

## **PENGARUH PEMBERIAN *BUTYLATED HYDROXYTOLUENE* (2,6-DI-TERT-BUTYL-4-METHYLPHENOL) PER ORAL DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS GINJAL**

Vivin Aprilia<sup>1</sup>, Hadi<sup>2</sup>, Saebani<sup>2</sup>, Sigid Kirana Lintang Bhima<sup>2</sup>, Akhmad Ismail<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup> Staf Pengajar Ilmu Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>3</sup> Staf Pengajar Ilmu Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) merupakan zat kimia berupa molekul bio-aktif lipofilik dan turunan fenol digunakan sebagai antioksidan di dalam makanan kemasan, tetapi efeknya terhadap kesehatan masih belum jelas. Penelitian in-vitro sebelumnya menunjukkan bahwa BHT dapat menyebabkan toksisitas terutama terhadap hepar. Selain itu, diperkirakan efek toksisitas juga dapat terjadi pada berbagai organ lain, salah satunya terjadi pada ginjal.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral dosis bertingkat terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan *Post Test Only with Control Group Design*. Sampel sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 tikus. Kelompok kontrol hanya diberi pakan standar, Kelompok P1 perlakuan 300mg/kgBB, P2 perlakuan 600 mg/kgBB dan P3 perlakuan 1.200 mg/kgBB. Setelah hari ketiga, tikus wistar pada kelompok P3 semuanya mati, sehingga sampel pada kelompok lain dilakukan terminasi. Kemudian ginjal diambil, difiksasi dengan buffer formalin, preparat diproses, kemudian setiap preparat diamati pada 5 lapang pandang yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 100x dan 400x. Dinilai derajat kerusakan ginjal: normal, ringan (dilatasi tubulus), sedang (degenerasi albuminosa), dan berat (nekrosis sel tubulus).

**Hasil:** Gambaran histopatologis kelompok kontrol menunjukkan gambaran normal, P1 menunjukkan gambaran ringan, P2 gambaran sedang, dan P3 gambaran berat. Rerata degenerasi sel ginjal semakin meningkat dari kontrol sampai P3, dengan rerata tertinggi terdapat pada kelompok P3. Analisis statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,002$ ), dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan bermakna antara kontrol dengan P1 ( $p=0,005$ ), kontrol dengan P2 ( $p=0,004$ ), kontrol dengan P3 ( $p=0,004$ ), dan P2 dengan P3 ( $0,015$ ), dan perbedaan yang tidak bermakna pada P1 dengan P2 ( $p=0,905$ ) dan P1 dengan P3 ( $p=0,054$ ).

**Simpulan:** Pemberian *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dosis bertingkat menyebabkan terjadinya perubahan gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar dengan derajat yang berbeda.

**Kata Kunci:** *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), ginjal, degenerasi, nekrosis, tikus wistar.

### **ABSTRACT**

**PENGARUH PEMBERIAN *BUTYLATED HYDROXYTOLUENE* (2,6-DI-TERT-BUTYL-4-METHYLPHENOL) PER ORAL DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS GINJAL**

**Background:** Butylated Hydroxytoluene (BHT) is one of the chemical substances in form of lipophilic bioactive molecules and derivative of phenol that is mostly used as antioxidant in packaged food, yet its effect on human well-being remains unclear. The previous in-vitro research signified that BHT could cause toxicity especially to the liver. Besides, it was estimated that the toxicity effect could also occur to other organs, such as kidneys.

**Aim:** To understand the effect of gradual dosage of Butylated Hydroxytoluene oral administration on wistar's kidney's histopathological image

**Method:** This research used experimental study with Post Test Only with Control Group Design. Sample of 20 male wistars that had met the inclusion and exclusion criteria were then put to adapt for 7 days, and then divided into 4 groups. Control group was just fed basic food, group P1, P2, and P3 were fed solution of BHT with dosages of 300, 600, and 1.200 mg/kgBB respectively for 3 days. After 3 days had passed, the living wistars were euthanized by decapitation, and their kidneys were subsequently extracted for histopathological examination in form of kidney cell degeneration and necrosis. The data was then described into tables, images, and statistical analysis.

**Result:** The highest average of kidney cell degeneration and necrosis occurred in Group P3. The result of statistical test indicated that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the degree of kidney cell degeneration between Control with P1, P2, P3; P1 and P3, and P2 and P3.

