

HUBUNGAN INHALASI LEM JENIS PEREKAT KARET KLOROPRENA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI KORTEKS SEREBRUM TIKUS PUTIH *SPRAGUE DAWLEY*

Ghary Yope Sihombing, I Nyoman Sasputra, Regina Hutasoit

ABSTRAK

Penyalahgunaan narkoba sudah menjadi fenomena ditingkat nasional maupun global. Salah satu alternatif untuk mendapatkan efek yang sama dengan pemakaian narkoba adalah “ngelem”. Penyalahgunaan lem atau zat inhalan dapat mengakibatkan gangguan pada sistem saraf pusat. Tujuan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan inhalasi lem jenis perekat karet koroprena terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih *Sprague dawley*. Metode penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan *true experimental design* dan *post-test controlled group design*. Sampel dalam penelitian ini menggunakan 10 ekor tikus putih *Sprague dawley* ditambah 2 ekor tikus putih sebagai cadangan. Sampel penelitian dibagi kedalam 2 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan yang diberikan paparan uap lem jenis perekat karet kloroprena sebanyak 70 gram/4 jam/ hari selama 21 hari. Perubahan histopatologi korteks serebrum tikus putih diamati secara mikroskopis setelah 21 hari inhalasi dan dinilai menggunakan skor kerusakan otak. Seluruh data pada penelitian ini diuji dengan secara statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan dianalisis menggunakan uji *Independen T-Test* apabila data penelitian bersifat parametrik atau uji *Mann-Whitney* apabila data penelitian bersifat non-parametrik. Hasil rata-rata skor kerusakan otak pada kelompok kontrol sebesar 1,96 dan kelompok perlakuan sebesar 3,26. Pada penelitian ini diperoleh hasil $p=0,003$ ($p<0,05$). Kesimpulan penelitian ini terdapat hubungan inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih *Sprague dawley*.

Kata kunci : Ngelem, Perekat Karet Kloroprena, Histopatologi Otak.

Ancaman penyalahgunaan Narkotika dan obat-obatan terlarang (NARKOBA) atau NAPZA (Narkoba, Psikotropika, dan Zat Aditif) sudah menjadi fenomena global dan merupakan ancaman kemanusiaan bagi warga pada tingkat lokal, nasional, regional, dan global.⁽¹⁾

Berdasarkan hasil survei Badan Narkotika Nasional (BNN) bekerjasama dengan Pusat Penelitian Kesehatan Universitas Indonesia (UI) memperkirakan prevalensi penyalahgunaan NAPZA pada tahun 2009 adalah 1,99% dari penduduk Indonesia berumur 10-59 tahun.⁽²⁾ Pada tahun 2010 jumlah kasus narkoba di NTT adalah 235 kasus, kemudian pada tahun 2011 berjumlah 868 kasus, dan pada tahun 2012 berjumlah 147 kasus.⁽³⁾

Salah satu bentuk penyalahgunaan NAPZA yang mudah didapatkan di kalangan masyarakat adalah kebiasaan menghirup lem atau yang biasa disebut dengan istilah “ngelem”.^(2,4) Menurut data Badan Narkotika Nasional tahun 2010, lem sudah dipakai sebagai alat ganti narkoba di Perkotaan Nasional sebanyak 35,3%.⁽⁹⁾

Efek akut yang dihasilkan dari *ngelem* sendiri membuat pemakai berhalusinasi, sensasi melayang-layang, mabuk, rasa tenang dan gembira sesaat meski kadang efeknya bisa bertahan hingga 5 jam sesudahnya.^(5,11) Kemudian dampak kronik yang dapat ditimbulkan bila penggunaan dalam jangka panjang yaitu dapat menurunkan daya ingat, menurunkan daya pikir, perilaku menjadi agresif, bahkan mengakibatkan organ-organ tubuh

seperti otak, jantung, paru-paru menjadi rusak.^(5,6)

Kandungan dalam lem yang diketahui dapat membuat efek-efek di atas adalah BTX (Benzena, Toluena dan Xylen). Bahan ini menjadi salah satu elemen penting dalam lem karena berfungsi sebagai pelarut dan cat.⁽⁷⁾

