

**PENGARUH PAPARAN BERULANG 0.5ppm IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) BERFORMALIN PERORAL SELAMA 1 BULAN
TERHADAP PERUBAHAN FISIOLOGIS MENCIT BETINA (*Mus musculus*)
TURUNAN PERTAMA (F1) DARI INDUK YANG TERPAPAR 1 BULAN**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
ERNA KUNCAHYANI
NIM. 0310830033



**TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2007**

**PENGARUH PAPARAN BERULANG 0.5ppm IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
BERFORMALIN PERORAL SELAMA 1 BULAN TERHADAP PERUBAHAN
FISIOLOGIS MENCIT BETINA (*Mus musculus*) TURUNAN PERTAMA (F1)
DARI INDUK YANG TERPAPAR 1 BULAN**

Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan
Universitas Brawijaya

OLEH :
ERNA KUNCAHYANI
0310830033-83

DOSEN PENGUJI I

Ir. Anies Chamidah, MP
NIP. 131 879 043
Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

Rahmi Nurdiani , Spi. MApp.SC
NIP. 132 299 052
Tanggal :

MENYETUJUI
DOSEN PEMBIMBING I

Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 131 839 366
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Dwi Setijawati, MKes
NIP. 131 759 606
Tanggal :

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP

Ir. Maheno Sri Widodo
NIP. 131 471 522
Tanggal :

Kata Pengantar

Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Ilahi Robbi atas curahan nikmat dan karunia-Nya serta shalawat dan salam semoga tetap terlimpah pada Rasulullah Muhammad beserta keluarga dan para sahabatnya atas terselesaikannya laporan skripsi ini. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu prasyarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya, Malang.

Atas terselesaikannya Laporan Skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

- ❖ Kedua orang tuaku atas curahan kasih sayang, kesabaran mendidikku, support dan perhatiannya baik secara moril dan materiil.
- ❖ Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I atas kesabaran dan bantuannya saat membimbing.
- ❖ Ir. Dwi Setijawati, Mkes selaku dosen pembimbing II atas kesabaran dan bantuannya saat membimbing.
- ❖ Saudaraku dan Sahabat-sahabatku THP '03 yang tersayang atas kasih sayang dan perhatiannya.
- ❖ Team Mencit '02, '03, I'm sorry for mymistake dan semua pihak yang telah membantu teselesaikannya laporan ini.

Penulis berharap semoga melalui laporan ini, dapat memberikan manfaat bagi civitas akademika fakultas perikanan pada khususnya dan civitas akademika universitas brawijaya pada umumnya. Akhirnya penulis menyadari bahwa segala kekurangan yang melekat pada laporan ini. Untuk itu saran dan kritik dari para pembaca merupakan hal yang saya harapkan. Semoga segala ikhtiyar saya diridhoi oleh Allah S. W. T. Amin ya Robbal 'alamin.

Malang, Juli 2007

Penulis

RINGKASAN

ERNA KUNCAHYANI. Skripsi tentang Pengaruh Paparan Berulang 0.5ppm Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Peroral Selama 1 Bulan terhadap Perubahan Fisiologis Mencit Betina (*Mus musculus*) Turunan Pertama (F1) dari Induk yang Terpapar 1 Bulan (dibawah bimbingan **Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS** dan **Ir. DWI SETIJAWATI, MKes**)

Ikan yang ditambahkan formalin akan mempunyai daya simpan lebih lama. Hal ini disebabkan oleh reaksi formaldehid dengan protein, formaldehid bersifat mengeraskan jaringan protein sehingga aktivitas mikrobiologis terhenti. Akan tetapi fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme dalam tubuh akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Berdasarkan penelitian Efendi (2007), paparan berulang ikan nila berformalin memberikan pengaruh terhadap fisiologis mencit sebagai berikut observasi makroskopis gejala klinis: rambut berdiri 16.67% dan tumor 2.08%; kelainan organ: usus 2.08% dan hati 2.08% dan kimia darah: tes fungsi hati (SGOT: 306.67 U/l, SGPT: 73.67 U/l, albumin: 3.57 g/dl, globulin: 2.46 g/dl), tes fungsi ginjal (kreatinin 0.23 mg/dl) dan formaldehid dalam serum darah 0.0034ppm. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat diduga, paparan berulang ikan nila berformalin 0.5ppm akan berpengaruh terhadap perubahan fisiologis mencit betina turunan pertama (F1).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh paparan berulang 0.5ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan terhadap perubahan fisiologis F1 mencit betina dari induk yang terpapar 1 bulan. Penelitian dilaksanakan mulai 14 Desember 2006-13 Januari 2007 di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan rancangan dua kelompok berpasangan, terdiri dari kontrol (K) dan perlakuan pemberian 0.5ppm ikan nila berformalin (IF), masing-masing kelompok terdiri atas 6 ulangan dengan lama paparan berulang selama 30 hari. Analisa statistika menggunakan uji t dengan bantuan Minitab 13. Parameter uji yang digunakan meliputi observasi klinis, mortalitas, autopsi pasca mati (secara deskriptif), berat organ (lambung, usus, hati, dan ginjal), tes fungsi hati (SGOT,SGPT, albumin, dan globulin), tes fungsi ginjal (kreatinin dalam serum darah), formaldehid dalam serum darah.

Perlakuan pemberian 0.5ppm ikan berformalin tidak berpengaruh terhadap berat organ: lambung, usus, ginjal (P-value >0.05) dan kimia darah: SGPT, albumin dan kreatinin (P-value >0.05) dan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap: observasi gejala klinis (rambut berdiri 5.56% dan badan tak seimbang 5.56%), mortalitas 11.11%, observasi kelainan organ (hati 5.56%, ginjal 5.56%, usus 11.11% dan lambung 5.56%), berat organ (hati P-value <0.05) dan kimia darah (SGOT, globulin dan formaldehid dalam serum (P-value <0.05)).

DAFTAR ISI

	Hal
Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Ringkasan	iii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	vii
Daftar Gambar	viii
Daftar Lampiran.....	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesa	4
1.6 Tempat dan waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Formalin	5
2.1.1 Karakteristik Formalin	5
2.1.2 Formalin Sebagai Pengawet Ikan	7
2.1.3 Reaksi Protein dengan Formaldehid	7
2.1.4 Biotransformasi Formaldehid dalam Tubuh	8
2.1.5 Ikatan Silang DNA-Protein dari Pemaparan Formaldehid	10
2.1.5 Dampak Formalin Bagi Kesehatan	11
2.2 Penuruna Toksikan Dari Induk ke F1	12
2.3 Kimia Darah	14
2.3.1 SGOT	14
2.3.2 SGPT	15
2.3.3 Albumin	15
2.3.4 Globulin	15
2.3.5 Kreatinin	16
2.4 Penggunaan Hewan Percobaan Mencit	16
2.5 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	18
3. METODOLOGI	20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Alat Penelitian	20
3.1.2 Bahan Penelitian	20
3.2 Metode Penelitian	21
3.2.1 Rancangan Percobaan	22
3.3 Prosedur Penelitian	22
3.3.1 Preparasi Hewan Uji	22

3.3.2 Penyediaan Ikan Berformalin 0.5ppm	23
3.3.3 Perlakuan Pemberian Ikan Berformalin	24
3.3.4 Preparasi Serum Darah Mencit	27
3.4 Pengumpulan Data	27
3.4.1 Penimbangan Berat Badan	27
3.4.2 Penimbangan Berat Organ	28
3.4.3 Pengamatan Umum	28
3.4.4 Kimia Darah	28
3.4.4.1 Tes Fungsi Hati	29
3.4.4.2 Tes Fungsi Ginjal	30
3.4.4.3 Formaldehid dalam Serum	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Analisa Deskriptif F1 Mencit Betina	31
4.1.1 Observasi Gejala Klinis F1	31
4.1.2 Observasi Makroskopis Terhadap Mortalitas F1	33
4.1.3 Pengamatan Organ Secara Makroskopis	34
4.2 Berat organ	36
4.2.1 Lambung	37
4.2.2 Usus	38
4.2.3 Hati	39
4.2.4 Ginjal	40
4.3 Kimia Darah	41
4.3.1 SGOT (<i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>)	42
4.3.2 SGPT (<i>Serum Glutamic piruvat Transaminase</i>)	43
4.3.3 Albumin	43
4.3.4 Globulin	44
4.3.5 Kreatinin	45
4.3.6 Formaldehid dalam Serum Darah	45
5. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	59

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sejumlah produk perikanan seperti ikan segar mengandung formalin sebagai bahan pengawet. Produk pangan berformalin tersebut dijual di sejumlah pasar dan supermarket. Adanya bahan additif yang berfungsi sebagai pengawet berbahaya dalam makanan ini sebenarnya sudah lama menjadi rahasia umum (Judarwanto, 2006). Menurut BPPOM Surabaya, ikan segar yang mengandung formalin antara lain ikan dorang, ikan kuniran, ikan nila, dan cumi-cumi (Anonymous, 2005^a). Akan tetapi fakta ini kurang menyadarkan masyarakat (baik pedagang maupun konsumen) karena dampak formalin yang terakumulasi dalam tubuh tidak dapat diketahui langsung secara kasat mata.

Ikan yang ditambahkan formalin akan mempunyai daya simpan lebih lama. Hal ini disebabkan oleh reaksi formaldehid dengan protein, formaldehid bersifat mengeraskan jaringan protein sehingga aktivitas mikrobiologis terhenti. Akan tetapi fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme dalam tubuh akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggungjawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen (Anonymous, 2005^b).

Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan ini masih kontroversial dikalangan peneliti. Banyak peneliti pro kontra mengenai efek toksik formaldehid dalam

tubuh. Paparan berulang 0.5ppm ikan nila berformalin sudah diketahui berpengaruh terhadap fisiologis mencit. Berdasarkan penelitian Efendi (2007), pemberian 0.5ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan berpengaruh terhadap observasi klinis mencit yaitu rambut berdiri sebesar 16.67%, tumor 2.08% dan observasi makroskopis berat organ terjadi kelainan usus 2.08% dengan tingkat mortalitas 4.17% sedangkan untuk kimia darah terjadi peningkatan kadar SGPT sebesar 21.67 U/I dan SGOT sebesar 121 U/I, albumin 0.35g/dl, globulin 0.29g/dl, formaldehid dalam serum 0.0034ppm dan penurunan kreatinin sebesar 0.07mg/dl. Untuk itu diperlukan kajian lebih lanjut mengenai efek toksik ikan berformalin secara sub kronis pada F1 mencit betina untuk mengetahui sejauh mana genotoksik dari induk kepada turunan pertama (F1). Paparan ikan nila berformalin 0.5ppm yang diberikan secara oral pada mencit betina dapat digunakan sebagai suatu pendekatan toksisitas sub kronis terhadap perubahan fisiologis F1.

1.2 Identifikasi Masalah

Pada dasarnya, formaldehid dalam jaringan tubuh sebagian besar akan dimetabolisir kurang dari 2 menit oleh enzim formaldehid dehidrogenase menjadi asam format yang kemudian diekskresikan tubuh melalui urin dan sebagian dirubah menjadi CO₂ yang dibuang melalui nafas. Fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggungjawab atas terjadinya kecacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker (Anonymous, 2005^b).

Berdasarkan penelitian Efendi (2007), pemberian ikan nila berformalin 0.5ppm peroral selama 1 bulan sudah diketahui pengaruhnya terhadap observasi klinis mencit yaitu rambut berdiri sebesar 16.67%, tumor 2.08% dan observasi makroskopis berat organ terjadi kelainan usus 2.08% dengan tingkat mortalitas 4.17%. Kimia darah terjadi peningkatan kadar SGPT sebesar 21.67 U/I dan SGOT sebesar 121 U/I, albumin 0.35g/dl, globulin 0.29g/dl, formaldehid dalam serum 0.0034ppm dan penurunan kreatinin sebesar 0.07mg/dl daripada kontrol. Adanya perubahan klinis ini diduga diturunkan kepada F1 selama masa kehamilan. Menurut Loomis (1978), sistem genetika secara keseluruhan pada setiap orang dipindahkan pada keturunannya.