**Conclusion:** The gradual dosage of Butylated Hydroxytoluene administration can lead to the alteration of kidney's microscopic images in wistars with various degrees.

**Keywords:** Butylated Hydroxytoluene (BHT), Kidney, degeneration, necrosis, wistar.

## PENDAHULUAN

Industri makanan saat ini telah berkembang pesat. Bahan tambahan makanan adalah bahan kimia yang terdapat dalam makanan yang ditambahkan secara sengaja atau yang secara alami bukan berasal dari bahan baku, untuk mempengaruhi dan menambah cita rasa, warna, tekstur, dan penampilan makanan. Salah satu bahan tambahan makanan yang banyak digunakan adalah antioksidan.<sup>1</sup>

Antioksidan secara kimia adalah senyawa pemberi electron, sedangkan secara biologis merupakan senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak

negatif oksidan.. Selain itu, penggunaan antioksidan ini juga berguna untuk mempertahankan mutu dan gizi makanan sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang relatif lama tanpa mengalami perubahan rasa.<sup>2</sup>

*Butylated Hydroxytoluene* (BHT) merupakan salah satu zat kimia yang banyak digunakan sebagai antioksidan di dalam makanan kemasan, terutama makanan yang mengandung lemak dan minyak. Meskipun banyak digunakan dalam makanan, ternyata efek BHT terhadap kesehatan manusia masih belum jelas.<sup>3</sup> Senyawa-senyawa antioksidan

sintetik seperti *Butylated Hydroxytoluen* (BHT), *Tertbutylhydroxyquinone* (TBHQ) dan *Butylated Hydroxyanisole* (BHA) dilarang penggunaannya karena bersifat karsinogenik.<sup>4</sup> Penelitian pada manusia, BHT dosis tinggi dikatakan dilaporkan dapat menyebabkan neurotoksisitas akut, toksisitas hepar dan ginjal dan paru, serta difusi hepar. Walaupun demikian, data epidemiologi pasti mengenai toksisitas BHT ini masih belum jelas.<sup>5</sup>

Ginjal merupakan organ tubuh yang berfungsi sebagai organ sekresi bagi tubuh. Terkait dengan BHT, ginjal merupakan tempat akumulasi zat sisa yang tidak lagi digunakan tubuh. Akumulasi zat sisa secara berlebihan dapat menyebabkan gangguan fungsi fisiologis dan kerusakan ginjal. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, tidak ditemukan BHT pada feses dan urin tikus. Penelitian lainnya turut menyatakan bahwa kandungan BHT, BHA dan TBHQ tidak ditemukan dalam urin manusia meski telah mengkonsumsi makanan yang mengandung BHT, BHA dan TBHQ.<sup>6,7</sup> Untuk mengetahui pengaruh BHT terhadap ginjal maka dilakukan penelitian terhadap tikus Wistar, yang tergolong dalam kelas Mammalia sehingga memiliki kemiripan fisiologis dengan manusia.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini berkaitan dengan Ilmu Kedokteran Forensik, Ilmu Patologi Anatomi, dan toksikologi. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di *Animal Care* Universitas Negeri Semarang. Pemeriksaan histopatologis dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang. Penelitian ini dilakukan pada April 2017 – Juni 2017.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan tikus *Wistar* jantan sebagai objek penelitian, dengan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan randomisasi sederhana.

Keempat kelompok tikus tersebut adalah :

- Kontrol (K) : diberi pakan standar
- Perlakuan 1 (P1) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 300 mg/kgBB
- Perlakuan 2 (P2) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 600 mg/kgBB
- Perlakuan 3 (P3) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 1200 mg/kgBB

Populasi target adalah tikus *Wistar* yang diperoleh dari *Animal Care* Universitas Negeri Semarang. Populasi terjangkau adalah tikus *Wistar* yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria

eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah Tikus *Wistar* jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram, dan dalam keadaan sehat dan tidak ada kelainan anatomi. Sedangkan kriteria eksklusi tidak bisa makan dan minum secara alamiah, tikus yang mengalami sakit atau mati sebelum penelitian.

Pengambilan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*. Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor per kelompok. Pada penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan 20 ekor tikus. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral dengan berbagai dosis. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar*.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari ginjal tikus *Wistar*, dimana dilakukan pengamatan gambaran histopatologi dan dinilai berdasarkan kerusakan ginjal tikus *Wistar* dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol

Cara kerja penelitian ini adalah sampel berjumlah 20 ekor tikus, dibuat menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri

dari 5 ekor tikus yang dibagi secara acak. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol yang hanya diberi pakan standar. Sedangkan kelompok lainnya merupakan kelompok perlakuan yang mendapat *butylated hydroxytoluene* dengan dosis bertingkat.