Benzena dan toluena merupakan pelarut organik yang sering digunakan di industri yang bersifat mudah menguap dan bersifat toksik, dan toluena merupakan pelarut yang paling banyak kandungannya dalam lem.⁽⁸⁾ Apabila zat-zat tersebut terpapar (terhirup atau tertelan) dapat menyebabkan gangguan kesehatan, iritasi kulit jika terkena oleh permukaan kulit, dan juga ketergantungan. Namun gejala-gejala tersebut tetap tergantung pada waktu pajanan, jumlah zat yang terpapar dan toksisitas zat tersebut.^(6,10)

Sejauh ini, penelitian berkaitan dengan pengaruh inhalasi lem terhadap struktur sistem saraf pusat belum terlalu mendalam diteliti. Oleh sebab itu, peneliti tertarik melakukan penelitian yang berjudul "Hubungan Inhalasi Lem Jenis Perekat Karet Kloroprena terhadap Gambaran Histopatologi Korteks Serebrum tikus putih *Sprague dawley*" untuk mengetahui pengaruh dari inhalasi lem terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih.

METODE PENELITIAN

Pemesanan dan pembelian tikus didapat dari Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana. Pembuatan

preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Prof. DR. W. Z. Johannes Kupang. Periode dalam penelitian dilaksanakan selama kurang lebih 8 minggu (2 bulan).

Jenis penelitian yang dilakukan ialah bersifat eksperimental laboratorium dengan *true experimental design* dan *post-test controlled group design*.

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel dari rekomendasi WHO (*World Health Organization*) adalah 5 ekor tiap kelompok.⁽¹²⁾

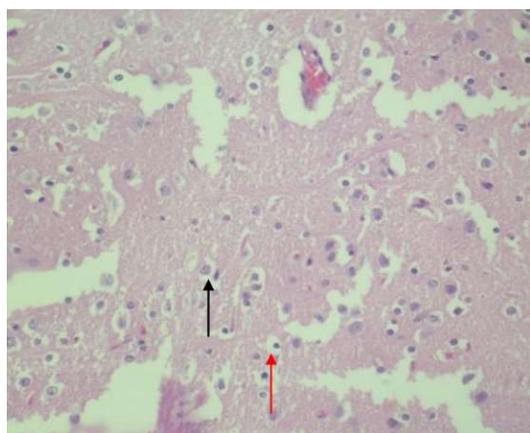
Jumlah kelompok dalam penelitian ini adalah 2 kelompok, dimana kedua kelompok ini adalah Kelompok Kontrol (K) dan Kelompok Perlakuan (P) sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 10 ekor tikus putih. Penambahan sampel sebagai cadangan dilakukan dengan syarat 20% (satu ekor) dari jumlah minimal hewan coba tiap kelompok. Sehingga total sampel yang dibutuhkan adalah 12 ekor tikus putih *Sprague dawley*. Perlakuan pemberian uap lem diberikan dalam waktu 4 jam/hari selama 21 hari (3 minggu).

Pada akhir penelitian, tikus putih di euthanasia menggunakan agen anestesi barbiturat pada dosis letal (Pentobarbital ≥ 150 mg/KgBB secara intravena), kemudian dilanjutkan dengan proses pembedahan pengambilan otak tikus putih.^(13,14,15) Kemudian semua sampel otak tikus putih dibuatkan preparatnya dan akan diamati secara mikroskopis untuk menentukan skor kerusakan korteks serebrum tikus putih berdasarkan skor kerusakan otak tikus.⁽¹⁶⁾

Tabel 1. Interpretasi Hasil⁽¹⁶⁾

| Gambaran Histologis | Skor/Kerusakan | | | |
|-----------------------------------|---|--|--|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Nekrosis sel neuron dan neuroglia | Sel-sel neuron dan neuroglia mengalami nekrosis 0/ Normal | Sel-sel neuron dan neuroglia mengalami nekrosis 1-10/ Ringan | Sel-sel neuron dan neuroglia mengalami nekrosis 11-20/Sedang | Sel-sel neuron dan neuroglia mengalami nekrosis >20/ Berat |

Gambar 1. Evaluasi histopatologi otak tikus putih. Ket: Panah hitam: Sel saraf normal, Panah merah: Sel piknotik dengan inti mengecil dan memadat⁽¹⁷⁾