Dari uraian diatas, paparan 0.5ppm ikan nila berformalin pada F1 secara sub kronis belum diketahui secara pasti pengaruhnya sehingga timbul suatu permasalahan apakah paparan berulang 0.5ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan berpengaruh terhadap perubahan fisiologis F1 mencit betina dari induk yang sudah terpapar 1 bulan?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh paparan berulang 0.5ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan terhadap perubahan fisiologis F1 mencit betina dari induk yang terpapar 1 bulan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat digunakan sebagai bahan informasi mengenai efek toksikologi ikan berformalin secara sub kronis pada hewan uji dan sebagai dasar pertimbangan untuk memilih bahan pengawet ikan yang aman bagi kesehatan.

1.5 Hipotesa

Hipotesa yang dapat diambil dari penelitian ini adalah paparan berulang 0.5ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan berpengaruh terhadap perubahan fisiologis F1 mencit betina dari induk yang terpapar 1 bulan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 14 Desember 2006 - 13 Januari 2007.



2. TINJAUAN PUSTAKA

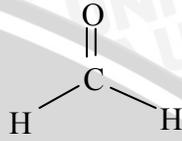
2.1 Formalin

2.1.1 Karakteristik Formalin

Formalin pada dasarnya merupakan nama dagang dari larutan formaldehida dalam air dengan kadar 30-40 persen. Formalin dapat diperoleh dalam bentuk yang sudah diencerkan dengan kadar formaldehid 10, 20, 30 dan 40 persen, juga dalam bentuk tablet dengan berat sekitar lima gram (Anonymous, 2006)

Formalin adalah larutan yang tidak berwarna dan bau yang sangat menusuk. Didalam formalin terkandung sekitar 37% formaldehid dalam air. Biasanya ditambahkan methanol hingga 15% sebagai pengawet (Anonymous, 2007^a). Formaldehid HCHO termasuk dalam komponen kelas organik yang disebut aldehid yang diperoleh dari oksidasi alkohol $2\text{CH}_2\text{OH}$. Selama proses oksidasi dari metil alkohol menjadi formaldehid asam format juga diproduksi dan ditemukan dalam larutan formaldehid (Anonymous, 2007^b). Biasanya ditambahkan 10-15% metanol untuk menghindari polimerisasi. Larutan ini sangat kuat dan dikenal dengan formalin 100% atau formalin 40%, yang mengandung 40 gram formaldehid dalam 100 ml pelarut (Cahyadi, 2006). Karakteristik formaldehida dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik formaldehid

Umum	
1. Nama sistematis	Metanal
2. Nama lain	Formalin, formol, metal aldehida, metilen oksida
3. Rumus molekul	CH ₂ O
4. Rumus bangun	
5. Ikatan rangkap	C=O
6. Massa molar	30,03 gr/mol
7. Penampilan	Gas tidak berwarna
Sifat	
a. Densitas dan fase	1 g/m ³ , gas
b. Kelarutan dalam air	> 100 g/100 ml (20 °C)
c. Kelarutan dalam etanol, aseton, DMSO	> 100 g/100 ml
d. Kelarutan dalam eter, benzene, pelarut organik	larut
e. Kelarutan dalam kloroform	tidak larut
f. Titik leleh	-117 °C (156 K)
g. Titik didih	-19,3 °C (253,9 K)
Struktur	
a. Bentuk molekul	Trigonal polar
b. Momen dipol	D

Sumber: Anonymous (2007^b)

Aspek kimia dari formalin adalah zat kimia yang mengandung unsur karbon, hidrogen, dan oksigen, yang mempunyai nama lain formaldehid. Secara fisik terdapat dalam bentuk larutan tidak berwarna dengan kadar antara 37-40%. Formalin biasanya mengandung alkohol atau metanol 10-15% , karakteristik dari zat ini adalah mudah larut dalam air, mudah menguap, mempunyai bau yang tajam dan iritatif walaupun ambang penguapannya hanya 1⁰/₁₀₀, mudah terbakar bila kontak dengan udara panas atau api, atau bila kontak dengan zat kimia tertentu (Fatimah, 2006).

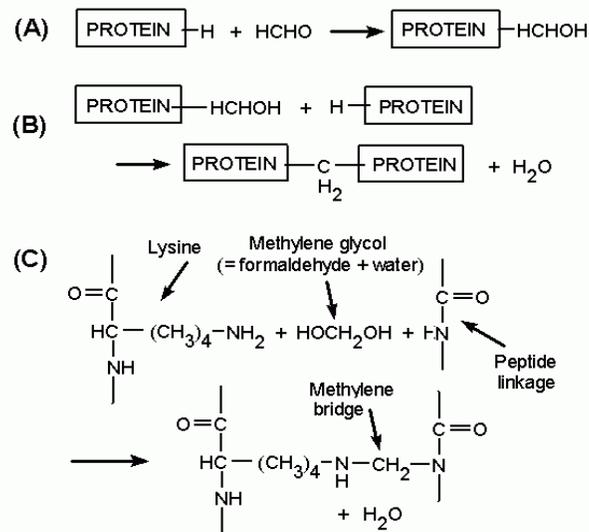
2.1.2 Formalin sebagai Pengawet Ikan

Mekanisme formalin sebagai pengawet adalah jika formaldehid bereaksi dengan protein sehingga membentuk rangkain-rangkaian antara protein yang berdekatan. Akibat dari reaksi tersebut, protein mengeras dan tidak dapat larut. Formaldehid mungkin berkombinasi dengan asam amino bebas dari protein pada sel protoplasma, merusak nukleus, dan mengkoagulasi protein (Fazier and Whesthoff, 1988 dalam Cahyadi, 2006).

Formaldehid sangat potensial sebagai agen antibakteri dan disinfektan yang ideal. Formaldehid tersebut penting untuk menginaktifkan fungisida, insektisida dan larvacide. Hal ini merupakan titik penting untuk penggunaan formalin pada perlakuan ikan. Seperti kebanyakan antibakterial dan germisidal yang meracuni bakteri dan sel kuman, formaldehid membunuh jaringan sel dengan cara dehidrasi jaringan dan sel bakteri dan penukaran tempat cairan normal dalam sel dengan rigid seperti komponen jel. Efek terakhirnya akan menimbulkan koagulasi dari formaldehid yang akan menimbulkan kerusakan sel bakteri (Anonymous, 2007^e).

2.1.3 Reaksi Protein dengan Formaldehid

Grup aldehid dari formaldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom protein lain atau dengan dua atom seperti itu, jika mereka menutup bersama-sama, membentuk suatu *cross-link* - CH₂- yang disebut suatu jembatan methylene. Studi ilmu kimia menunjukkan bahwa jenis yang paling sering *cross-link* yang dibentuk oleh formaldehida di dalam kolagen adalah antara atom nitrogen pada ujung side-chain lisin dan unsur nitrogen suatu peptide pertalian dan banyaknya *cross-links* dapat ditingkatkan dengan bertambahnya waktu (Gustavson, 1956 dalam Kiernan, 2000). Adapun reaksinya dapat dilihat pada Gambar 1 sebagai berikut:



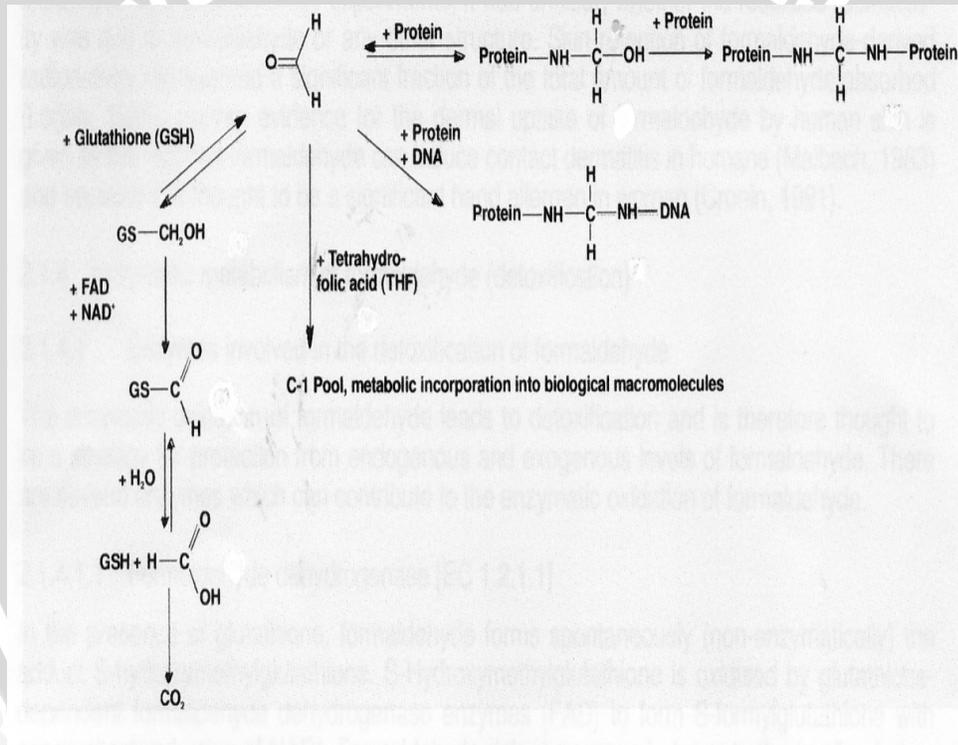
Gambar 1. Reaksi Fiksasi Formaldehid dengan Protein. (a) Penambahan molekul formaldehid ke protein. (b) Reaksi pengikatan formaldehid dengan molekul lain protein dalam bentuk *methylene cross-link*. (c) Gambaran lebih detail ikatan silang dari ikatan lisin ke atom petida nitrogen

2.1.4 Biotransformasi Formaldehid dalam Tubuh

Biotransformasi adalah suatu proses yang umumnya mengubah senyawa asal menjadi metabolit, kemudian membentuk konjugat. Metabolit dan konjugat biasanya lebih larut dalam air dan lebih polar sehingga mudah diekskresi. Karena itu biotransformasi dapat dianggap sebagai mekanisme detoksifikasi pada organisme. Organ terpenting untuk proses ini adalah hati; selain itu juga di paru-paru, lambung, usus, kulit dan ginjal (Lu, 1995).

Biotransformasi biasanya terdiri dari dua tahap yaitu tahap pertama adalah zat mengalami oksidasi, reduksi dan hidrolisis. Tahap kedua adalah zat hasil oksidasi, reduksi dan hidrolisis akan bergabung (konyugasi) atau mengalami reaksi sintetik dengan zat endogen yang berberat molekul rendah (Gibson dan Paul, 1991).

Konjugasi glutation memegang peranan penting pada proses detoksifikasi senyawa elektrofil reaktif. Senyawa elektrofil reaktif dapat menimbulkan toksisitas, seperti kerusakan jaringan, karsinogenik, mutagenik dan teratogenik, karena membentuk ikatan kovalen dengan gugus nukleofil yang terdapat pada protein dan asam nukleat sel. Glutathion (GSH) adalah tripeptida (γ -glutamilsistenilglisin) yang terdapat pada banyak jaringan, terutama di hati (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Metabolisme formaldehid dalam tubuh dapat dilihat pada Gambar 2.