Tikus diadaptasi selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar dan minum yang sama selama 1 minggu secara *ad libitum*. Setelah itu masing-masing kelompok tikus mendapat perlakuan berbeda selama 30 hari. Tikus diperlakukan seperti di atas, dimana *Butylated Hidroxytoluene* diberikan secara sonde selama 30 hari oleh tenaga ahli setiap pagi pada jam yang sama. Setelah diberi perlakuan, tikus yang belum mati dalam 30 hari dimatikan dengan cara dekapitasi. Selanjutnya ginjalnya diambil, difiksasi dengan buffer formalin, kemudian dibuat preparat menggunakan metode baku histologi pemeriksaan jaringan. Setelah itu dilakukan pemeriksaan mikroskopis terhadap jaringan ginjal tersebut. Dari setiap tikus dibuat 5 preparat ginjal dan tiap preparat diamati pada 5 lapangan pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 100x dan 400x. Lalu pada setiap preparat dihitung

nilai rerata degenerasi-nya dengan cara mengalikan jumlah sel sesuai kategori-nya dengan nilai yang ada pada tabel . Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur histologis ginjal tikus. Kriteria penilaian terhadap sel yang berdegenerasi adalah sel normal = 0; dilatasi tubulus = 1; degenerasi albuminosa = 2; nekrosis sel tubulus =3.

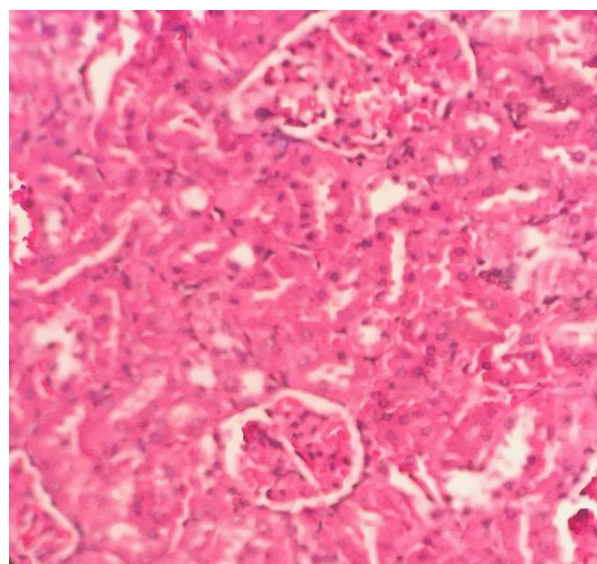
Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan akan diuji normalitas untuk mengetahui apakah persebaran datanya normal menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Apabila didapatkan distribusi datanya normal dengan variasi data homogen, maka dilanjutkan analisis data untuk menguji perbedaannya dengan menggunakan uji parametrik *One Way Anova*, jika nilai  $p < 0,05$  maka dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Namun, apabila didapatkan distribusi datanya tidak normal, maka dilanjutkan analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, jika nilai  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*

## HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, masing-masing kelompok perlakuan seharusnya diberikan larutan butylated hydroxytoluene selama 14 hari kemudian nantinya akan dilakukan pengambilan organ ginjal untuk dibuat sediaan preparat histologis ginjal dan

dilakukan pengamatan terhadap sel ginjal yang mengalami perubahan mikroskopis berupa degenerasi dan nekrosis dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x. Tetapi, pada saat penelitian, kelompok P3 yang mendapat larutan butylated hydroxytoluene dosis 1.200 mg/dl mati pada hari ketiga, sehingga dilakukan terminasi pada kelompok perlakuan 1 dan 2 . Untuk menilai derajat kerusakan sel-sel ginjal dari setiap masing-masing preparat dibaca dengan menggunakan mikroskop dalam 5 lapangan pandang.