Hasil penelitian ini akan dianalisis dengan menggunakan program analisis data. Variabel bebas dan kontrol pada penelitian ini merupakan jenis kategorik nominal, sedangkan variabel terikat pada penelitian ini merupakan jenis numerik ratio. Uji normalitas data yang dilakukan adalah uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50 ($p>0,05$).⁽¹⁸⁾ Apabila setelah dilakukan uji normalitas didapatkan data yang terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *T-test* tidak berpasangan. Apabila setelah dilakukan uji normalitas didapatkan data yang tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik yaitu *Mann-Whitney*.⁽¹⁸⁾

HASIL DAN PEMBAHASAN

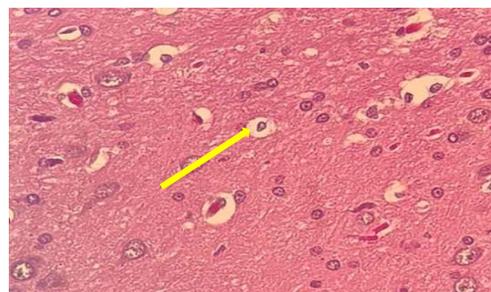
Hasil Pengukuran Berat Badan dan Kondisi Umum Tikus Putih Selama Penelitian

Hasil pengukuran berat badan sampel didapatkan bahwa tidak didapatkan sampel hewan coba mengalami penurunan berat badan sebesar 10%. Kesimpulan dari penimbangan berat badan hewan coba adalah hewan coba layak dijadikan sebagai sampel penelitian.

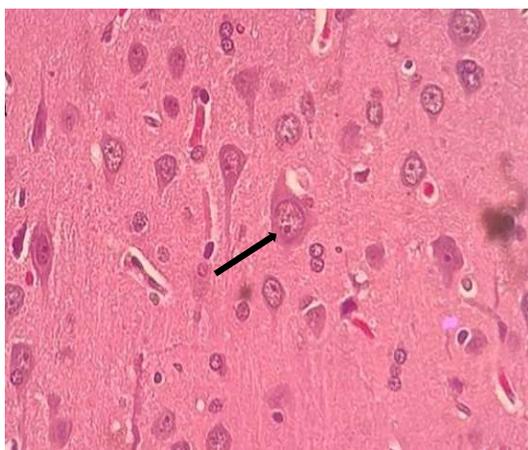
Berdasarkan hasil pengamatan, kondisi umum didapatkan pergerakan aktif dari tikus putih, ekor yang tidak menggulung, tidak terdapat rambut yang kusam maupun rontok, serta tidak terdapat eksudat/cairan abnormal yang keluar melalui mata, mulut, anus, dan genital.

Hasil Pengamatan Mikroskopis Kerusakan Otak Tikus Putih

Gambar 2. Sel neuron piknotik dengan intimengecil dan memadat (Panah kuning)



Gambar 3. Sel neuron normal (Panah hitam)



Tabel 2. Interpretasi Hasil Penelitian

| Sampel | Skor | Sampel | Skor |
|--------|------|--------|------|
| K1 | 2 | P1 | 3,4 |
| K2 | 1,8 | P2 | 3,8 |
| K3 | 2,2 | P3 | 3,2 |
| K4 | 2 | P4 | 3 |
| K5 | 2 | P5 | 3 |
| K6 | 2 | P6 | 3,2 |
| Mean | 2 | Mean | 3,26 |

Statistik Hasil Penelitian

Tabel 3. Uji Normalitas

| | Shapiro-Wilk | |
|--------------------|--------------|-------|
| | df | Sig |
| Kelompok Kontrol | 6 | 0,101 |
| Kelompok Perlakuan | 6 | 0,212 |

Tabel 4. Uji Homogenitas Data

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3,451 | 1 | 10 | 0,93 |

Tabel 5. Uji Independent T-test

| Uji Independent T-test | Sig. (2-tailed) |
|------------------------|-----------------|
| Skor Kerusakan Otak | 0,000 |

PEMBAHASAN

Penelitian dimulai dengan proses adaptasi hewan coba (tikus putih) selama 7 hari. Setelah dilakukan observasi terhadap kondisi umum dan pengukuran berat badan hewan coba hasilnya didapatkan pergerakan yang aktif dari tikus putih, ekor yang tidak menggulung, tidak terdapat rambut yang kusam maupun rontok, serta tidak terdapat eksudat/cairan abnormal yang keluar melalui mata, mulut, anus, dan genital. Hasil pengukuran berat badan hewan coba tidak menunjukkan penurunan berat badan melebihi 10% dan mayoritas dari hewan coba mengalami peningkatan berat badan hingga akhir masa adaptasi. Berdasarkan hasil observasi kondisi umum dan pengukuran berat badan hewan coba disimpulkan bahwa hewan coba dalam kondisi yang sehat dan tidak mengalami stress sehingga tidak ada hewan coba yang dieksklusikan.