Sumber: Conaway *et al.*, 1987 dalam Schulte *et al.*, 2006

Gambar 2. Metabolisme formaldehid dalam tubuh

Formaldehid yang dimetabolisme dengan cepat bukan merupakan bahan yang toksik. Metabolisme formaldehid menjadi format (via formaldehid dehidrogenase/kelas III alkohol dehidrogenase) terdapat di semua jaringan tubuh yang berakibat terhadap

formasi dalam formaldehid, dan format cepat terbentuk dengan adanya dukungan suplai darah (Heck *et al.*, 1982). Formaldehid dehidrogenase (FDH) merupakan enzim terbesar dalam metabolisme formaldehid di semua jaringan, FDH ini terdistribusi secara luas di jaringan hewan, biasanya di mukosa hidung tikus dan spesifik pendukung glutation pada formaldehid. Beberapa enzim dapat berfungsi sebagai katalisa dalam reaksi oksidasi formaldehid menjadi asam format (misalnya non spesifik aldehyd dehidrogenase dan katalase) yang utama adalah FADH. Formaldehid yang tidak dapat dimetabolisme dengan FADH maka akan terjadi ikatan silang diantara protein, diantara protein dan *single-strain* DNA atau masuk di metabolisme antara pool C1 yang dimulai berikatan dengan Tetrahidrofolat (TH₄) (Bolt, 1987 *dalam* Anonymous, 1999). Formaldehid yang berikatan dengan asam tetra hidrofolat merupakan produk antara yang penting untuk sintesis purin, timin dan asam amino (Reitbrock *et al.*, 1971 *dalam* Schulte *et al.*, 2006).

2.1.5 Ikatan Silang DNA-Protein dari Pemaparan Formaldehid Terhadap Sel

Pemaparan sel dengan formaldehid akan turut serta dalam formasi ikatan silang DNA-protein yang kebanyakan akan menyebabkan kerusakan bentuk DNA (DPC). Reaksi formaldehid dengan DNA murni dapat menghasilkan N-hidroxymethyl dengan bantuan deoksiguanin, deoksiadenosin dan deoksisitosin. Reaksi ini tidak terdeteksi pada sel. Pada umumnya yang sering ditemukan ikatan silang DNA oleh paparan formaldehid adalah histon. Kelima jenis histon mampu membentuk ikatan silang DNA, aktivitas terbesar yang telah dideteksi jenis histon H1 dan H3. Ikatan silang DNA-histon dibentuk melalui reaksi formaldehid dengan histon diikuti konjugasi grup amino DNA. Epsilon grup amino dari histon lisin dan eksosiklik grup amino dari basa adenosin/guanosin merupakan awal terbentuknya ikatan silang. Struktur secara umum formaldehid

menginduksi DPC dapat diilustrasikan sebagai berikut: histon-NH-CH₂-NH-DNA. Bentuk ikatan silang DNA-histon dapat dikorelasikan dengan kejadian tumor pada lokasi target dan luka tersebut akan menimbulkan karsinogenik dari formaldehid (Quievryn and Zhitkovich, 2000).

2.1.6 Dampak Formalin Bagi Kesehatan

Dalam jangka pendek, formalin bisa membuat tubuh manusia mengalami iritasi saluran pernafasan, muntah-muntah, pusing, rasa terbakar pada tenggorokan, dan gatal di dada. Sementara dalam jangka panjang bisa memicu kerusakan hati, jantung, otak, sistem susunan syaraf pusat dan ginjal. Efek kronis berupa timbul iritasi pada saluran pernafasan, muntah-muntah dan kepala pusing, rasa terbakar pada tenggorokan, penurunan suhu badan dan rasa gatal di dada. Bila dikonsumsi menahun bisa menyebabkan kanker, iritasi lambung, alergi, keracunan dan bahkan kematian (Anonymous, 2005^b).

Paparan formaldehid melalui saluran pencernaan dapat mengakibatkan luka korosif terhadap selaput lendir saluran pencernaan disertai mual, muntah, rasa perih yang hebat dan perforasi lambung. Efek sistemik dapat berupa depresi susunan syaraf pusat, koma, kejang, albuminaria, terdapatnya sel darah merah di urine (hematuria) dan asidosis metabolik. Dosis fatal formalin melalui saluran pencernaan pernah dilaporkan sebesar 30 ml. Formaldehid dapat mematikan sisi aktif dari protein- protein vital dalam tubuh, maka molekul-molekul itu akan kehilangan fungsi dalam metabolisme. Akibatnya fungsi sel akan terhenti (Anonymous, 2007^a).

Efek samping penggunaan formalin tidak secara langsung akan terlihat. Efek ini hanya akan terlihat secara kumulatif, kecuali seseorang jika mengalami keracunan

formalin dengan dosis tinggi. Keracunan formalin bisa mengakibatkan iritasi lambung dan alergi. Formalin juga bersifat karsinogen (menyebabkan kanker) dan mutagen (menyebabkan perubahan fungsi sel). Dalam kadar yang sangat tinggi formalin bisa menyebabkan kegagalan peredaran darah yang bermuara pada kematian (Saparinto dan Hidayati, 2006).

Efek akut penggunaan formalin adalah (a) tenggorokan dan perut terasa terbakar, tenggorokan terasa sakit untuk menelan, (b) mual, muntah dan diare, (c) mungkin terjadi pendarahan dan sakit perut yang hebat, (d) sakit kepala dan hipotensi (tekanan darah rendah), (e) kejang, tidak sadar hingga koma dan (f) kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas serta sistem susunan syaraf pusat dan ginjal. Sementara, efek kronis akibat penggunaan formalin adalah (a) iritasi pada saluran pernafasan, (b) muntah-muntah dan kepala pusing, (c) rasa terbakar pada tenggorokan, (d) penurunan suhu badan dan rasa gatal di dada, dan (e) bila dikonsumsi menahun dapat meningkatkan kanker (Saparinto dan Hidayati, 2006).

2.2 Penurunan Toksikan dari Induk Ke F1

Sepanjang siklus reproduksi, toksikan dapat mengganggu fungsi reproduksi. Toksikan bekerja langsung pada sistem reproduksi (oosit maupun spermatozoa) atau konsepsi secara tidak langsung lewat organ endokrin tertentu. Sebelum zat kimia dapat bekerja secara langsung, zat itu harus mencapai organ sasaran dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Konsentrasi ini dapat lebih tinggi atau lebih rendah daripada konsentrasi dalam darah (Lu, 1995).

Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi sel dan organogenesis. Berdasarkan Lu (1995), berbagai jenis toksikan dapat mempengaruhi

fungsi reproduksi wanita (Dixon, 1986). Oosit dapat dirusak oleh obat-obatan misalnya nitrogen mustard dan vinblastin serta hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) misalnya 3-metilkolantren dan benzoapiren. Sebelum pubertas oosit lebih resisten terhadap efek toksik bahan kimia, mungkin karena oosit ini dalam keadaan dorman. Tahapan metamorfosis embrio dan periode perkembangan janin terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap pradiferensiasi, embrio tidak rentan terhadap zat teratogen; tahap embrio, dalam periode ini sel secara intensif menjalani diferensiasi, mobilisasi dan organogenesis. Akibatnya pada fase ini embrio sangat rentan terhadap efek teratogen. Periode ini biasanya berakhir setelah beberapa waktu, yaitu pada hari ke-10 sampai hari ke-14. Dalam tahap embriologi, sel secara intensif menjalani diferensiasi, mobilisasi dan organisasi; tahap janin, tahapan ini ditandai dengan perkembangan dan pematangan fungsi, teratogen tidak mungkin menyebabkan cacat morfologik, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi.

Menurut Murray *et al.*, (2003), Glutation merupakan mekanisme pertahanan yang penting terhadap senyawa toksik tertentu. Jika kadar GSH dalam suatu jaringan seperti hati menurun, maka jaringan tersebut bisa menjadi lebih rentan terhadap cedera oleh zat kimia yang dalam keadaan normal akan terkonjugasi ke GSH dan jika xenobiotik yang potensial beracun tidak terkonjugasi, molekulnya akan bebas membentuk ikatan kovalen dengan DNA, RNA atau protein sel dan dengan demikian dapat mengakibatkan kerusakan sel yang serius.

Efek toksik xenobiotik menempati spektrum yang sangat luas, ada tiga tipe efek lazim yang berhubungan dengan metabolisme xenobiotik. Efek yang pertama adalah cedera sel (sitotoksisitas) yang bisa cukup berat mengakibatkan kematian sel. Hal ini disebabkan oleh pengikatan kovalen dengan makromolekul (protein, DNA dan RNA) sel

untuk spesies xenobiotik reaktif yang dihasilkan oleh metabolisme. Efek yang kedua adalah spesies-reaktif xenobiotik dapat terikat dengan protein, memodifikasinya dan mengubah sifat antigenisitas spesies tersebut. Xenobiotik bekerja sebagai heptan, yaitu molekul kecil yang tidak dengan sendirinya merangsang sintesis antibodi tetapi akan bergabung dengan antibodi begitu unsur ini terbentuk. Antibodi yang dihasilkan kemudian dapat merusak sel melalui beberapa mekanisme imunologi yang secara nyata mengganggu berbagai proses biokimia seluler yang normal. Efek yang ketiga adalah reaksi antara spesies karsinogen kimiawi yang aktif dengan DNA diperkirakan mempunyai makna yang sangat penting dalam peristiwa karsinogenesis kimiawi (Murray *et al.*, 2003).

2.3 Kimia Darah

Keberadaan dan jumlah zat kimia pada tempat efekturnya diperiksa, maka pada waktu yang sama informasi ini dapat dibandingkan dengan kadarnya di dalam darah. Darah dipilih, dikarenakan darah merupakan sumber bahan cuplikan biologi yang dapat tersedia dengan cepat, dan sirkulasi darah menggambarkan mekanisme darah dengan mana zat kimia dibawa keseluruh bagian badan. Rasio kadar zat kimia di dalam jaringan dengan kadarnya di dalam darah pada waktu tertentu akan melambangkan suatu indeks keefektifan atau kurang efektifan membran untuk mempengaruhi translokasi senyawa tersebut (Loomis, 1978).

2.3.1 SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*)

Aspartat amino-transferase (AST) yang dulu bernama oksaloasetat transaminase (GOT) merupakan salah satu dari jenis enzim yang sering dihubungkan dengan kerusakan sel hati. Enzim ini mengerjakan reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-

ketoglutarat. Biasanya peningkatan SGOT terjadi bila ada kerusakan pada selaput sel hati (Widmann, 1989).

2.3.2 SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transaminase*)

SGPT (serum glutamic piruvik transaminase), juga dikenal sebagai ALT (alanin aminotransferase), lebih spesifik untuk kerusakan hati. SGPT adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), jadi lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain.. Setiap jenis peradangan hati dapat menyebabkan peningkatan pada SGPT. Peradangan pada hati dapat disebabkan oleh hepatitis virus, beberapa obat, penggunaan alkohol, dan penyakit pada saluran cairan empedu (Anonymous, 2005^c). SGPT merupakan salah satu uji kimia darah yang menggambarkan fungsi hati (Loomis, 1978).

2.3.3 Albumin

Albumin adalah protein yang mengalir dalam darah. Karena dibuat oleh hati dan dikeluarkan pada darah, albumin adalah tanda yang peka dan petunjuk yang baik terhadap keparahan penyakit hati (Anonymous, 2005^c). Peran utama albumin adalah mempertahankan volume darah dengan memberikan tekanan osmotik koloid, pH dan keseimbangan elektrolit, serta transport ion-ion logam, asam lemak, steroid, hormon dan obat-obatan (Best and Taylor, 1979 *dalam* Price and Wilson, 1984).

2.3.4 Globulin

Globulin (juga disebut sebagai imunoglobulin) mengukur protein dalam antibodi yang dibuat oleh sistem kekebalan tubuh (Anonymous, 2005^c). Globulin serum adalah kompleks campuran heterogen molekul-molekul protein yang sering disebut sebagai globulin α ; β ; atau γ , kadang-kadang dengan nomor-nomor petunjuk, semuanya didasarkan pada mobilitas elektroforesis globulin (Martin *et al.*, 1983). Globulin alfa dan

beta melakukan bermacam-macam fungsi di dalam sirkulasi, seperti mengangkut zat-zat tertentu yang bergabung dengannya, bekerja sebagai substrat pembentukan zat lain, dan mengangkut protein dari bagian tubuh ke bagian tubuh yang lain. Globulin gama memegang peranan khusus melindungi tubuh dari infeksi, karena globulin ini yang merupakan antibodi utama yang melawan infeksi dan keracunan menjadi sistem imun tubuh (Guyton, 1989).