Penilaian derajat kerusakan dilakukan oleh seorang spesialis Patologi Anatomi. Hasil pengamatan preparat dapat dilihat pada gambar berikut:

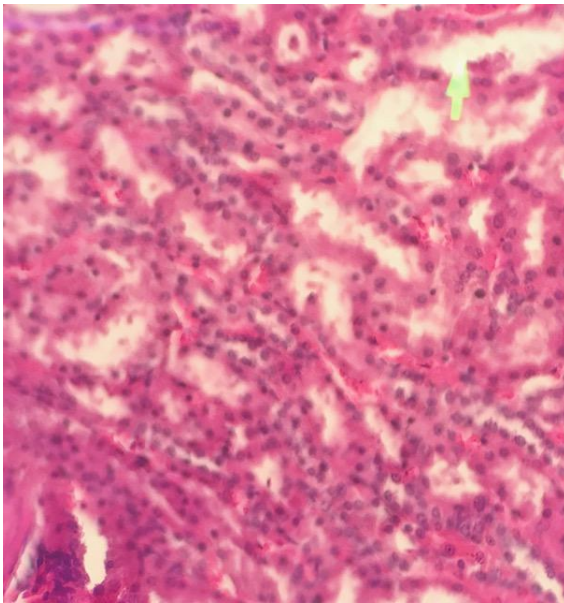


**Gambar 1.** Kontrol negatif (400x,HE)

Terdapat sel-sel hepar normal



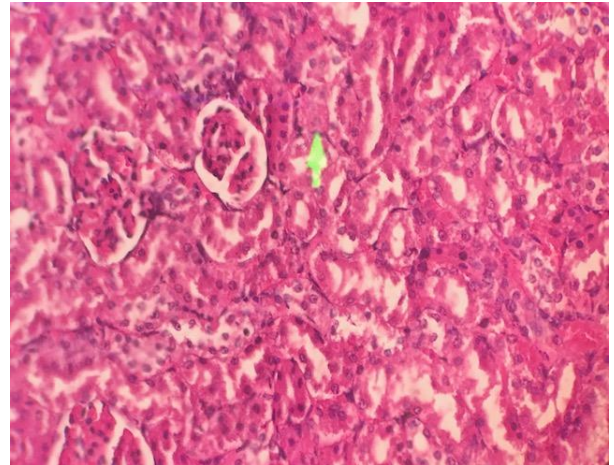
Kelompok kontrol terlihat gambaran mikroskopik sel-sel ginjal tidak mengalami kerusakan. Sel berbentuk bulat, mempunyai sitoplasma utuh dan berwarna ungu, membran sel tidak rusak, dan inti sel bulat tidak padat.



**Gambar 2.** Perlakuan 1 (400x,HE)

Terdapat dilatasi tubulus (panah kuning)

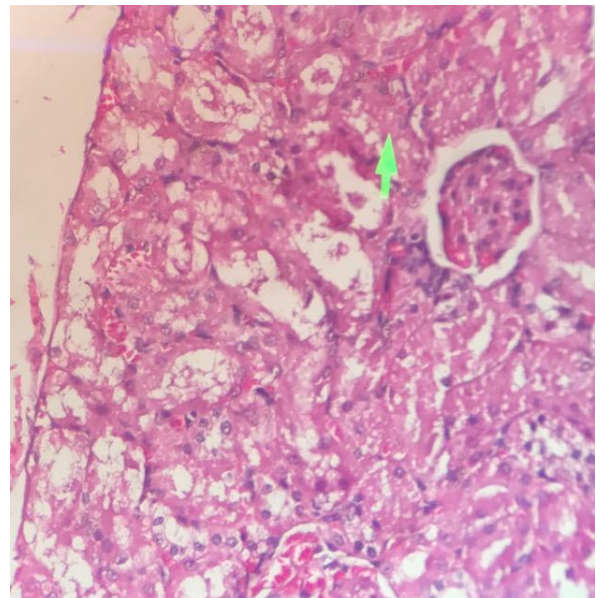
Kelompok perlakuan 1 didapatkan dilatasi tubulus dimana terjadi pelebaran tubulus ginjal lebih dari normal dimana terjadi pelebaran tubulus ginjal lebih dari normal.



**Gambar 3.** Perlakuan 2 (400x,HE)

Terdapat degenerasi albuminosa, sel terlihat vakuolisasi (panah hijau)

Kelompok perlakuan 2 didapatkan degenerasi albuminosa. Degenerasi albuminosa merupakan tingkat kerusakan struktur ke-2 ditandai pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma akibat protein yang mengendap.



**Gambar 4.** Perlakuan 3 (400x,HE)

Terjadi nekrosis pada sel (panah hijau)

Kelompok perlakuan 3 didapatkan nekrosis pada sel. Dimana nekrosis ditandai dengan nukleus mengkerut (piknosis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (kariokinesis), nukleus lisis (kariolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas.