Setelah dilakukan intervensi pemberian paparan uap perekat (lem) dan pengambilan hasil jaringan otak tikus putih, peneliti melakukan interpretasi terhadap sediaan preparat otak menggunakan skor kerusakan sel otak tikus putih.⁽¹⁵⁾ Aspek yang dinilai adalah sel-sel neuron yang normal dan sel-sel neuron dalam keadaan piknotik dengan inti mengecil dan memadat. Total skor akhir yang semakin besar mengindikasikan terjadinya kerusakan otak yang semakin besar, sedangkan total skor akhir yang semakin kecil mengindikasikan kerusakan otak yang lebih sedikit.

Interpretasi kerusakan otak pada kelompok kontrol menunjukkan skor terendah pada hewan coba K2 yaitu dengan skor rata-rata 1,8 yang berarti dari 5 lapang pandang yang diperiksa terdapat sedikit

kerusakan jaringan pada otak hewan coba (cenderung tidak ada, dan jika ada jumlahnya hanya sedikit), kemudian diikuti oleh hewan coba kelompok kontrol lainnya yaitu K1, K4, K5, K6 dengan skor rata-rata 2,0 yang menunjukkan bahwa dari 5 lapang pandang yang diperiksa rata-rata jumlah sel yang rusak yaitu 1-10 sel tiap lapang pandang. Kemudian pada hewan coba K3 didapatkan skor dengan rata-rata 2,2. Skor tersebut menginterpretasikan keadaan jumlah sel otak tikus yang rusak rata-rata antara 0-10 sel tiap lapang pandang, namun jika dilihat berdasarkan rata-rata skor kerusakan jaringan otak, terdapat juga jumlah sel neuron yang rusak antara 11-20 di beberapa lapang pandang yang sudah dinilai sesuai dengan skor derajat kerusakan otak.⁽¹⁵⁾ Berdasarkan hasil skor tersebut, ditemukan sel-sel neuron yang mengalami nekrosis dengan inti piknotik (sel yang mengecil dan memadat) pada kelompok kontrol. Hal ini disebabkan oleh pengaruh genetik dari hewan coba yang sifat genetiknya juga berbeda-beda pada setiap sampel sehingga berpengaruh pada keadaan otak sejak awal, dimana keadaan ini tidak dapat dideteksi secara klinis. Maka sekalipun kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan paparan uap lem, hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan bahwa derajat kerusakan otak pada kelompok kontrol berada pada tingkat normal-sedang.

Berdasarkan hasil penelitian, pada kelompok perlakuan didapatkan data skor kerusakan otak dengan rentang rata-rata skor dari 3 sampai 3,8 dan rata-rata skor kerusakan otak secara keseluruhan yaitu 3,26. Dari hasil skor tersebut, dapat disimpulkan bahwa derajat kerusakan otak dari kelompok percobaan berada pada tingkat sedang sampai berat, dengan rata-rata jumlah sel neuron yang mengalami nekrosis dengan inti piknotik (inti mengecil dan memadat) dari kelompok percobaan yaitu antara 11 sampai lebih dari 20 sel, dan bahkan di beberapa lapang pandang terdapat jumlah sel neuron yang rusak diatas 20 sel neuron.⁽¹⁵⁾ Bila ditinjau juga

