari hasil pemeriksaan mikroskopis preparat histopatologi otak mencit didapatkan perubahan sel piramid korteks serebrum berupa nekrosis yang kemudian dilakukan analisis data menggunakan F hitung dan kemudian dibandingkan dengan F tabel dari sidik ragam yang kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang menyebabkan pengaruh paling besar pada gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus*).

Dari hasil analisis statistik pada keempat perlakuan didapatkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ), diantara perlakuan yaitu adanya nekrosis pada sel piramid dimana perlakuan I (P1) menunjukkan perubahan tertinggi yang berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lain. Sedangkan perlakuan III (P3) menunjukkan perubahan paling sedikit yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan II (P2).

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Amsyari, D., S. Hartadi dan B. Aryono. 1981. Dampak Logam Berat Bagi Makhluk Hidup. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Amsyari, F. 1989. Radiasi Dosis Rendah dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Anonimus. 1990. Methylmercury. WHO. Geneva. Switzerland
- Anonimus. 1991. Inorganic Mercury. WHO. Geneva. Switzerland.
- Anderson, D and Conning, D. M. 1993. Experimental Toxicology The Basic Issues. Second Edition. Athenaeum Press, Ltd. British. 159-160.
- Bajpai, R. N. 1989. Histologi Dasar. Alih Bahasa Oleh Jan Tambajong. Binarupa Aksara. Jakarta. 227.
- Bradbury, M. W. B. 1984. The Structure and Function of The Blood Brain Barrier. Fed. Proc. 43. New York. 186-190.
- Cassaret. L. J and Doulls. J 1999. The Basic Science of Poisons. 5<sup>th</sup> ed. Mac Millan Publishing Company. New York. USA. 593-597.
- Chusid, J. G. 1990. Neuroanatomi Korelatif dan Neurologi Fungsional. Alih Bahasa Oleh Andri Hartono. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 104.
- Clarkson, T. W. 1983. Methylmercury Toxicity to The Mature and Developing Nervous System; Possible Mechanism. In Sarkar, D (ed); Boiological Aspect of Metals and Metal Related Disease. Raven Press. New York. 183-197.
- Clayton, G. D. 1981. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. 3<sup>rd</sup> ed. John Willey and Sons. Inc. New York.
- Connel, D. W and Miller, G. J. 1983. Exotoxicology of Pollution. John Willey and Sons. New York. 288-309.
- Darmono. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran. Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. Universitas Indonesia. Jakarta. 149-152.
- Descoter. 1988. Immunotoxicity of Chemical In-immunotoxicology of Drugs and Chemicals. Amsterdam. 297-441.

- Despopoulus, A. 2000. Atlas Berwarna dan Teks. Penerbit Hipokrates. Jakarta
- Dixon, A. D. 1986. Buku Pintar Anatomi Untuk Kedokteran Gigi (Anatomy For Student Dentistry). Edisi 5. Diterjemahkan oleh Lilian Yuwono. Penerbit Hipokrates. Jakarta. 440-451.
- Doull, J., C. D. Klassen and M. O. Amdur. 1980. Toxicology The Basic Science of Poison. Mac Millan Publising Co.Inc. New York. 233-240, 404-407, 690- 691.
- Duffus J. H. and Howard G. J. W. 1996. Fudamental Toxicology for Chemist. The Royal Society Chemistry. Cambridge. 145-151.
- Eyl, Thomas B. 1971. Organic Mercury Poisoning. The New England Journal of Medicine. England. Volume 284. 706-709.
- Fahy, J. M. 1987. Mercury in Environment. New York. USA.
- Fardiaz, S. 1992. Polusi dari Air dan Udara. Cetakan Pertama. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 48-58.
- Fawcett, D. W. 2002. Buku Ajar Histologi. Alih Bahasa Oleh Jan Tambayong. Edisi 12. EGC. Jakarta.
- Fiore, M. 1992. Atlas Histologi Manusia Edisi 6. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 82-85.
- Flanagan, R. J. 1995. Basic Analitycal Toxicology. WHO. Geneva.
- Goyer, R. A. 2000. Toxicological Effect of Methylmercury. National Academic Press. Washington DC.
- Granjean, P. 1997. Cognitive Defisit In 7 Years Old Children With Prenatal Exposure to Methylmercury Neurotoxicologi Teratologi. 19(8). New York. 417-428.
- Hammond, A. L. 1971. Mercury in The Environment : Natural Human Factor Science 1971. 788-789.
- Handajani, U. S. dan Boediono. 2000. Analisis Kandungan Logam Berat Berbahaya Hg, Cd, dan Pb Dalam Kupang Pada Perairan Estuari Pantai Kenjeran Surabaya, Sungai Kepitingan Sidoarjo Dan Pantai Kraton Pasuruan. Jurnal Penelitian Medika Eksakta. Vol. I. No. 2. Surabaya. 35-43.
- Himawan, S. 1994. Patologi. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