**Tabel 1.** Analisis Deskriptif Gambaran Mikroskopis kerusakan Ginjal Tikus Wistar

Kelompok	Gambaran Mikroskopis			
	Mean	Standar deviasi	Mini mum	Maksi mum
K(-)	0.00	0.00	0	0
P1	1.80	0.83	1	3
P2	1.80	0.44	1	2
P3	2.80	0.44	2	3

Tabel diatas menunjukkan hasil rerata perubahan gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar. Berdasarkan tabel di atas, rerata perubahan K, P1, P2, P3 adalah 0,00, 1,80, 1,80, 2,80. rerata tertinggi perubahan gambaran mikroskopis ginjal untuk degenerasi dan nekrosis terdapat pada kelompok P3 dengan rerata 2,80. sedangkan perubahan terkecil terdapat pada kelompok kontrol dengan rerata 0,00.

Hasil Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan  $p < 0,05$ , maka ada pengaruh metode pemberian Butylated Hydroxytoluene terhadap gambaran

mikroskopis ginjal dua kelompok. Untuk mengetahui antara kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji analisis *Post Hoc*.

**Tabel 2.** Tabel Uji *Kruskal-Wallis* Degenerasi dan Nekrosis Ginjal Tikus Wistar

Kelompok Perlakuan	Median (Range)	P
P1	2 (1 – 3)	0,002*
P2	2 (1 – 2)	
P3	3 (2 – 3)	
K	0 (0 – 0)	

**Tabel 3.** Tabel Uji *Mann Whitney* Degenerasi dan Nekrosis ginjal Tikus Wistar

Kelompok Perlakuan	P1	P2	P3
K	0,005*	0,004*	0,004*
P1	–	0,905	0,054*
P2		–	0,015*

Hasil uji beda antar kelompok didapatkan bahwa skor nilai derajat degenerasi dan nekrosis pada ginjal antar kelompok K dengan P1, kelompok K dengan P2, kelompok K dengan P3, kelompok P1 dengan P3, dan kelompok P2 dengan P3 ditemukan hasil yang bermakna yaitu  $P < 0,05$ . Sedangkan kelompok P1 dengan kelompok P2 tidak terdapat perbedaan yang bermakna di mana  $p > 0,05$ .

Dari tabel 3 dapat dilihat adanya perbedaan gambaran histopatologi yang

bermakna secara statistik ( $<0,05$ ) antara p1 terhadap p2 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap p3 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap K ( $p=0,008$ ), P2 terhadap P3 ( $p=0,008$ ), P2 terhadap K ( $p=0,008$ ), dan P3 terhadap K ( $p=0,007$ ). Sehingga terdapat perbedaan gambaran histopatologi yang signifikan secara statistik karena  $p<0,05$

## PEMBAHASAN

*Butylated Hydroxytoluene* (BHT) merupakan organik bio-aktif lipofilik dan turunan fenol yang ditambahkan ke dalam banyak bahan makanan untuk mencegah pembusukan lemak dan sebagai aditif untuk banyak produksi farmasi.<sup>5</sup> Terdapat 2 metabolisme utama BHT, melalui oksidasi dan konjugasi dari BHT alkyl substituent dan melalui phenoxy radical. BHT dimetabolisme di dalam hepar menjadi sulfat dan asam glukoronat yang di eksresikan melalui urin. Derivat ini akan di sekresikan kedalam tubulus proksimal nefron melalui sistem yang bertanggung jawab untuk transport anion, mekanisme yang sama seperti metabolit xenobiotic biasanya. Akumulasi aktif melalui darah kedalam tubulus, dan juga reabsorpsi air sepanjang nefron, akan menghasilkan peningkatan konsentrasi derivat BHT di unit fungsional ginjal.<sup>8</sup> Penelitian menunjukkan bahwa BHT secara jangka

pendek dapat meningkatkan insidensi nekrosis toksik, pneumotoksisitas, dan juga menyebabkan toksisitas hepar dan ginjal.<sup>9</sup>

Gambaran histologi ginjal normal terdiri atas nefron (*nephronum*) dan duktus koligens (*ductus coligens*) yang menampung curahan dari nefron. Nefron, selanjutnya terbagi lagi menjadi dua komponen yaitu korpuskulum ginjal (*corpusculum renale*) dan tubulus ginjal (*renal tubules*).<sup>10,11,12</sup>