dari tabel 4.1 dan tabel 4.2, terdapat perbedaan jumlah sel nekrotik yang sangat signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Selain melihat jumlah sel neuron yang rusak, peneliti juga memiliki beberapa catatan terkait hewan coba kelompok perlakuan selama intervensi berlangsung. Peneliti memperhatikan keadaan hewan coba selama berada didalam kandang perlakuan. Setelah diamati, pada menit awal perlakuan hewan coba tampak masih aktif, hal ini ditandai dengan banyaknya pergerakan dari hewan coba selama didalam kandang perlakuan. Akan tetapi, setelah beberapa menit, hewan coba cenderung lebih pasif (diam) dengan mata terlihat menutup, namun hewan coba tidak kehilangan kesadaran. Hewan coba dapat dikatakan tidak kehilangan kesadaran karena hewan coba masih merespon stimulus getaran dan bunyi yang diberikan peneliti dengan cara mengetuk-ngetuk kandang perlakuan tanpa perlu membuka kandang perlakuan sehingga konsentrasi lem dapat terjaga selama intervensi berlangsung. Respon yang diberikan hewan coba dari stimulus tersebut adalah dengan membuka mata. Patut dicurigai bahwa keadaan ini dapat terjadi akibat pengaruh paparan uap lem, dimana efek yang diberikan pada manusia dari inhalasi lem tersebut dapat memberikan sensasi melayang-layang, mabuk, dan rasa tenang.⁽⁵⁾

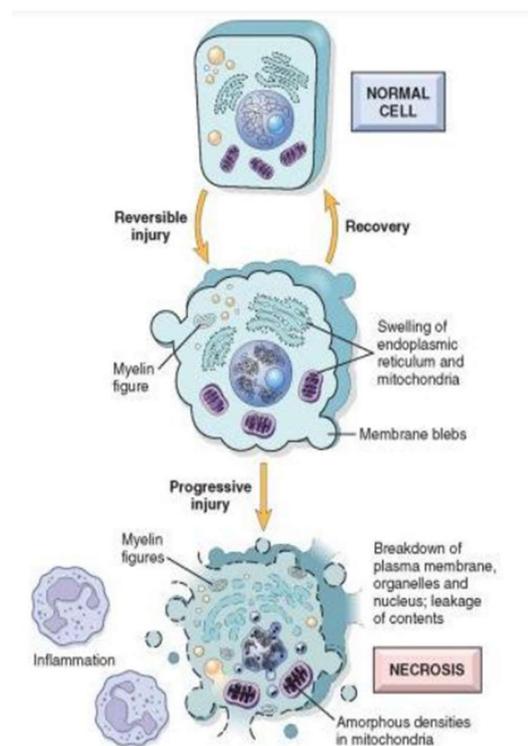
Pada kelompok perlakuan paparan uap lem diberikan dengan dosis dan jumlah waktu yang sama, tetapi berdasarkan data penelitian terdapat perbedaan skor kerusakan otak pada hewan coba. Hal tersebut terjadi akibat beberapa hal seperti perbedaan daya hirup tiap tikus, perbedaan daya tahan tikus terhadap efek paparan uap lem, perbedaan konsentrasi uap lem dalam tiap kandang perlakuan dan perbedaan durasi lem mengering yang akhirnya mempengaruhi konsentrasi uap lem dalam tiap kandang perlakuan. Pada data kelompok perlakuan, sel neuron nekrotik

memiliki jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan data pada kelompok kontrol, dan dari semua sampel hewan coba kelompok perlakuan (6 ekor tikus putih), semua hewan coba mengalami kerusakan sel otak dengan jumlah yang cukup banyak. Berdasarkan data ini, patut dicurigai bahwa kerusakan sel pada otak hewan coba kelompok perlakuan disebabkan oleh paparan uap lem jenis perekat karet kloroprena yang memicu proses kerusakan. Inhalasi lem mengakibatkan kerusakan sistem saraf pusat, dimana terjadi degenerasi dan kerusakan selubung mielin akson, terlihat secara makroskopis yaitu substansia alba yang menipis.⁽¹⁸⁾ Zat pada lem yang terbukti merusak jaringan saraf pusat tersebut adalah toluena yang bersifat lipofilik, dimana zat tersebut dapat masuk melalui sistem pernapasan (inhalasi) kemudian terdistribusi ke sistem peredaran darah dan masuk ke dalam sawar darah otak.⁽¹⁸⁾ Toluena mengakibatkan kerusakan sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran, homeostatis osmotik, dan integritas dari enzim.⁽¹⁹⁾ Pada sel yang mengalami *injury* berat (akibat paparan toluena), toluena akan menyebabkan kerusakan membran sel.⁽¹⁹⁾ Membran sel yang rusak akan menyebabkan ion Kalsium (Ca^{2+}) dari ekstraseluler masuk ke intraseluler, akibatnya intraseluler (sitoplasma) mengalami peningkatan kadar Ca^{2+} . Peningkatan kadar Ca^{2+} intraseluler menyebabkan gangguan permeabilitas membran mitokondria dan retikulum endoplasma halus meningkat, dan akhirnya menyebabkan kebocoran ion Ca^{2+} . Hal ini menyebabkan peningkatan kadar ion Ca^{2+} di sitoplasma sel.⁽¹⁹⁾