- Hullman, P. and Nelson Jr. 1998. The Effect Toxicokinetic on Mercury Induce Autoimmunity. *Env. Reg.* May 1998. 77 (2). 141-148.
- Hullman, P. 1998. Activation of The Immun System and Sistemic Immunocomplex Deposit in Brown Norway Rats with Dental Amalgam Restoration. *Journal Dental Rev.* 77 (6)
- Junqueira, L. C. 1997. *Histologi Dasar*. Alih Bahasa Oleh Jan Tambayong. Edisi 8. EGC. Jakarta.
- Kahle, W. 1990. *Atlas Dan Buku Teks Anatomi Manusia Bagian 3 Sistem Saraf Dan Organ Sensoris*. Alih Bahasa Oleh dr. Jan Tambayong. Penerbit EGC. Jakarta 1990.
- Kimble, D and Colman. A. M. 1995. *Biological Aspect of Behavior*. Longman Publishing. New York.
- Koeman, S. H. 1987. *Pengantar Umum Toksikologi*. Diterjemahkan oleh R. H. Yudono. Penerbit Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kusriningrum. 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan acak Lengkap*. Surabaya.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko Edisi 2*. Diterjemahkan Oleh Edi Nugroho. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Mardjono, M dan Sidharta, P. 1978. *Buku Pelajaran Neurologi Klinis Dasar*. Edisi 3. Penerbit PT. Dian Rakyat. Jakarta.
- Murtadho, D dan Sa'id, E. G. 1988. *Pemanfaatan Limbah Padat*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi 5. Diterjemahkan Oleh Mathilda B, Widiyanto dan Ana Setiadi Ranti. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Noback, C. R. 1991. *Anatomi Susunan Syaraf Manusia : Prinsip-Prinsip Dasar Neurologi (The Human Nervous System : Basic Principles of Neurobiology)*. Edisi 2. Diterjemahkan Oleh A. Munandar. CV EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Nolte, J. 1993. *The Human Brain : An Introduction to Its Fuctional Anatomy*. 3<sup>rd</sup> ed. Mosby-Year Book Inc. USA. 337-365.



- Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 43-53. 94-114.
- Pikir, S. 1994. Studi Tentang Kandungan Logam Berat Dalam Sedimen dan Dalam Kupang di Daerah Estuari Pantai Timur Surabaya. Jurnal Penelitian Universitas Airlangga Vol. II No. 1. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ratna, D. S. J. 1996. Buku Kuliah Susunan Saraf Otak Manusia. Edisi pertama. Penerbit CV. Sagung Seto. Jakarta.
- Roizin, L.; Shiraki, H.; and Gregeric, N. 1977. Neurotoxicology. Vol.1. Raven Press. New York. 65-68.
- Rowie, C. 1998. The Effect of Lindane and Mercury Pollutant Incidence on Health Community. Journal. July 112 (4). 249-255.
- Satmoko, 1990. Merkuri dan Masalahnya. Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia. Th. XIX. No. 2
- Saeni, M. S. 2000. Determination of Heavy Metal Pollutan by Hair Analysis. E-Jima. Vol.1. No.1. Oktober.
- Simmons, L. G. 1981. The Ecology of Natural Resources. Edward Arnold. London.
- Sjarkawi, J. A. 2002. Pengaruh Paparan Merkuri Terhadap Tingkat Kecerdasan Anak (IQ) di Wilayah Pantai Kenjeran Surabaya. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 8-17.
- Slamet. 1994. Kesehatan Lingkungan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Soesanto, M. 1985. Pengaruh Logam Berat Bagi Lingkungan. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Struhs, D. B. 1997. Mercury Toxicity. Technical Review. Department of Env. Protection Commonwealth of Massachusetts. July.
- Sukoadi, 2002. Analisis Pengaruh Pencemaran Merkuri di DAS Kahayan Terhadap Kandungan Merkuri Rambut dan Gangguan Pada Sistem Saraf pada Masyarakat yang Bertempat Tinggal di DAS Kahayan Kab. Kapuas Kal. Tengah. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 94-95.
- Sulaksmono, M. 2000. Dampak Pencemaran Limbah B3 Di Lingkungan Terhadap Kesehatan. FKM Unair. Surabaya.