2.3.5 Kreatinin

Kreatinin merupakan metabolik yang tidak aktif, produk akhir dari metabolisme kreatin dalam otot, kreatinin dalam darah dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui kerusakan fungsi filtrasi glomerulus pada ginjal. Kreatinin berdifusi ke dalam plasma dan diekskresikan ke dalam urina (Baron, 1984). Kreatine yang utama disintesis oleh hati, terdapat hampir semuanya dalam otot rangka, disana kreatin terikat secara reversibel kepada fosfat dalam bentuk fosfokreatin, yakni senyawa penyimpan energi. Akan tetapi sebagian kecil dari kreatin itu secara ireversibel berubah menjadi kreatin yang tidak mempunyai fungsi sebagai zat berguna dan adanya dalam darah beredar hanyalah untuk diangkut ke ginjal (Widmann, 1989).

2.4 Penggunaan Hewan Percobaan Mencit

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, subfamily *Murinae*, family *Muridae*, order *rodentia*. Mencit yang sudah dipelihara di laboratorium sebenarnya masih satu famili dengan mencit liar. Sedangkan mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20

gram. Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. di antara spesies-spesies hewan lainnya (Kusumawati, 2004).

Mencit percobaan lebih banyak digunakan pertahunnya dalam eksperimen dibandingkan hewan percobaan lainnya (Anonymous, 2004). Mencit (*Mus musculus*) telah digunakan secara ekstensif sebagai hewan percobaan untuk penelitian biomedik dan imunologi. Hewan ini banyak digunakan karena sifat-sifatnya mempunyai angka fertilitas tinggi, masa menyusui/gestasi yang pendek, kemudahan penanganan, memiliki daya tahan/*susceptibility* terhadap penyakit genetik atau non infeksi yang dapat menyerang manusia. Penentuan kecukupan nutrisi bagi mencit merupakan masalah yang cukup menantang karena luasnya variasi genetiknya dalam spesies serta perbedaan kriteria dalam penyusunan diet (Anonymous, 1995). Adapun data biologi dan hematologi mencit dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Data biologi mencit

Keterangan	Jumlah
Lama hidup	1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Umur disapih	21 hari
Umur dewasa	35 hari
Siklus kelamin	poliestrus
Siklus estrus (berahi)	4-5 hari
Berat dewasa	20-40 g jantan; 18-35 betina
Berat lahir	0,5-1,0 g

Sumber: Smith (1998)

Tabel 3. Data hematologi menciit

Keterangan	Jumlah
Eritrosit (RBC) x ($10^6/\text{mm}^3$)	6,86-11,7
Hemoglobin (g/dl)	10,7-11,5
MCV (μ^3)	47,0-52,0
MCH ($\mu \mu\text{g}$)	11,1-12,7
MCHC (%)	22,3-31,2
Hematokrit (PCV) (%)	33,1-49,9
Leukosit (WBC) (x $10^3/\text{mm}^3$)	12,1-15,9
Neutrofil (x $10^3/\text{mm}^3$)	1,87-2,46
Eosinofil (x $10^3/\text{mm}^3$)	0,29-0,41
Basofil (x $10^3/\text{mm}^3$)	0,06-0,01
Limfosit (x $10^3/\text{mm}^3$)	8,70-12,4
Monosit (x $10^3/\text{mm}^3$)	0,30-0,55
Glukose (mg/dl)	62,8-176
BUN (mg/dl)	13,9-28,3
Kreatinine (mg/dl)	0,30-1,00
Bilirubin (mg/dl)	0,10-0,90
Kolesterol (mg/dl)	26,0-82,4
Total protein (g/dl)	4,00-8,62
Albumin (g/dl)	2,52-4,84
SGOT (IU/I)	23,2-48,4
SGPT (IU/I)	2,10-23,8
Alkaline fosfatase (IU/I)	10,5-27,6
Laktik dehidrogenase (IU/I)	75-185

Sumber : Mitruka (1981) dan Loeb (1989) dalam Kusumawati (2004)

2.5 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila merupakan ikan sungai atau danau yang sangat cocok dipelihara di perairan tenang, kolam maupun reservoir. Toleransi terhadap kadar garam sangat tinggi (Susanto, 1987). Ikan nila memiliki bentuk tubuh agak memanjang dan pipih ke samping, warnanya putih kehitam-hitaman, dan makin ke bagian perut makin terang. Pada bagian perut terdapat sepuluh buah garis vertikal berwarna hijau kebiru-biruan sedangkan pada sirip ekor terdapat delapan buah garis melintang yang ujungnya berwarna kemerah-merahan. Mata ikan nila tampak menonjol agak besar, mulut terminal, linea lateralis terputus menjadi dua bagian dan bentuk sirip stenoit. Dari

kebiasaan makannya, ikan nila termasuk ikan omnivora yaitu pemakan segala (Murtidjo, 2001). Ikan nila dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kelas	: Osteichthyes
Sub-kelas	: Acanthopterygii
Crdo	: Percomorphi
Sub-ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

(Prihatman, 2000)

Menurut Cahyono (2000), ikan nila memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan jenis ikan lainnya, yaitu sebagai berikut: memiliki tingkat pertumbuhan badan yang cepat, kematangan kelamin ikan nila tergolong cepat, mudah dibudidayakan (air tawa atau payau), daging ikan nila cukup tebal dan tidak terdapat duri-duri halus dalam dagingnya, daging ikan nila tidak lembek dan rasanya enak, dari segi harga, ikan nila lebih murah daripada ikan gurami, sehingga terjangkau oleh semua kalangan. Komposisi kimia ikan nila per 100 gr bahan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kimia Ikan Nila per 100 gram Bahan

Komposisi Kimia	Jumlah
Protein	20,10%
Lemak	2,20%
Abu	1,00%
Air	76,80%

Sumber : Dolaria (2003)

3. METODOLOGI

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam pemeliharaan hewan uji mencit adalah kandang (bak plastik), kawat penutup kandang yang berbentuk anyaman dan botol air minum yang dilengkapi dengan selang air minum. Peralatan pengambilan darah dan pembedahan meliputi pinset, gunting bedah, stereofoam, perangkap mencit, eppendorf steril, bluetipe/yellowtipe, sentrifuse dingin, mikropipet, botol film, spuit dan jarum spuit 1ml, autoklaf, pipet volume, bola hisap, beaker glass, dan gelas ukur. Peralatan ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

Pembuatan sediaan larutan ikan nila berformalin 0.5ppm adalah sebagai berikut: pisau, talenan, baskom, blender, saringan, timbangan analitik, gelas ukur, pipet volume, beaker glass, spatula, pipet serologis, bola hisap, botol film, mikropipet, bluetipe atau yellowtipe. Peralatan untuk menginduksi lambung mencit adalah jarum sonde dan peralatan untuk menimbang berat badan mencit dengan timbangan digital.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pemeliharaan hewan uji adalah mencit betina (*Mus musculus*) yang berumur 2 bulan, sekam padi, air minum dan pellet standart dengan merek ACT. Adapun komposisi kimia pellet standart dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Komposisi kimia pakan mencit

Komposisi	Prosentase (%)
Protein	20-25
Lemak	10-12
Pati	45-55
Serat Kasar	4 atau kurang
Abu	5-6

Sumber: Smith (1998)

Bahan yang digunakan dalam pembuatan sediaan ikan berformalin 0.5ppm adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) didapatkan dari budidaya ikan di Tlogomas Malang, formalin, label, tisu, kertas saring dan aquadest.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen adalah melakukan kegiatan percobaan untuk melihat hasil yang menegaskan hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ikan nila berformalin dengan konsentrasi 0.5ppm. Perubahan fisiologis F1 mencit betina sebagai variabel terikat, parameter perubahan fisiologis F1 mencit betina meliputi: perubahan makroskopis secara deskriptif (meliputi: pengamatan berat badan, prosentase mortalitas dan observasi gejala klinis), berat organ, di dukung uji kimia darah meliputi formaldehid dalam serum, SGOT, SGPT, albumin, dan globulin, kreatinin.

3.2.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian adalah rancangan dua kelompok berpasangan yang terdiri dari kontrol dan perlakuan, masing-masing kelompok dengan 6 kali ulangan. Perlakuan terdiri dari kontrol nol hanya diberi pakan pellet (K) dan 0.5ppm ikan berformalin (0.5 IF). Masing-masing perlakuan terdiri dari 18 mencit dan diambil secara acak 6 mencit untuk di analisa. Tabel rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rancangan percobaan

Ulangan	Kontrol	0.5 IF
1		
2		
3		
4		
5		
6		
rata-rata		

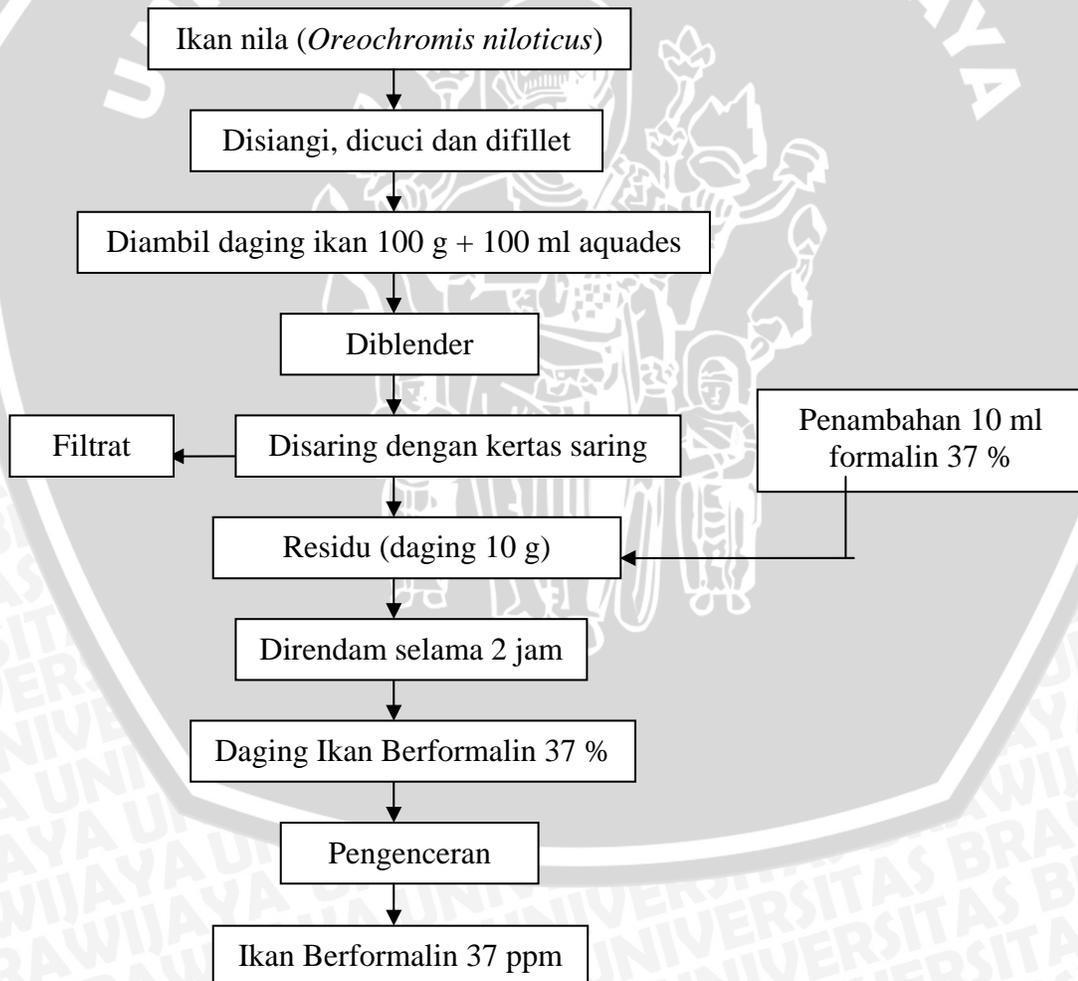
3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Preparasi Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah F1 mencit betina dewasa berumur sekitar 2 bulan dari induk yang terpapar 1 bulan. Sebelum penelitian, mencit dipastikan dalam keadaan sehat dan selanjutnya mencit di aklimatisasi selama 1 minggu. Dipisahkan F1 dari induk, ditempatkan pada kandang yang sudah diberi alas (sekam padi), diberi pakan secara rutin dan diberikan penerangan dan sirkulasi udara yang cukup. Menurut Suripto (2003), aklimatisasi adalah suatu fenomena pengaturan kembali kisaran toleransi terhadap perubahan lingkungan eksternal yang berlangsung di alam. Prosedur preparasi hewan uji dapat dilihat pada Lampiran 2.