Pada penelitian ini, semua sampel pada kelompok perlakuan 3 mati pada hari ketiga penelitian. Hal ini serupa dengan yang terjadi pada penelitian oleh Panicker et al pada tahun 2014 dimana semua sampel tikus wistar yang diberikan larutan BHT dosis tinggi (1g/kgBB) mati dalam waktu 2-3 hari setelah perlakuan. Kematian ini menunjukkan bahwa pemberian BHT dengan dosis yang terlalu tinggi bersifat toksik pada tikus wistar.<sup>5</sup> Pada penelitian ini, karena semua sampel pada kelompok perlakuan 3 mati pada hari ketiga perlakuan, maka sampel pada kelompok perlakuan 1 dan 2 diterminasi dengan cara dislokasi servikal untuk menghindari bias.

Berdasarkan temuan histologis, didapatkan bahwa pada kelompok kontrol ditemukan hasil normal pada semua sampel, kelompok perlakuan 1 ditemukan



kerusakan ringan hingga sedang, kelompok perlakuan 2 ditemukan kerusakan sedang dan berat, sedangkan kelompok perlakuan 3 ditemukan derajat kerusakan sedang hingga berat. Hasil ini menunjukkan bahwa didapatkan derajat kerusakan ginjal tikus wistar yang lebih berat pada pemberian dosis BHT yang lebih tinggi. Temuan histologis ini didukung dengan hasil analisa deskriptif dimana rerata tertinggi perubahan gambaran mikroskopis ginjal untuk degenerasi dan nekrosis terdapat pada kelompok perlakuan 3 (P3) yaitu kelompok diberikan kelompok yang diberikan larutan *butylated hydroxytoluene* dengan dosis 1200 mg peroral 3 hari dengan rerata 2.80. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan juga bahwa rerata derajat kerusakan histopatologi semakin meningkat dari kelompok kontrol sampai kelompok perlakuan 3. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Nakagawa dan Tayama yang menunjukkan adanya perbedaan derajat kerusakan histologis pada ginjal tikus terkait dengan perbedaan pemberian dosis BHT. Pada penelitian tersebut, dilakukan pemberian BHT dosis 500mg/kgBB dan 1000mg/kgBB pada tikus Fischer selama 4 hari, dan didapatkan hasil bahwa kelompok perlakuan yang mendapat dosis lebih tinggi (1000mg/dl) memberikan gambaran histologi berupa

gambaran nekrosis tubuler, namun tidak didapatkan derajat kerusakan apapun pada pemberian BHT dosis 500mg/dl. Pada penelitian tersebut, derajat kerusakan juga ditunjang oleh marker lain seperti adanya akumulasi asam *p-aminohippuric* pada preparat ginjal, proteinuria dan enzimuria pada sampel penelitian.<sup>14</sup>

Hasil analisis menggunakan uji statistik *Kruskal-wallis* menunjukkan hasil yang signifikan, yang berarti bahwa ada pengaruh pemberian BHT terhadap kerusakan ginjal. Hal ini sesuai dengan penelitian Meyer et al dengan menggunakan sampel 100 tikus yang menyimpulkan bahwa BHT dapat menyebabkan nefropati pada tikus.<sup>15</sup> Dari hasil uji *mann-whitney* tersebut, dapat disimpulkan bahwa perbedaan yang signifikan dari setiap kelompok tersebut menunjukkan bahwa efek kerusakan ginjal akibat BHT terkait dengan perbedaan dosis, yakni semakin besar dosis maka semakin berat kerusakan yang terjadi. Hasil ini mendukung penelitian Panicket et al pada tahun 2014, yang menyimpulkan bahwa efek toksik BHT terhadap tikus wistar berbeda secara bermakna terkait dosis. Pada penelitian tersebut, perlakuan dibagi menjadi kelompok 1 yang merupakan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 2 dengan dosis 250 mg/kgBB,

perlakuan 3 dengan dosis 500 mg/kgBB dan kelompok perlakuan 4 dengan dosis 1g/kgBB, dan didapatkan efek toksik yang lebih berat dengan pemberian dosis yang semakin besar.<sup>5</sup> Pada penelitian tersebut efek toksik yang dipantau adalah efek toksik terkait hepar, berbeda variable penelitian ini yaitu efek toksis terhadap ginjal. Namun, mengingat keterlibatan ginjal dalam metabolisme BHT dalam tubuh, maka efek terkait dosis tersebut diperkirakan juga dapat mempengaruhi ginjal.