- Sumengen, S. 1988. Merkuri dan Bahayanya. Medika No 12 Th 14.
- Syamsudin, U. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 781-799.
- Sylvaine, C. 1998. Mercury Exposure in French Guiana; Level and Determinant Achieve of Env. Health Issue. July-August.
- Waldicuk, M. 1974. Some Biological Concern in Metal Pollution. Academic Press London.
- Watts, R. J. 1998. Hazardous Wastes : Sources Pathway Receptor. John Willey and Sons, Inc. United States of America.
- Williams, G. 1997. Pollution Prevention Specialist, Mercury Pollution Prevention In Health Care. Medicine Technical Support. E mail : tech@medicine.com.
- Wilson, K. J. W. and Ross. 1990. Anatomy and Physiology in Health and Illness. 7<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone.
- Windarti. 1997. Pengaruh Pemberian Limbah Cair Pabrik Penyamakan Kulit Terhadap Perubahan Histopatologi Otak Tikus Putih. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

# LAMPIRAN

### **Lampiran 1 : Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi**

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan cara sebagai berikut :

- a. Fixasi dan pencucian
- b. Dehidrasi dan clearing
- c. Infiltrasi
- d. Pembuatan blok parafin
- e. Pengirisan dan mikrotom
- f. Pewarnaan
- g. Penutupan dengan cover glass

#### **a. Fixasi dan pencucian**

Tujuan : -mencegah terjadinya degenerasi post mortem  
-mematikan kuman atau bakteri  
-meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna  
-menjadikan jaringan lebih keras, sehingga mengawetkan bentuk yang sebenarnya dan mudah dipotong  
-meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan

Reagen : formalin 10 %

Cara kerja : setelah hewan percobaan mati segera lakukan seksi, kemudian masing-masing otak diambil dan dimasukkan dalam formalin

10% sekurang-kurangnya selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan air kran.

b. Dehidrasi dan clearing

Tujuan : -untuk menarik air dari jaringan  
-membersihkan dan menjernihkan jaringan

Reagen : alkohol 70%, 80%, 95%, alkohol absolut I, II, III, xylol dan II.

Cara kerja : otak yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 95%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II masing-masing selama 30 menit.

c. Infiltrasi

Tujuan : untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin. Parafin ini akan menembus ruang antar sel dan dalam sel, sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : parafin I dan II

Cara kerja : jaringan dimasukkan ke dalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam parafin II dan dimasukkan ke dalam oven 30 menit pada suhu 80°C.

d. Pembuatan blok parafin

Tujuan : untuk memudahkan pemotongan jaringan

Reagen : parafin cair

Cara kerja : disediakan beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lengketnya parafin dan cetakan, kemudian otak yang telah dipotong-potong tadi dimasukkan dengan pinset dan ditunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan tipis

Tujuan : untuk memotong jaringan setipis mungkin sehingga mudah dilihat dibawah mikroskop

Reagen : mikrotom

Cara kerja : pemotongan dilakukan secara random, yaitu tiap 15 kali pemotongan yang dilakukan seri diambil satu dengan ketebalan empat sampai tujuh mikron, kemudian dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 20°C sampai 30°C, sampai jaringan mengembang dengan baik, kemudian diletakkan pada obyek glass yang sebelumnya diolesi dengan Egg albumin, lalu dikeringkan dengan hot plate.

f. Pewarnaan

Tujuan : untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Disini digunakan *pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)*

Cara kerja : pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dilakukan dengan menggunakan metode Harris, yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam xylol I selama tiga menit dalam tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, lalu pada alkohol absolut I, II, alkohol 96%, 80%, 70% dan air kran selama satu menit.