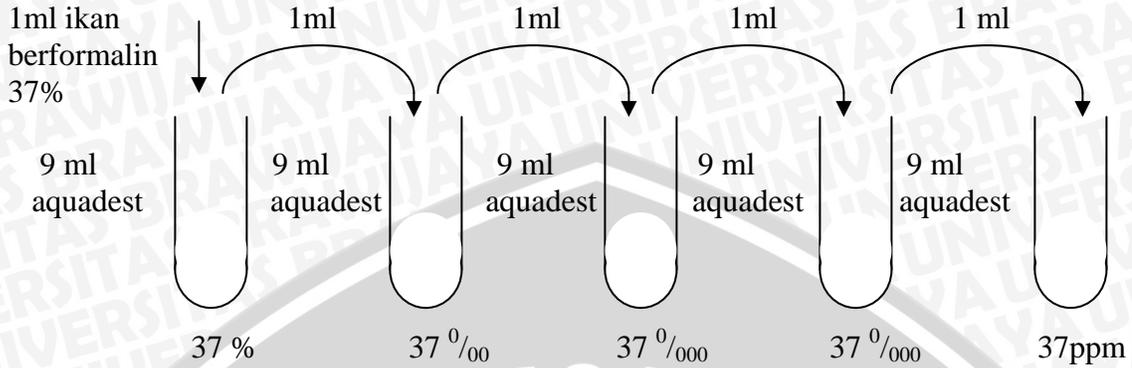
3.3.2 Penyediaan Ikan Berformalin 0.5ppm

Ikan nila disiangi, dicuci kemudian di fillet. Diambil fillet daging ikan sebesar 100gr ditambah 100ml aquades kemudian di blender. Setelah itu disaring dengan kertas saring, dipisahkan filtrat dan residu. Residu diambil sebanyak 10gram kemudian ditambahkan 10ml formalin, setelah itu diencerkan sampai menjadi konsentrasi 37ppm. Didiamkan 2 jam, larutan ikan berformalin 37ppm siap untuk diencerkan menjadi 0.5ppm. Untuk lebih jelasnya, prosedur pembuatan ikan nila berformalin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prosedur pembuatan sediaan ikan nila berformalin

Pengenceran



Perhitungan ikan berformalin 0.5ppm yang dibutuhkan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

Rumus pengenceran : $V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$

Dimana:

V_1 : volume formalin yang diperlukan

V_2 : volume aquadest

K_1 : konsentrasi formalin

K_2 : konsentrasi larutan formalin

- Penentuan 0,5 ppm Ikan Berformalin sebagai berikut:

$$V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$$

$$V_1 \times 37 \text{ ppm} = 200 \text{ ml} \times 0.5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{200 \text{ ml} \times 0.5 \text{ ppm}}{37 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 2.70 \text{ ml}$$

3.3.3 Perlakuan Pemberian Ikan Berformalin

Perlakuan terdiri atas ikan berformalin 0.5ppm dan kontrol nol (hanya diberi pakan pellet saja). Tiap-tiap perlakuan terdiri 18 ekor mencit, ikan berformalin diberikan ke mencit betina secara oral setiap hari pada pagi hari saat lambung kosong, selama satu bulan. Bahan diinduksikan langsung ke lambung dengan metode sonde, cara

penyondean dapat dilihat pada Gambar 4. Besarnya volume cekok yang diberikan berdasarkan berat mencit setiap harinya. Prosedur penelitian dapat dilihat pada Lampiran

2. Penentuan besarnya volume cekok sebagai berikut:

- Berdasarkan Praktek Kerja Lapang Kurniawati (2007), pada umumnya ikan dipasaran mengandung formalin 100ppm, rata-rata konsumsi ikan 250 g/hari. Rata-rata berat badan manusia 50kg, maka penentuan dosis 0.5ppm adalah:

$$\text{Dosis ikan berformalin} = \frac{\text{konsentrasi} \times \text{berat ikan}}{\text{berat badan}}$$

$$= \frac{100}{1000000} \times 250g$$

$$= \frac{50kg}{50kg}$$

$$= 0,0005 \text{ g / kg}$$

$$= \frac{0.0005 \times 1000mg}{1kg}$$

$$= 0.5 \text{ ppm}$$

- Penentuan volume cekok

$$0,5\text{ppm} = \frac{0.5mg}{1000000mg} = 0.0005 \text{ g / kg}$$

$$20\text{gr mencit} \longrightarrow = \frac{20g}{1000g} \times 0.0005 \text{ g / kg}$$

$$= 1 \times 10^{-5} \text{ g/kg}$$

$$= 1 \times 10^{-2} \text{ mg/kg}$$

Jika berat jenis Formaldehid ekuivalen dengan berat jenis air, maka 1 ml formalin = 1 mg. Sehingga volume 0,5 ppm formalin sebanyak 0.01 ml.

Volume cekok yang diberikan untuk berat mencit yang lain menggunakan rumus :

$$= \frac{\text{berat badan mencit}}{\text{berat rata – rata mencit (20g)}} \times 0.01 \text{ ml}$$

Misalkan untuk mencit dengan berat badan 21g volume cekok yang diberikan adalah:

$$= \frac{21 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0.01 \text{ ml} = 0.0105 \text{ ml}$$

Besarnya volume cekok yang diinduksikan ke lambung F1 betina dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Volume Cekok Berdasarkan BeratBadan Mencit

Berat mencit (gr)	Volume cekok (ml)
15	0.0075
16	0.008
17	0.0085
18	0.009
19	0.0095
20	0.01
21	0.0105
22	0.011
23	0.0115
24	0.012
25	0.0125
26	0.013
27	0.0135
28	0.014
29	0.0145
30	0.015
31	0.0155
32	0.016
33	0.0165
34	0.017
35	0.0175



Gambar 4. Cara penyondean

3.3.4 Preparasi Serum Mencit

Serum darah diambil 1 bulan setelah pemberian ikan berformalin dengan jalan mencit yang telah diberi perlakuan, dimasukkan dalam perangkap mencit. Ujung ekor dipotong melintang kemudian ekor diurut, tetesan darah yang pertama dibuang. Selanjutnya darah diurut dari pangkal ekor secara perlahan-lahan, hasilnya darah ditampung pada tabung eppendorf steril. Kemudian disentrifuse pada suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya serum dipisahkan ke dalam tabung eppendorf steril dengan menggunakan mikropipet.

3.4 Pengumpulan Data

Prosedur pengambilan data antara lain sebagai berikut :

3.4.1 Penimbangan Berat Badan

Prosedur pengamatan berat badan adalah dengan cara menimbang berat badan mencit menggunakan timbangan digital secara rutin pada pagi hari selama satu bulan. Kemudian dilakukan pencatatan untuk mengevaluasi adanya kenaikan ataupun penurunan berat badan mencit.

Timbangan dikalibrasi dengan cara meletakkan kardus tempat mencit diatas tempat timbangan dan mengatur angka timbangan pada posisi nol. Setelah itu mencit ditimbang

dan hasil penimbangan dibulatkan. Penimbangan ini bertujuan untuk mengetahui volume cekok yang akan di induksikan pada mencit.

3.4.2 Penimbangan Berat Organ

Pada hari ke 30, mencit dilakukan autopsi kasar organ-organnya meliputi lambung, usus, hati dan ginjal. Kemudian organ ditimbang dengan timbangan digital dan dilakukan pencatatan. Penimbangan ini bertujuan untuk mengetahui berat organ per berat badan mencit. Cara penimbangan adalah timbangan dikalibrasi dengan cara meletakkan kertas tempat organ mencit diatas tempat timbangan dan mengatur angka timbangan pada posisi nol. Setelah itu organ mencit ditimbang dan hasil penimbangan dibulatkan.

3.4.3 Pengamatan Umum

Pengamatan umum ini meliputi perilaku, kelainan klinis (abnormalitas) dan mortalitas. Hewan yang mati atau sakit harus segera disingkirkan dari kandang untuk dilakukan autopsi, setelah itu dilakukan observasi makroskopis dan pencatatan.

3.4.4 Kimia Darah

Prosedur analisa kimia darah mencit meliputi uji kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transaminase*), albumin, globulin dan kreatinin. Alat yang digunakan untuk analisa kimia darah adalah Automatic Analyzer Hitachi 902 dari *Merck*. Alat yang digunakan untuk uji kimia darah dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5.1 Automatic Analyzer Hitachi 902 untuk pengujian kualitas serum menci



Gambar 5.2 Shimadzu Spectronic SPD 6A untuk pengujian kadar formaldehid dalam serum menci

3.4.4.1 Tes Fungsi hati

- **Uji SGOT** (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*)

Uji SGOT menunjukkan kerusakan fungsi jaringan hati, dengan uji ini dapat digunakan untuk mengetahui adanya indikasi nekrosis dalam hati. Enzim ini mengerjakan reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutarat. Cara pengujian SGOT dengan Automatic Analyzer Hitachi 902 dari *Merck*.

- **Uji SGPT** (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*).

Uji SGPT biasanya digunakan untuk mengetahui adanya cedera hati. SGPT adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), lebih spesifik untuk penyakit hati. Cara pengujian SGPT menggunakan Automatic Analyzer Hitachi 902 dari *Merck*.

- **Uji globulin dan albumin**

Pengujian kadar albumin digunakan untuk mengetahui adanya gangguan metabolik dan pengujian kandungan globulin digunakan untuk mengetahui kerusakan kronik. Cara pengujian kandungan albumin dan globulin dengan menggunakan Automatic Analyzer Hitachi 902 dari *Merck*.

3.4.4.2 Tes Fungsi Ginjal (Kreatinin)

Untuk mengetahui adanya gangguan fungsi glomerulus ginjal terhadap metabolit kreatinin, maka ginjal dilakukan uji kreatinin serum. Penentuan kreatinin serum dalam darah dengan Automatic Analyzer Hitachi 902 dari *Merck*.

3.4.4.3 Formaldehid dalam Serum darah

Kadar formaldehid dalam serum darah dengan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk analisa kadar formaldehid dalam darah mencit adalah *Shimatsu Spectronic SPD 6A* dari *Merck*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Deskriptif F1 Mencit Betina

4.1.1 Observasi Gejala Klinis F1

Suatu toksikan dapat menyebabkan efek lokal ditempat kontak dan akan menyebabkan kerusakan bila ia diserap oleh organisme (Lu, 1995). Adanya penyerapan toksikan ini menimbulkan kekacauan sistem informasi yang diterima oleh sel sehingga terjadi kekacauan fungsi sel tersebut yang dapat menimbulkan perubahan klinis. Gejala klinis F1 mencit betina yang telah dipapar 0.5ppm ikan berformalin dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Prosentase perubahan gejala klinis F1 mencit betina

Perlakuan	Gejala klinis		
	Rambut berdiri (%)	Badan tak seimbang (%)	Tumor
Kontrol	0	0	0
0.5 IF	5.56	5.56	0

Pada kontrol, mencit tidak mengalami perubahan klinis karena metabolisme tubuh mencit berjalan dengan baik, sehingga zat gizi yang di distribusikan oleh darah teradsorpsi secara sempurna oleh sel-sel maupun jaringan pada tubuh. Perlakuan 0.5ppm ikan berformalin menimbulkan dampak 5.56% rambut berdiri dan 5.56% badan tidak seimbang. Adanya perubahan gejala klinis ini merupakan indikasi adanya penyampaian informasi yang tidak spesifik yang disebabkan oleh formaldehid terhadap sel penerima informasi sehingga menyebabkan kekacauan sistem pengenalan dan dapat menyebabkan disfungsi sel/jaringan.