Peningkatan kadar Ca^{2+} di sitoplasma sel menyebabkan pengaktifan enzim-enzim intraseluler, seperti fosfolipase, protease, endonuklease, dan ATPase. Enzim fosfolipase dan protease yang aktif menyebabkan kerusakan pada membran sel, karena enzim-enzim ini memetabolisme struktur fosfolipid dan protein yang terdapat di membran sel.

Sedangkan enzim endonuklease menyebabkan kerusakan inti sel. Enzim ATPase menyebabkan penurunan pembentukan *Adenosin Tri Phospat* (ATP). Penurunan ATP sendiri selain disebabkan oleh enzim ATPase, juga disebabkan oleh mitokondria dalam melakukan proses fosforilasi oksidatif, yang akhirnya membuat sel tersebut mati.⁽¹⁹⁾

Gambar 4. Proses kematian sel (nekrosis)⁽¹⁹⁾



Pada reaksi inflamasi, terjadi perubahan diameter pembuluh darah untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah agar protein plasma dan leukosit dapat menuju sel yang mengalami *injury* atau luka. Netrofil yang keluar dari pembuluh darah dinamakan makrofag. Makrofag-makrofag tersebut kemudian menghasilkan mediator sitokin yang terdiri dari *Tumor Necrosis Factor* (TNF), Interleukin-1. TNF dan IL-1 kemudian menstimulasi pengeluaran mediator-mediator lain yang ada di pembuluh darah dan membuat reaksi inflamasi semakin

berlanjut.^(12,13,19) Sel-sel yang mati (nekrosis) akan memberikan gambaran histologi yaitu kariolisis, piknosis, dan karioreksis. Piknosis ditandai dengan menyusutnya inti sel dan peningkatan basofil di mana DNA berkondensasi menjadi massa yang menyusut padat.^(16,20)

Berdasarkan analisis data, perbandingan skor kerusakan otak antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menginterpretasikan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil yang signifikan dari kedua kelompok ini menunjukkan bahwa adanya hubungan antara inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih *Sprague dawley*.

Perihal kebaruan dari penelitian ini adalah jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya tentang paparan toluena murni terhadap gambaran medula spinalis tikus, penelitian ini memakai bahan yang menggunakan toluena sebagai pelarut yaitu lem jenis perekat karet kloroprena dan objek pengamatannya adalah korteks serebrum tikus putih.⁽²¹⁾ Selain itu, penelitian ini belum pernah dilakukan di provinsi Nusa Tenggara Timur.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih *Sprague dawley*.

SARAN

Perlu dilakukan pengukuran konsentrasi uap lem dalam ruangan kandang perlakuan untuk mengetahui konsentrasinya secara tepat ; Perlu dilakukan penelitian terkait perbedaan waktu atau dosis paparan uap lem jenis perekat karet kloroprena yang dapat mengakibatkan kerusakan histopatologi korteks serebrum tikus putih;

Perlu dilakukan pemeriksaan kondisi hewan uji yang lebih *advance* terutama terkait kondisi sistem saraf hewan uji; Perlu dilakukan penelitian terkait pengaruh inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena terhadap organ lainnya seperti ginjal, paru, hati dan lain-lain; Perlu dilakukan penelitian terkait perbandingan pengaruh inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena dengan paparan bahan-bahan yang menggunakan toluena sebagai pelarut seperti cat, kutex, dan lain-lain ; Perlu dilakukan sosialisasi tentang pentingnya menggunakan alat pelindung diri (masker) bagi pekerja yang sering mengalami kontak dengan lem jenis perekat karet kloroprena seperti tukang jahit sepatu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lusita Sinta Herindrasti V. Drug-free ASEAN 2025: Tantangan Indonesia dalam Penanggulangan Penyalahgunaan Narkotika. *J Hub Int.* 2018;7(1).
2. Azriful, Ibrahim IA, Sulaiman Y. Al-Sihah : Public Health Science Journal Gambaran Pengguna Narkotika Inhalasi (*Ngelem*) Pada Anak Jalanan di Kota Makassar Tahun 2015. *Al-Sihah Public Heal Sci J.* 2016;8(1):88–101.
3. RI KK. infodatin Penyalahgunaan Narkotika. 2014. p. 1–7.
4. Hidayat N, Mardiyah U, Sosiologi PS, Muhammadiyah U, Universitas S. Dampak Penggunaan Lem Aibon pada Kalangan Anak dibawah Umur. 2019;17–30.
5. Diniaty A, Ernita M, Afrida A, Amperawan DL, Susanti E. Peran orang tua mengatasi masalah remaja penghirup lem. *Marwah J Perempuan, Agama, dan Jender* [Internet]. 2018;17(2):108–18. Available from: <http://ejournal.uin->