Selanjutnya jaringan dimasukkan dalam zat warna Harris selama 5-10 menit, air kran selama 2-5 menit, acid alkohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amoniak 6 celupaan, aquades secukupnya, zat warna eosin selama seperempat menit, lalu dimasukkan lagi dalam aquades secukupnya. Kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting : penutupan obyek glass dengan cover glass yang sebelumnya telah ditetesi dengan canada balsem

Setelah pembuatan preparat selesai dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100 kali dan 400 kali.

**Lampiran 2. Jumlah Rata – rata Piramid yang Mengalami Nekrosis Dalam Lima Lapang Pandang**

Perlakuan /Ulangan	Lapang Pandang					Rata-rata		
	1	2	3	4	5	y (%)	Arc.Sin. $\sqrt{y}$ (%)	
P0	1	7,02	0	3,92	9,18	11,11	6,25	14,54
	2	15,94	14,98	3,26	0	4,41	7,72	16,11
	3	6,94	11,27	8	10,38	2,99	7,92	16,32
	4	4,11	1,15	12,82	11,43	9,72	7,85	16,32
	5	0	0	5,17	3,51	8,23	3,47	10,78
	6	11	7,14	11,11	10,81	8,53	9,72	18,15
P1	1	42,86	72,45	65,51	71,96	88,98	67,95	55,55
	2	74,67	56,25	68	62,32	62,34	64,72	53,55
	3	52,54	74,24	81,93	59,70	83,13	70,32	56,98
	4	68,33	73,85	81,78	68,75	75,64	73,67	59,15
	5	56	56,52	75	54,17	61,54	60,65	51,18
	6	46,85	61,90	46,67	43,21	58,82	51,49	45,86
P2	1	29,37	43,86	42,86	58,54	46,51	44,23	41,61
	2	34,10	53,66	47,50	55,32	50,98	48,31	44,03
	3	39,34	51,37	48,98	50	47,36	47,41	43,51
	4	48,94	50	53,33	68,38	62,75	56,77	48,91
	5	62,25	63,64	40,77	51,80	59,18	55,53	48,16
	6	63,74	23,74	50	38,25	33,58	41,86	40,34
P3	1	50	49,47	42,56	60	42	48,81	44,32
	2	33,33	36,51	38,27	43,21	25	35,35	36,51
	3	41,56	27,78	39,51	32,20	35,42	35,38	36,51
	4	31,57	46,76	27,42	39	24,58	33,95	35,67
	5	40,17	43,40	34,57	38,87	46,64	40,73	39,64
	6	63,89	54,17	64,29	63,89	52,84	57,94	49,54

Keterangan : data dalam bentuk persentase ditransformasi dengan menggunakan Arc.  $\sqrt{\sin}$ , kemudian hasil yang diperoleh diolah dengan menggunakan uji F



**Lampiran 3. Pengolahan Data Jumlah Sel yang Mengalami Nekrosis**

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= \frac{991,97^2}{6 \times 4} \\
 &= \frac{984004,4809}{24} \\
 &= 41000,1860
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKT} &= 6,25^2 + 7,72^2 + \dots + 57,94^2 - \text{FK} \\
 &= 51486,1130 - 41000,1860 \\
 &= 10485,9270
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKP} &= \frac{56,9^2 + 388,8^2 + 294,11^2 + 252,16^2}{6} - \text{FK} \\
 &= 50748,0660 - 41000,1860 \\
 &= 9747,88
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKS} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 10485,9270 - 9747,88 \\
 &= 738,047
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KTP} &= \frac{\text{JKP}}{t-1} \\
 &= \frac{9747,88}{3} \\
 &= 3249,2933
 \end{aligned}$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{t(n-1)}$$

$$= \frac{738,047}{20}$$

$$= 36,9023$$

$$\text{Fhitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}}$$

$$= \frac{3249,2933}{36,9023}$$

$$= 88,0512$$

**Lampiran 4. Sidik Ragam**

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	9747,88	3249,2933	88,0512**	3,10	4,94
Sisa	20	738,047	36,9023			
Total	23	10485,9270				

Kesimpulan : Terdapat pengaruh yang nyata terhadap jumlah sel piramid yang mengalami nekrosis pada perlakuan ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ).