F1 mencit betina yang dipapar 0.5ppm ikan berformalin mengalami gejala klinis 5.56% rambut berdiri. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan prosentase gejala klinis rambut berdiri antara induk dengan F1. Rambut berdiri pada induk prosentasenya lebih besar daripada F1, hal ini dipengaruhi oleh reaksi formaldehid dengan folikel pada rambut sehingga menyebabkan infeksi pada folikel rambut. Sel-sel untuk menumbuhkan rambut yang diperintah oleh kode protein tersebut menjadi kacau, hal ini menimbulkan malfungsi informasi pada rambut, yang lambat laun dapat menyebabkan perubahan fungsi sel menjadi berdiri. Terjadinya penurunan prosentase rambut berdiri pada F1 diduga disebabkan oleh adanya toleransi folikel rambut terhadap adanya formaldehid yang telah dikenali pada induk ketika masa kehamilan. Menurut Loomis (1978), toleransi adalah kemampuan suatu organisme untuk memperlihatkan respons yang kurang terhadap suatu dosis spesifik zat kimia, daripada yang diperlihatkannya pada kesempatan sebelumnya dengan dosis yang sama.

Aksi suatu zat kimia atas suatu sel terjadi dengan cara bereaksi dengan suatu komponen yang spesifik dan diperlukan untuk berlangsungnya fungsi sel tersebut. Apabila produk reaksinya tidak mampu mengganti peran komponen asli dari sel yang dimaksud maka fungsi sel tersebut akan rusak (Loomis,1978). Terjadinya gejala klinis badan tak seimbang disebabkan oleh adanya gangguan syaraf motorik. Susunan syaraf motorik dikacaukan oleh keberadaan formaldehid sehingga merubah kode gen yang tidak dikenali oleh sel. Pada induk, ikan berformalin 0.5ppm tidak terjadi kelainan badan tak seimbang, adanya perbedaan ini diduga dikarenakan oleh terakumulasinya formaldehid pada F1 semenjak masih dalam fase embriologi dalam kandungan induk sehingga menyebabkan kelainan fungsi sel. Menurut (Quievryn and Zhitkovich, 2000), paparan sel dengan formaldehid membentuk ikatan silang DNA-protein biasanya pada

histon. Adanya ikatan tersebut menyebabkan kerusakan DNA pada sel yang terpapar. Menurut Lu (1995), salah satu akibat terakumulasi toksik pada tempat toksisitas (sel neuron) dapat menyebabkan kelainan gaya jalan. Penyakit ini disebabkan oleh gangguan fungsi serebelum menyebabkan ataksia atau gaya jalan menyamping. Gambar gejala klinis rambut berdiri dan badan tak seimbang dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Gejala kelainan klinis: a) rambut berdiri, b) badan tak seimbang

4.1.2 Observasi Makroskopis Terhadap Mortalitas F1

Presentase mortalitas F1 mencit dapat digunakan untuk menilai derajat toksisitas ikan berformalin. Presentase mortalitas dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Presentase Mortalitas

Perlakuan	Jumlah awal	Jumlah akhir	mortalitas (%)
Kontrol	18	18	0
0.5ppm ikan berformalin	18	16	11.11

Mortalitas ikan berformalin 0.5ppm sebesar 11.11 %, sedangkan angka mortalitas kontrol adalah nol. Hal ini menunjukkan bahwa ikan berformalin bersifat lebih toksik daripada kontrol (hanya diberi pakan saja). Menurut Wandira (2006) didalam tubuh formaldehid berubah menjadi asam format yang membuat kadar keasaman darah

meningkat, nafas menjadi pendek dan cepat yang akhirnya membuat hypothermia, kegagalan peredaran darah kemudian koma dan bisa menimbulkan kematian.

Prosentase mortalitas F1 perlakuan lebih besar dibandingkan dengan induk yang terpapar ikan berformalin 0.5ppm. Hal ini diduga oleh formaldehid sudah terakumulasi dalam sel induk pada saat kehamilan sehingga embrio rentan terhadap teratogen. Hal ini berakibat terjadinya penekanan fungsi sel yang lambat laun menyebabkan kematian jaringan. Karena adanya kematian jaringan maka organ tidak dapat berfungsi sempurna dan lama kelamaan akan menyebabkan kematian.

4.1.3 Pengamatan Organ Secara Makroskopis

Pengamatan organ secara makroskopis dapat digunakan sebagai parameter untuk mengetahui derajat toksisitas suatu senyawa kimia. Kondisi makroskopis organ F1 mencit betina dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Pengamatan kondisi makroskopis organ

Kondisi makroskopis	Perlakuan	
	Kontrol	0.5ppm ikan berformalin
Lambung	normal	menggelembung
Usus	normal	menggelembung
Hati	normal	menghitam
Ginjal	normal	menghitam

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa, F1 mencit betina yang hanya diberi pakan tidak terjadi kelainan organ secara makroskopis. Mencit F1 yang diberi perlakuan 0.5ppm ikan berformalin menunjukkan adanya kelainan yaitu, lambung menggelembung, usus menggelembung, hati menghitam dan ginjal menghitam. Observasi makroskopis kelainan organ dapat dilihat pada Gambar 7. Lambung dan usus menggelembung mengindikasikan adanya pembentukan gas yang berlebih pada saluran cerna tersebut. Formaldehid menimbulkan iritasi dan dapat menghasilkan banyak gas

dalam saluran cerna (Schulte, *et al.*, 2006). Hati dan ginjal menghitam mengindikasikan terjadinya nekrosis secara makroskopis (Winarya dan Suarsana, 2005). Nekrosis merupakan kematian sel lokal, kematian jaringan nekrotik dapat melibatkan sitoplasma sel, inti yang paling jelas menunjukkan perubahan-perubahan yang menuju kematian sel. Biasanya, inti sel yang mati itu menyusut, batasnya tidak teratur dan berubah warna menjadi gelap (Price dan Wilson, 1984). Prosentase observasi makroskopis kelainan organ dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Observasi makroskopis kelaian organ

Kelainan Organ	Perlakuan	
	Kontrol	0.5ppm ikan berformalin
Hati (%)	0	5.56
Ginjal (%)	0	5.56
Usus (%)	0	11.11
Lambung (%)	0	5.56

F1 mencit betina yang hanya diberikan pakan pellet standart tidak mengalami kelainan organ baik hati, ginjal, usus maupun lambung sedangkan F1 mencit yang diberikan 0.5ppm ikan berformalin mengalami kelainan organ bervariasi. Prosentase kelainan organ tersebut antara lain: 5.56% hati, 5.56% ginjal, 11.11% usus dan 5.56% lambung. Adanya variasi kelainan organ ini mengindikasikan tingkat keparahan toksik formaldehid pada organ-organ tersebut. Menurut Lu (1995), toksikan tidak mempengaruhi organ secara merata. Pada umumnya, mekanisme yang mendasari adalah lebih pekannya suatu organ, atau lebih tingginya kadar bahan kimia atau metabolitnya di organ sasaran. Kadar yang lebih tinggi itu dapat meningkat pada berbagai keadaan.

Prosentase kelainan organ terbesar terdapat pada usus menggelembung, hal ini disebabkan oleh usus merupakan saluran pencernaan tempat makanan diabsorpsi sehingga usus sensitif terhadap sifat iritatif dari formaldehid dan adanya mikroflora

alami dalam usus sebagai pembentuk gas. Sifat iritatif ini yang memicu pembentukan gas berlebih pada usus sehingga menyebabkan penggelembungan. Menurut Kartono (2006), sebagian formalin yang masuk tubuh akan diurai di usus, tetapi sebagian akan diserap. Jika semua formalin diurai jadi gas CO₂ dapat mengakibatkan banyaknya gas di saluran pencernaan.



(a)

(b)

(c)

Gambar 7. Observasi makroskopis organ a). lambung menggelembung, b) hati ginjal menghitam dan c) usus menggelembung

Kelainan organ pada F1 perlakuan lebih besar dibandingkan dengan induk, hal ini mengindikasikan ketidakresistensian F1 terhadap formaldehid walaupun induk sudah terpapar formaldehid. Terakumulasinya formaldehid dalam tubuh F1 berdasar lama pajanan yang lebih lama dari induk maka derajat ketoksikannyapun lebih besar. Menurut Lu (1995), bentuk dan tingkat manifestasi toksik pada suatu organisme bergantung pada berbagai jenis faktor. Faktor yang nyata adalah dosis dan lama pajanan.

4.2 Berat Organ

Organisme biologi yang kompleks tersusun dari sekumpulan organ. Sebagian besar organisme dilindungi dari lingkungan mereka baik ekstra sel maupun intrasel oleh pelindung khusus. Tujuan daripada pelindung khusus ini agar zat kimia tersebut

melewati inang membran tertentu secara selektif. Pengukuran berat relatif beberapa organ terhadap berat badan harus diukur karena ini merupakan indikator yang berguna bagi toksisitas dan sekaligus merupakan parameter efek toksik (Lu, 1995). Berat organ/berat badan F1 mencit betina dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Berat rata-rata organ F1 mencit

Organ/BB	Perlakuan	
	Kontrol	0.5ppm ikan berformalin
Lambung (g/gBB)	0.04 ^(a)	0.03 ^(a)
Usus (g/gBB)	0.17 ^(a)	0.16 ^(a)
Ginjal (g/gBB)	0.012 ^(a)	0.013 ^(a)
Hati (g/gBB)	0.08 ^(a)	0.04 ^(b)

4.2.1 Lambung

Lambung adalah kantung mengandung otot, bagian lambung terdiri atas fundus, korpus lambung, sfingter pilorik dan atrum pilorus. Fundus secara relatif mempunyai dinding yang tipis, mempunyai sedikit kelenjar dan berfungsi sebagai reservoir. Korpus lambung mempunyai banyak kelenjar dan hanya sebagai tempat sekresi asam oleh kelenjar lambung. Sfingter pilorik menjaga pintu keluar dari lambung-pilorus. Antrum pilorus terdiri atas otot tebal dan berfungsi sebagai pompa untuk mentranspor makanan ke usus halus dengan kecepatan yang terkendali, juga lebih mencampur makanan (Broom, 1999). Lambung terletak miring dari kiri ke kanan melintasi abdomen bagian atas antara hati dan diafragma di atas dan kolon transversum di bawah (Price dan Wilson, 1984).