- suska.ac.id/index.php/marwah/article/view/6419
6. Labetubun R, Ides SA, Anggraeni LD. Latar Belakang Remaja Menggunakan Lem Aibon. *Faletehan Heal J.* 2018;5(1):1–9.
 7. Xylen DAN, Sistem D, Pekerja H, Tinelli M, Oginawati K, Teknik F, et al. Kawasan Industri Sepatu. 2009;1–4.
 8. Irmasari F. Kadar Toluene di Udara Lingkungan Kerja Berkorelasi terhadap Kadar Asam Hipurat Urine pada Pekerja Percetakan di Rungkut Surabaya. *J Kesehatan Lingkung [Internet].* 2018;10(2018):328–35. Available from: <https://e-journal.unair.ac.id/JKL/article/view/7239/5782>
 9. Tamrin M, Nasir S, Riskiyani S. Studi Perilaku “Ngelem” Pada Remaja Di Kec. Paleteang Kab. Pinrang Tahun 2013 Study of Behavior" Ngelem "in Adolescent in Paleteang Kab. Pinrang 2013. 2013;
 10. Laelasari E, Kristanti D, Rahmat B. INDUSTRI SEPATU DI CIOMAS , BOGOR *Application of Shoe Glue and Health Problems of Workers in Shoe Manufacture in.* *J Litbang.* 2018;01(02):85–95.
 11. Sari RK. Pengaruh Pemberian Air Seduh Teh Hitam Terhadap Kadar Trigliserida dan Kolesterol VLDL pada Tikus Wistar yang diberi Diet Tinggi Fruktosa. Thesis (Internet). 2012:32. Available from: <http://mbiomedik.undip.ac.id>
 12. AVMA (American Veterinary Medical Association). *AVMA guidelines for the Euthanasia of Animals:* 2013 Edition. American Veterinary Medical Association, Schaumburg, Illinois [Internet]. American Veterinary Medical Association, Schaumburg, Illinois. 2013. 98 p. Available from: available: <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>. (January 2018)
 13. Pain M, *Mammals O. Euthanasia guidelines.* 2012;1–6.
 14. Washington University in St. Louis. *Animal Euthanasia Policy.* 2016;1–5. Available from <https://www.aaalac.org/accr/RefResources/ReportofACLAMTaskForceonRodentEuthanasia.pdf>
 15. Widiastuti, Endang dkk. 2019. Penurunan Stres Oksidatif Organ Otak oleh Ekstrak Lamun (*E. acaroides L.*), Alga Merah (*Eucheuma cottonii L.*), dan Taurine Akibat Induksi Glisofat pada Mencit Jantan. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
 16. Rizal, Syaiful. 2014. Perbedaan Gambaran Histopatologi Otak Tikus *Wistar* Akibat Paparan Arus Listrik pada Media Air Tawar dan Air Laut. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
 17. Dahlan MS. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. 6th ed. Jakarta: Epidemiologi Indonesia; 2014.
 18. Filley, Christopher et. all. 2004. *The effects of Toluene on the central nervous system.* *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology.*
 19. Kumar V, Abbas A, Jon Aster. 2015. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi 9. p. 5-44.

20. Perkasa, Ardi. 2016. Efek Minuman Keras Oplosan Terhadap Perubahan Histopatologi Otak Tikus Wistar Jantan. Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
21. Gotohda T, Tokunaga I, Kitamura O, Kubo S ichi. *Toluene inhalation induced neuronal damage in the spinal cord and changes of neurotrophic factors in rat*. Leg Med. 2007;9(3):123-7.