**Lampiran 5. Uji Beda Nyata terkecil (BNT) 5%**

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{5\% (20)} \times \sqrt{\frac{2.KTS}{n}} \\
 &= 2,0860 \times \sqrt{\frac{2 \times 36,9023}{6}} \\
 &= 7,3161
 \end{aligned}$$

**Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)**

Perbedaan	Rata-rata $\bar{x}$	Beda			BNT 5%
		$\bar{x} - P_0$	$\bar{x} - P_3$	$\bar{x} - P_2$	
P <sub>1</sub>	64,8000 <sup>a</sup>	55,3167 *	22,7733 *	15,7817 *	7,3161
P <sub>2</sub>	49,0183 <sup>b</sup>	39,535 *	6,9916 *		
P <sub>3</sub>	42,0267 <sup>b</sup>	32,5434 *			
P <sub>0</sub>	9,4833 <sup>c</sup>				

**Lampiran 6 : Penghitungan Pengenceran Dosis**

Dosis pengenceran  $\text{HgCl}_2$  pada Kupang Beras (*Corbula faba*)

1 kg kupang = 1 liter air

$10^6$  mg =  $10^3$  ml

$10^3$  mg = 1 ml

1 mg =  $10^{-3}$

0,64 ppm =  $\frac{0,64 \text{ mg merkuri}}{10^6 \text{ mg kupang}}$

untuk pengenceran  $\text{HgCl}_2$  pada Kupang Beras :

$$= 0,64 \times 10^{-6} : 10^{-3}$$

$$= 0,64 \times 10^{-3}$$

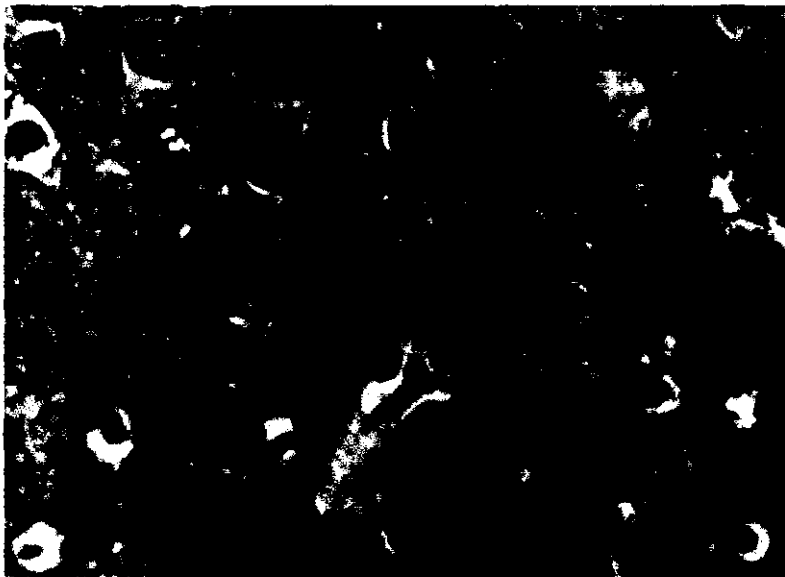
1 ekor mencit =  $\frac{0,64 \text{ mg}}{10^3}$

dosis untuk mencit x 40 dosis pada manusia ( Laurence dan Bacharach, 1964)

$$= \frac{25,6 \text{ mg}}{10^3 \text{ ml}} = 1 \text{ ml}$$

0,5 ml untuk setiap mencit sehingga dibagi 2000

$$= \frac{0,0128 \text{ mg}}{0,5 \text{ ml}}$$

**Lampiran 7. Gambar Sel Piramid**

Gambar 1. Sel Piramid Normal (Perbesaran 400X)



Gambar 2. Sel Piramid yang Mengalami Piknotis (A), Karioreksis (B), Kariolisis (C) (Perbesaran 400X)