Dalam mukosa dinding lambung ditemukan 2 jenis kelenjar skresi: kelenjar yang memiliki satu lapis sel untuk skresi (chief cell) dan kelenjar dengan sel-sel yang susunannya berlapis-lapis (sel parietal), yang mengeluarkan sekret langsung ke dalam kelenjar lambung. Sekresi campuran ini dikenal sebagai getah lambung. Normal cairan

ini adalah jernih, berwarna kuning muda, dan sangat asam 0.2%-0.5% HCl, dengan pH sekitar 1. Getah lambung terdiri dari 97-99% air. Sisanya terdiri dari musin dan garam-garam anorganik, enzim-enzim pencernaan (pepsin dan renin) dan lipase (Martin *et al.*, 1983). Rerata berat lambung F1 mencit betina dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Rerata Berat Lambung

Perlakuan	Rata-rata (g/gBB) \pm SDev	Notasi
Kontrol	0.04 \pm 0.01	a
0.5ppm ikan berformalin	0.03 \pm 0.01	a

Berdasarkan uji t berpasangan, lambung pada kontrol dan lambung dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata (P -value = 0.068 $>$ 0.05). Hal ini berarti, terjadinya penurunan berat lambung mencit yang diberikan 0.5ppm ikan berformalin dari berat lambung kontrol masih dalam batasan normal. Menurut Loomis (1978), di dalam lambung zat kimia bersentuhan dengan isi lambung yang sebelumnya telah ada (seperti partikel makanan dan musin lambung) dan sekresi (seperti pepsin, renin, dan lipase lambung) di samping asam hidroklorat. Kalaupun zat kimia tersebut harus di absorpsi, bereaksi dengan atau bereaksi sebagai substrat bagi salah satu komponen isi lambung, maka jumlah zat kimia bentuk bebas akan menjadi berubah oleh zat tersebut, hal ini akan menjurus terjadinya perubahan laju kecepatan absorpsi zat tersebut. Analisa statistik berat organ lambung dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.2.2 Usus

Usus halus merupakan tabung yang kompleks dan berlipat-lipat. Usus memiliki struktur yang menambah luas permukaan dan membantu fungsi absorpsi yang merupakan fungsi utamanya. Lapisan mukosa dan submukosa tersusun dari lipatan-lipatan sirkular (Price dan Wilson, 1984). Usus merupakan tempat utama masukan dan juga merupakan tempat ekskresi, ini meliputi ekskresi melalui empedu yang berasal

dari sel-sel hati (Baron, 1984). Dalam usus terjadi berbagai macam absorpsi antara lain absorpsi air, absorpsi ion dan absorpsi gizi (monosakarida dan sedikit disakarida, asam amino, monogliserida dan asam lemak bebas) (Guyton, 1989). Rerata berat organ usus dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Rerata berat usus

Perlakuan	Rata-rata (g/gBB) \pm SDev	Notasi
Kontrol	0.17 \pm 0.03	a
0.5ppm ikan berformalin	0.16 \pm 0.02	a

Berdasarkan uji t berpasangan, berat usus antara kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata (P -value = 0.293 > 0.05). Rerata berat usus pada kontrol adalah 0.17g/gBB, sedangkan rerata berat usus pada 0.5ppm ikan berformalin adalah 0.16g/gBB. Mencit yang diberi perlakuan 0.5ppm ikan berformalin mengalami penurunan berat badan sebesar 0.01g/gBB dari kontrol. Penurunan berat usus ini disebabkan oleh tingkat absorpsi yang tidak sempurna yang disebabkan oleh sifat iritatif daripada formaldehid. Sifat iritatif ini menimbulkan mukosa usus luka, sehingga pencernaan di usus tidak berjalan dengan baik. Analisa statistik berat organ usus dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.2.3 Hati

Hati disebut juga sebagai alat ekskresi di samping berfungsi sebagai kelenjar dalam sistem pencernaan. Hati menjadi bagian dari sistem ekskresi karena menghasilkan empedu. Hati juga berfungsi merombak hemoglobin menjadi bilirubin dan biliverdin, dan setelah mengalami oksidasi akan berubah jadi urobilin yang memberi warna pada feses menjadi kekuningan. Demikian juga kreatinin hasil pemecahan protein, pembuangannya diatur oleh hati kemudian diangkut oleh darah ke ginjal (Praweda, 2000). Rerata berat organ hati dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Rerata berat organ hati

Perlakuan	Rata-rata (g/gBB) \pm SDev	Notasi
Kontrol	0.08 \pm 0.01	a
0.5ppm ikan berformalin	0.04 \pm 0.01	b

Berdasarkan uji t berpasangan, berat organ hati pada kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin berbeda nyata ($P\text{-value} = 0.011 < 0.05$). Hati F1 mencit betina yang diberi perlakuan mengalami penurunan sebesar 0.04g/gBB dari kontrol. Menurut Lu (1995), perubahan pada berat organ sering menjadi petunjuk toksisitas yang sangat peka. Hal ini biasanya dipengaruhi oleh enzim penginduksi dan poliferasi retikulum endoplasma yang akan mempengaruhi peningkatan ataupun penurunan kandungan sitokrom P-450. Analisa statistik berat organ hati dapat dilihat pada Lampiran 6.

Berat relatif hati adalah berat hati per berat badan. Berat relatif hati digunakan untuk menyatakan kenormalan berat hati melalui rasio berat hati terhadap berat tubuh. Kenaikan dan penurunan berat hati dan tingkat normal menjadi indikasi adanya gangguan terhadap hati akibat reaksi metabolik nutrisi (Sherlock dan Dooley, 1993).

4.2.4 Ginjal

Ginjal merupakan organ terpenting dari tubuh manusia/mamalia maka dari itu ginjal mempunyai beberapa fungsi seperti : mengatur keseimbangan cairan tubuh dan elektrolit dan asam basa dengan cara menyaring darah yang melalui ginjal, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit, serta mengekskresikan kelebihannya sebagai kemih. Ginjal juga mengeluarkan sampah metabolisme (seperti urea, kreatinin, dan asam urat) dan zat kimia asing (Anonymous, 2007^d). Berdasarkan hasil penelitian rerata berat ginjal mencit dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Rerata berat ginjal

Perlakuan	Ginjal (g/gBB) \pm SDev
Kontrol	0.012 \pm 0.003
0.5ppm ikan berformalin	0.013 \pm 0.002

Berdasarkan uji t berpasangan, berat ginjal antara kontrol dan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata (P -value = 0.530 > 0.05). Berat ginjal F1 mencit betina cenderung sama, meningkat sebesar 0.001g/gBB. Terjadinya peningkatan ini mengindikasikan formaldehid mempengaruhi laju filtrasi dari glomerulus. Menurut Lu (1995), perubahan berat organ ginjal bila dibandingkan dengan hewan pembanding, sering menunjukkan lesi ginjal. Analisa statistik berat organ ginjal dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.3 Kimia darah

Kimia darah yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah serum darah meliputi : tes fungsi hati meliputi: SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transaminase*), albumin dan globulin; tes fungsi ginjal yaitu kadar kreatinin, dan kadar formaldehid dalam serum darah. Kimia darah pada F1 mencit betina dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Kimia Darah

Parameter Uji	Kontrol (K)	0.5ppm Ikan Berformalin (IF)
Tes Fungsi Hati		
SGOT (U/I)	178.33 ^(a)	131.67 ^(b)
SGPT (U/I)	74.33 ^(a)	79 ^(a)
Albumin (g/dl)	2.75 ^(a)	3.793 ^(b)
Globulin (g/dl)	1.94 ^(a)	1.97 ^(b)
Tes Fungsi Ginjal		
Kreatinin (mg/dl)	0.31 ^(a)	0.32 ^(a)
formaldehid dalam serum (ppm)	3.7 x 10 ^{-6(a)}	360 x 10 ^{-6(b)}

4.3.1 SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*)

SGOT merupakan salah satu dari jenis enzim yang sering dihubungkan dengan kerusakan sel hati. Enzim ini mengerjakan reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutarat. Rerata SGOT dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Rerata kadar SGOT dalam serum

Perlakuan	Rata-rata (U/l) \pm SDev	Notasi
Kontrol	178.33 \pm 21.53	a
0.5ppm ikan berformalin	131.67 \pm 17.45	b

Berdasarkan uji t berpasangan, kadar SGOT antara kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin berbeda nyata ($P\text{-value} = 0.032 < 0.05$). Kadar SGOT pada mencit dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin mengalami penurunan sebesar 46.7 U/l. Adanya perubahan ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh formaldehid yang berikatan dengan asam amino tidak dikenali secara spesifik oleh GOT, dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kematian sel. Menurut Widmann (1989), kadar enzim dalam serum yang menurun jarang mempunyai makna diagnostik karena hanya ada beberapa enzim yang kadarnya cukup tinggi. Penurunan itu dapat terjadi jika jumlah sel pembuat enzim yang bersangkutan berkurang, jika ada hambatan dalam sintesis protein secara umum atau secara khusus dan jika ekskresi atau degradasi enzim meningkat. Analisa statistik tes fungsi hati (SGOT) dapat dilihat pada Lampiran 8.

4.3.2 SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transaminase*)

SGPT adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), jadi lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Rerata SGPT pada F1 mencit betina dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Rerata kadar SGPT dalam serum

Perlakuan	Rata-rata (U/I) \pm SDev	Notasi
Kontrol	74.33 \pm 14.17	a
0.5ppm ikan berformalin	79.00 \pm 11.97	a

Berdasarkan uji t berpasangan, kadar SGPT dalam serum pada kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata (P -value = 0.680 $>$ 0.05). Kadar SGPT pada F1 mencit betina yang diberi perlakuan meningkat sebesar 4.7 U/I dari kontrol. Menurut Widmann (1989), kadar enzim dalam darah yang meningkat adalah akibat kerusakan sel yang mengandung enzim itu atau mungkin juga akibat perubahan yang tidak mematikan sel tetapi sudah melemahkan permeabilitas dinding sel sehingga makromolekul-makromolekul dapat menembusnya dan terlepas ke dalam cairan ekstrasel. Kadang-kadang kadar enzim dalam serum meningkat apabila sel yang berisi enzim itu bertambah banyak atau bertambah aktif. Analisa statistik tes fungsi hati (SGPT) dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.3.3 Albumin

Albumin adalah protein yang mengalir dalam darah, dibuat oleh hati dan dikeluarkan pada darah, albumin adalah tanda yang peka dan petunjuk yang baik terhadap keparahan penyakit hati. Rerata kadar albumin dalam serum darah dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 20. Rerata kadar albumin dalam serum

Perlakuan	Rata-rata (g/dl) \pm SDev	Notasi
Kontrol	2.75 \pm 0.34	a
0.5ppm ikan berformalin	2.76 \pm 0.19	a

Berdasarkan uji t berpasangan, kadar albumin pada serum darah baik kontrol maupun perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata (P -value = 0.961 $>$ 0.05). Mencit betina yang diberi perlakuan 0.5ppm ikan berformalin terjadi peningkatan

kadar albumin sebesar 0.01g/dl. Kadar albumin baik kontrol maupun perlakuan menunjukkan kadar albumin yang normal. Menurut Kusumawati (2004), kadar albumin mencit normal berkisar antara 2.52-4.84 g/dl. Analisa statistik tes fungsi hati (albumin) dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.3.4 Globulin

Globulin gama memegang peranan khusus melindungi tubuh dari infeksi, karena globulin ini yang merupakan antibodi utama yang melawan infeksi dan keracunan menjadi sistem imun tubuh (Guyton, 1989). Rerata kadar globulin dalam serum dapat dilihat pada Tabel 21.

Tabel 21. Rerata kadar globulin dalam serum darah

Perlakuan	Rata-rata (g/dl) \pm SDev	Notasi
Kontrol	2.06 \pm 0.18	a
0.5ppm ikan berformalin	1.91 \pm 0.25	b

Berdasarkan uji t berpasangan, kadar globulin dalam serum darah antara kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin berbeda nyata (P-value 0.021 < 0.05). F1 mencit betina yang diberi perlakuan, kadar globulin menurun sebesar 0.15g/dl. Penurunan ini mengindikasikan adanya metabolisme globulin sebagai anti bodi tidak resisten terhadap formaldehid, hal ini menunjukkan bahwa formaldehid merupakan senyawa toksik. Dalam Anonymous (2007^e), kadar globulin dalam serum normal adalah 2.00-3.5g/dl. Analisa statistik tes fungsi hati (globulin) dapat dilihat pada Lampiran 11.

4.3.5 Kreatinin

Kreatinin merupakan salah satu parameter yang mengindikasikan adanya kerusakan ginjal. Kadar kreatinin dalam serum darah dapat dilihat pada Tabel 22.