Pada tikus, BHT dimetabolisme menjadi berbagai jenis sulfat dan asam glukoronat terkonjugasi. Sitokrom P<sub>450</sub> memediasi metabolisme di hepar, menyebabkan pembentukan metabolit BHT yang reaktif dan elektrofilik yaitu BHT quinone methide (BHT-QM) yang dapat berikatan kovalen dengan berbagai neklophil sel, terutama yang mengandung grup sulfhidryl seperti sisteine dan glutathione. Hasil metabolit ini nantinya akan di eksresikan melalui urin, feses dan sedikit melalui empedu. Metabolit hepat tersebut memiliki kemampuan berikatan dengan mikrosom ginjal sebesar 6%, dan diyakini bahwa metabolit tersebut memiliki efek sitotoksik terhadap sel ginjal.<sup>14,15</sup>

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Terbukti terdapat kelainan gambaran histopatologi ginjal, terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal pada tikus *Wistar* yang diberi *Butylated Hydroxytoluene* dengan tikus *Wistar* yang tidak diberi perlakuan apapun, perbedaan gambaran mikroskopis ginjal pada tikus *Wistar* yang diberi *Butylated Hydroxytoluene* 300, 600, 1200 mg/hari dengan kelompok kontrol. Hasil gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar antar kelompok perlakuan didapatkan perbedaan antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

### **Saran**

Perlu dilakukan penelitian pembandingan dan lanjutan pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar* dengan dosis yang bervariasi dan jangka waktu yang berbeda. Pemeliharaan tikus *Wistar* perlu diperhatikan agar tidak terjadi kelainan yang menyebabkan bias pada hasil pengamatan serta perlu regulasi lebih lanjut mengenai pembatasan penggunaan *Butylated Hydroxytoluene* dalam kehidupan manusia.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Sayuti Kesuma, Yenrina Rina. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang. Andalas University Press. 2015;2-97.
2. Shahidi F. Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2000 May 1;44(3):158-63.
3. Yehye, W. A., Abdul Rahman, N., Alhadi, A., Khaledi, H., Ng, S. W., & Ariffin, A. (2012). Butylated hydroxytoluene analogs: Synthesis and evaluation of their multipotent antioxidant activities. *Molecules*, 17(7), 7645-7665.
4. National Toxicology Program. Bioassay of butylated hydroxytoluene (BHT) for possible carcinogenicity. National Cancer Institute carcinogenesis technical report series. 1979;150:1.
5. Panicker Varuna P, George Sisilamma, dan B Dhanush Khrisna. Toxicity Study of Butylated Hydroxyl Toluene (BHT) in Rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;3:758-763.
6. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease 7<sup>th</sup> Ed*. Philadelphia. Elsevier Saunders.; 2005.
7. Conning DM, Phillips JC. Comparative metabolism of BHA, BHT and other phenolic antioxidants and its toxicological relevance. *Food and Chemical Toxicology*. 1;24(10-11):1145-8.
8. Elsevier. Fluid. Diperbaharui pada 2017. Diakses dari [www.elsevier.com/locate/fluid](http://www.elsevier.com/locate/fluid) pada 24 Februari 2017.
9. Nieva-Echevarría B, Manzanos MJ, Goicoechea E, Guillén MD. 2,6-Di-Tert-Butyl-Hydroxytoluene and Its Metabolites in Foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2015;14(1):67–80.
10. Guyton AC, John EH. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: EGC; 2007.
11. Ganong WF. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. Jakarta: EGC. 2008; 725-56.
12. Kidney Research UK. The kidneys – A Basic Guide. Diakses dari <https://www.kidneyresearchuk.org/health-information/resources/the-kidneys-a-basic-guide> pada 24 Februari 2017
13. Soebowo, Sarjadi, Wijaya I, Amarwati S, Miranti IP, Prasetyo A. *Patologi Anatomi*. Semarang (Indonesia): Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 2008;125-47.

14. Nakagawa, Y., & Tayama, K. (1988). Nephrotoxicity of butylated hydroxytoluene in phenobarbital-pretreated male rats. *Archives of toxicology*, *61*(5), 359-365.
15. Meyer, O. A., Kristiansen, E., & Würtzen, G. (1989). Effects of dietary protein and butylated hydroxytoluene on the kidneys of rats. *Laboratory animals*, *23*(2), 175-179.