Tabel 22. Rerata Kadar Kreatinin dalam Serum Darah

Perlakuan	Rata-rata (mg/dl)
Kontrol	0.31
0.5ppm ikan berformalin	0.32

Berdasarkan Mann-Whitney Test, kadar kreatinin pada serum darah antara kontrol dengan perlakuan 0.5ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata ($P\text{-value} = 0.8728 > 0.05$). Kadar kreatinin F1 mencit betina yang diberi perlakuan mengalami kenaikan sebesar 0.01mg/dl, tetapi baik kontrol maupun perlakuan 0.5ppm ikan berformalin masih dalam kadar kreatinin masih dalam batas normal. Kisaran normal kreatinin pada mencit adalah 0.30-1.00mg/dl (Kusumawati, 2004). Menurut Widmann (1989), kreatinin dalam darah meningkat apabila fungsi renal berkurang. Analisa statistik tes fungsi ginjal (kreatinin) dapat dilihat pada Lampiran 12.

4.3.6 Formaldehid dalam Serum Darah

Plasma adalah cairan ekstrasel dari darah beredar, mengandung fibrinogen yang sangat besar molekulnya (340000 dalton) dan yang berubah menjadi fibrin bila darah membeku. Serum adalah bagian darah yang tersisa setelah darah membeku. Pembekuan merubah semua fibrinogen menjadi fibrin dengan menghabiskan faktor VIII, V dan protombrin. Serum dan plasma sama susunannya kecuali fibrinogen dan beberapa faktor koagulasi yang tidak ada dalam serum (Widmann, 1989). Rerata kandungan formaldehid dalam serum darah dapat dilihat pada Tabel 23.

Tabel 23. Rerata kandungan formaldehid dalam serum darah

Perlakuan	Rata-rata (ppm)
Kontrol	3.7×10^{-6}
0.5ppm ikan berformalin	$3,6 \times 10^{-4}$

Berdasarkan Mann-Whitney Test, kandungan formaldehid antara kontrol dengan perlakuan berbeda nyata ($P\text{-value} = 0.004 < 0.05$). Kandungan formaldehid pada F1 mencit betina yang diberi perlakuan meningkat sebesar 3.6×10^4 ppm. Pada dasarnya secara alami formaldehid memang sudah ada dalam metabolisme tubuh, akan tetapi kadar formaldehid yang melewati ambang batas yang menyebabkan formaldehid bersifat toksik. Formaldehid merupakan bentuk endogen dari produk samping metabolisme mamalia pada umumnya. Formaldehid merupakan metabolit antara sel mamalia yang penting diproduksi selama metabolisme normal dari asam amino seperti serine, glisin, metionin dan kolin (Naya dan Nakanishi, 2005). Analisa statistik formaldehid dalam serum darah dapat dilihat pada Lampiran 13.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan ikan nila berformalin berpengaruh terhadap fisiologis F1 mencit betina yaitu fungsi kimia darah SGOT, globulin dan formaldehid dalam serum darah ($P\text{-value} < 0.05$) dan terhadap observasi makroskopis: rambut berdiri (5.56%), badan tak seimbang (5.56%), usus menggelembung (11.11%), lambung menggelembung (5.56%), hati menghitam (5.56%) dan ginjal menghitam (5.56%) .

5.2 Saran

- ❖ Tidak menggunakan formalin sebagai bahan pengawet pangan.
- ❖ Perlu dilakukan pengujian histopatologik pada organ sasaran toksikan secara oral.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1995. Nutrient Requirement Of Laboratory Animals. Fourth Revised Edition. The National Academy of Sciences. www.nap.edu/openbook/0309051266/html/3.html
- 1999. Toxicological Profile Formaldehyde. U.S. Department of Health and Human Services. <http://www.atsdr.cdc.gov> Diakses tanggal 28 Maret 2007.
- 2004. The Use of Animal in Biomedical Research : Improving Human and Animal Health. American Association for Laboratory Animal Science. <http://www.aalas.org>
- 2005a. Masyarakat Sendiri Suka Formalin. <http://www.kompas.com>. Diakses 14 Desember 2006.
- 2005b. Bahan Berbahaya yang Dilarang untuk Pangan. <http://www.indonesia.go.id> Diakses tanggal 10 Maret 2007.
- 2005 c. Tes Fungsi Hati. <http://www.spiritia.com> Diakses tanggal 5 Juli 2007.
- 2006. Cara Mengenal Formalin dalam Makanan. <http://www.waspada.go.id> Diakses tanggal 30 Januari 2006.
- 2007a. Formalin. <http://www.pom.go.id>. Diakses tanggal 3 Mei 2007.
- 2007b. Formaldehida. Wikipedia edisi bahasa Indonesia. <http://id.wikipedia.org/wiki/Formalin> Diakses tanggal 28 Maret 2007.
- 2007c. Let Us Look at Formalin. <http://www.geocities.com/koifla/formalin/htm>. Diakses tanggal 10 Maret 2007.
- 2007d. Gangguan Sistem Ginjal dan Traktus Urinarius pada Lanjut Usia. <http://www.cigp.org/index.php> Diakses tanggal 5 Juli 2007.
- 2007e. Globulin. <http://www.medlineplus.com> Diakses tanggal 6 Juli 2007.
- Baron, D. N. 1984. Kapita Selekt Patologi Klinik Edisi 4. Diterjemahkan Oleh P. Andrianto dan J. Gunawan. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 15.
- Broom, Bryan. 1999. Sistem Perkemihan dan Sistem Pencernaan. Alih bahasa Y. Asih. EGC Jakarta. Halaman 45, 64.

- Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. PT. Bumi Aksara. Jakarta. Halaman 231, 236 ,230.
- Cahyono, B. 2000. Budidaya Ikan Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. Halaman 25.
- Dolaria, N. 2003. Komposisi Kimia Beberapa Jenis Ikan Segar dan Hasil Olahannya. Diakses di Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia tanggal 17 November 2003. <http://www.dkp.go.id> Diakses tanggal 28 November 2006.
- Efendi, J. 2007. Skripsi Tentang Pengaruh Paparan Berulang Ikan Berformalin 0.5ppm Per Oral Selama 1 Bulan Terhadap Kondisi Fisiologis Mencit (*Mus musculus*). Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Fatimah, N. 2006. Ada Apa dengan Formalin. <http://www.percikan-iman.com>. Diakses tanggal 20 Oktober 2006.
- Gibson, G. G dan P. Skett. 1991. pengantar Metabolisme Obat. Diterjemahkan Oleh Iis Aisyah B. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Guyton, A. C. 1989. Fisiologi Kedokteran. Diterjemahkan Oleh: A. Dharma dan P. Lukmanto. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Halaman 345.
- Judarwanto, W. 2006. Pengaruh Formalin bagi Sistem Tubuh. <http://puterakembara.org/archives8/00000066.shtml> Diakses tanggal 16 Februari 2007.
- Kartono,M. 2006. Formalin di Makanan Tak Berbahaya Diurai Menjadi CO₂. <http://www.indosat.net.id> Diakses tanggal 26 Februari 2007
- Kiernan, J. A. 2000. Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde dan Glutaraldehyde: What they are and what they do. Departemen of Anatomy & Cell Biology. The University of Western Ontario. Canada. <http://publish.uwo.ca.htm>. Diakses tanggal 21 Februari 2007.
- Kurniawati, R. 2007. Laporan Praktek kerja Lapang Studi Tentang Pengolahan ikan Asin di Desa Sendang Biru. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Halaman 66.
- Loomis, T. A. 1978. Toksikologi Dasar. Penerjemah Imono Argo Donatus. IKIP Press. Semarang.
- Lu, Frank C. 1995. Toksikologi Dasar “Asas, Organ Sasaran dan Resiko Penilaian” Edisi Kedua. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Halaman 29.

- Martin Jr, D. W, P.A. Mayes dan V. W. Rodwell. Biokimia (Review of Biochemistry) Edisi 19. Alih Bahasa: A. Dharma dan A. S. Kurniawan. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 611.
- Murray, R.K, D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2003. Biokimia Harper. Alih Bahasa A. Hartono. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 746-748.
- Murtidjo, B.A. 2001. Beberapa Metode Pembenihan Ikan Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. Halaman 67.
- Naya, M dan J. Nakanishi. 2005. Risk Assessment of Formaldehyde for The General Population in Japan. Research Center for Chemical Risk Management, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. Jepang. <http://www.elsevier.com>
- Praweda. 2000. Sistem Ekskresi Pada Hewan. <http://www.praweda.co.id> Diakses tanggal 5 Juli 2007.
- Price, S.A dan L.M Wilson. 1984. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Hal 264, 285,199-307.
- Prihatman, K. 2000. Budidaya Nila. Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. <http://www.ristek.go.id>. Diakses tanggal 20 Oktober 2006.
- Quievryn, G and A. Zhitkovich. 2000. Loss of DNA-Protein Crosslinks from Formaldehyde-Exposed Cell Occurs Throug Spontaneous Hydrolysis and an active Repai Process linked to Proteosome function. Journal Carcinogenesis vol.21 no.8 pp.1573-1580. Department of Pathology and Laboratory Medicine Brown University. USA.
- Saparinto, C dan D. Hidayati. 2006. Bahan Tambahan Pangan. Kanisius. Yogyakarta. Halaman 64.
- Sechulte, H. V. A, U. Bernaeur, S. Madle, H. Mielke, U. Herbst, H-B Richter-Reichhelm, K-E Appel and U. Gundert-Remy. 2006. Assessment of The Carcinogenicity of Formaldehyd. Bundesinstur Fur Risikobewertung. Berlin. <http://www.bfr.bund.com> Diakses tanggal 28 Maret 2007.
- Sherlock, S. adan J. Dooley.1993. Deseases of the Liver and Biliary System. Ninth Edition. Blackwell Scientific Publications. London.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 199

- Smith, John B. 1998. Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Diterjemahkan oleh S. Mangkoewidjojo. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Halaman 11.
- Suripto. 2003. Fisiologi Hewan. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 8.
- Susanto, H. 1987. Budidaya Ikan di Pekarangan. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. Halaman 36.
- Wandira. 2006. Formalin Yang Meresahkan. <http://wandira.wordpress.com> Diakses 16 Januari 2006.
- Widmann, F. K. 1989. Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi 9. Diterjemahkan oleh: S. B. Kresno, R. Gandasoebrata dan J. Latu. EGC. Jakarta. Halaman 256.
- Winarya, I. B. O dan I. N Suarsana. 2005. Perubahan Morfologi Hati dan Ginjal Yang Diinduksi Karbontetraklorida (CCl_4). Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar.



LEMBAR REVISI LAPORAN SKRIPSI

Nama : Erna Kunchayani

Nim : 0310830033-83

Fakultas : Perikanan

Prodi : Teknologi Hasil Perikanan

Judul : Pengaruh Paparan Berulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin 0.5ppm Peroral Selama 1 Bulan Terhadap Perubahan Fisiologis Mencit Betina (*Mus musculus*) Turunan Pertama (F1) Dari Induk Yang Terpapar 1 Bulan

No	Hal	Keterangan	Sebelum Revisi	Setelah revisi
1	1	Latar Belakang	Penulisan kepustakaan	Sudah diperbaiki
2	20	Tinjauan pustaka	Organ viscera mencit betina	Sudah diperbaiki
3	23	Metodologi	Point induk dan betina dibedakan	Sudah diperbaiki
4	34	Hasil dan Pembahasan	Keadaan fisiologis induk	Sudah diperbaiki
5	50	Kesimpulan	Kurang segaris dengan hipotesis	Sudah diperbaiki
5	51	Daftar Pustaka	Belum lengkap	Sudah diperbaiki
6	58	Lampiran	Diperjelas dari induk	Sudah diperbaiki

Malang, 7 Agustus 2007

DOSEN PENGUJI I

Ir. Anies Chamidah, MP
NIP. 131 879 043
Tanggal :

MENYETUJUI
DOSEN PEMBIMBING I

Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 131 839 366
Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

Rahmi Nurdiani , Spi. MApp.SC
NIP. 132 299 052
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Dwi Setijawati, MKes
NIP. 131 759 606
Tanggal :

