

**PENGARUH PEMBERIAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
BERFORMALIN PER ORAL PER 1 BULAN TERHADAP
KERUSAKAN GINJAL INDUK MENCIT (*Mus musculus*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :

BAYU KUSUMA

NIM. 0410830019



**FAKULTAS PERIKANAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2008

**PENGARUH PEMBERIAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
BERFORMALIN PER ORAL PER 1 BULAN TERHADAP
KERUSAKAN GINJAL INDUK MENCIT (*Mus musculus*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :

BAYU KUSUMA

NIM. 0410830019

Menyetujui,
Dosen Penguji

Prof. Dr. Ir. T.J. Moedjiharto, M.App.Sc
NIP. 130 518 979

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

Ir. Dwi Setijawati M.Kes
NIP. 131 759 606

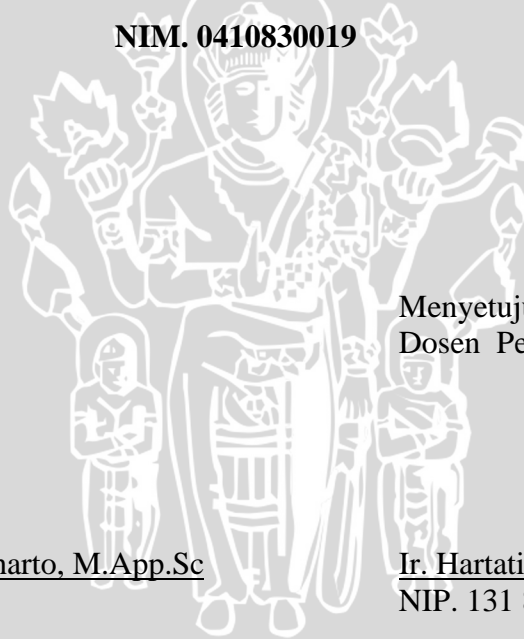
Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 131 839 366

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Ir. Maheno Sriwidodo, MS
NIP. 131 471 522

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KARTU REVISI LAPORAN SKRIPSI

Nama : Bayu Kusuma

Nim : 0410830019

Judul : Pengaruh Pemberian Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Per Oral Per
1 Bulan Terhadap Kerusakan Ginjal Induk Mencit (*Mus musculus*)

No.	Halaman	Sebelum	Sesudah	Keterangan
1.	i	Ginjal Mencit	Ginjal Induk Mencit	Sudah diperbaiki
2.	3	Rumusan Masalah belum tepat	Rumusan Masalah sudah diperbaiki	Sudah diperbaiki
3.	3	mengetahui	menetapkan	Sudah diperbaiki
4.	9	MSDS (Material Safety Data Sheet)	Material Safety Data Sheet (MSDS)	Sudah diperbaiki
5.	16	Belum ada gambar mekanisme nekrosis	Sudah ditambahkan	Sudah ditambahkan
6.	17	Belum ada fisiologi mencit	Sudah ditambahkan	Sudah ditambahkan
7.	19	Tabel RAL	Sudah dihapus	Sudah dihapus
8.	20	Pembuatan spesimen	Sudah ditambahkan	Sudah

		belum jelas		ditambahkan
9.	20	Pewarnaan belum jelas	Sudah ditambahkan	Sudah ditambahkan
10.	28	Gambar nekrosis tubulus kurang jelas	Gambar sudah diperjelas	Sudah diperbaiki
11.	29	Kesimpulan belum konsisten	Sudah diperbaiki	Sudah diperbaiki

Menyetujui,
Dosen Penguji

Prof. Dr. Ir. T.J. Moedjiharto, M.App.Sc
NIP. 130 518 979

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

Ir. Dwi Setijawati M.Kes
NIP. 131 759 606

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 131 839 366

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Ir. Maheno Sriwidodo, MS
NIP. 131 471 522



RINGKASAN

BAYU KUSUMA. Pengaruh Pemberian Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Per Oral Per 1 Bulan terhadap Kerusakan Ginjal Mencit (*Mus musculus*). Dibawah bimbingan **Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS** dan **Ir. DWI SETIJAWATI, M.Kes.**

Ikan segar merupakan salah satu bahan pangan yang bersifat *perishable food*. Pengawet biasanya ditambahkan untuk memperpanjang daya simpannya. Dewasa ini maraknya penggunaan formalin (bahan pengawet berbahaya) sebagai bahan pengawet menjadi kontroversial di masyarakat. Formalin dalam kadar yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan tubuh bahkan tingkatan organ, namun belum ada penelitian mengenai dampak formalin dalam dosis sangat rendah dengan paparan berulang. Organ dalam tubuh yang menjadi sasaran formalin adalah ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ tubuh yang berfungsi untuk detoksifikasi. Sel-sel penyusun ginjal mudah mengalami nekrosis akibat formalin yang dapat menyebabkan terjadinya *ischemia*.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan suatu gambaran mengenai pengaruh pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin per oral per 1 bulan terhadap kerusakan ginjal mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dasar Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang pada bulan September – Desember 2007.

Metode penelitian yang digunakan bersifat eksperimental. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan Acak Lengkap. Analisa lanjutan yang digunakan adalah analisa Duncan.

Penelitian ini mendapatkan hasil bahwa dari analisa statistik uji kreatinin berbeda nyata antara perlakuan dengan kontrol. Kreatinin merupakan zat yang tidak boleh lolos dari filtrasi glomerulus. Lolosnya glomerulus mengindikasikan bahwa terjadi kerusakan pada glomerulus ginjal mencit. Hasil pengamatan irisan ginjal mencit didapatkan bahwa terdapat glomerulus yang mengecil. Kerusakan juga terjadi pada tubulus ginjal. Uji statistik nekrosis tubulus ginjal menghasilkan beda nyata antara perlakuan dengan kontrol. Kerusakan tubulus yang terjadi mengarah pada *Acute Tubular Necrosis*.

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terjadi kerusakan glomerulus pada ginjal mencit akibat paparan ikan berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm formalin per oral per 1 bulan. Kerusakan tubulus juga diakibatkan oleh paparan ikan berformalin 0,5 ppm, ikan berformalin 0,2 ppm tidak memberikan kerusakan yang signifikan terhadap tubulus ginjal mencit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ir. Hartatik Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan saran dan dorongan dalam penyusunan laporan skripsi.
2. Ir. Dwi Setijawati, MS selaku dosen pembimbing II yang telah banyak membantu dan memberikan dorongan dalam penyusunan laporan skripsi.
3. Bapak dan ibu yang selalu memberikan doa dan motivasi demi terselesaikannya laporan skripsi.
4. Semua pihak yang membantu, sehingga terselesaikannya laporan skripsi.

Kritik dan saran diharapkan karena penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan skripsi masih jauh dari sempurna. Penulis berharap semoga penulisan laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan bahan referensi bagi penelitian lebih lanjut.

Malang, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

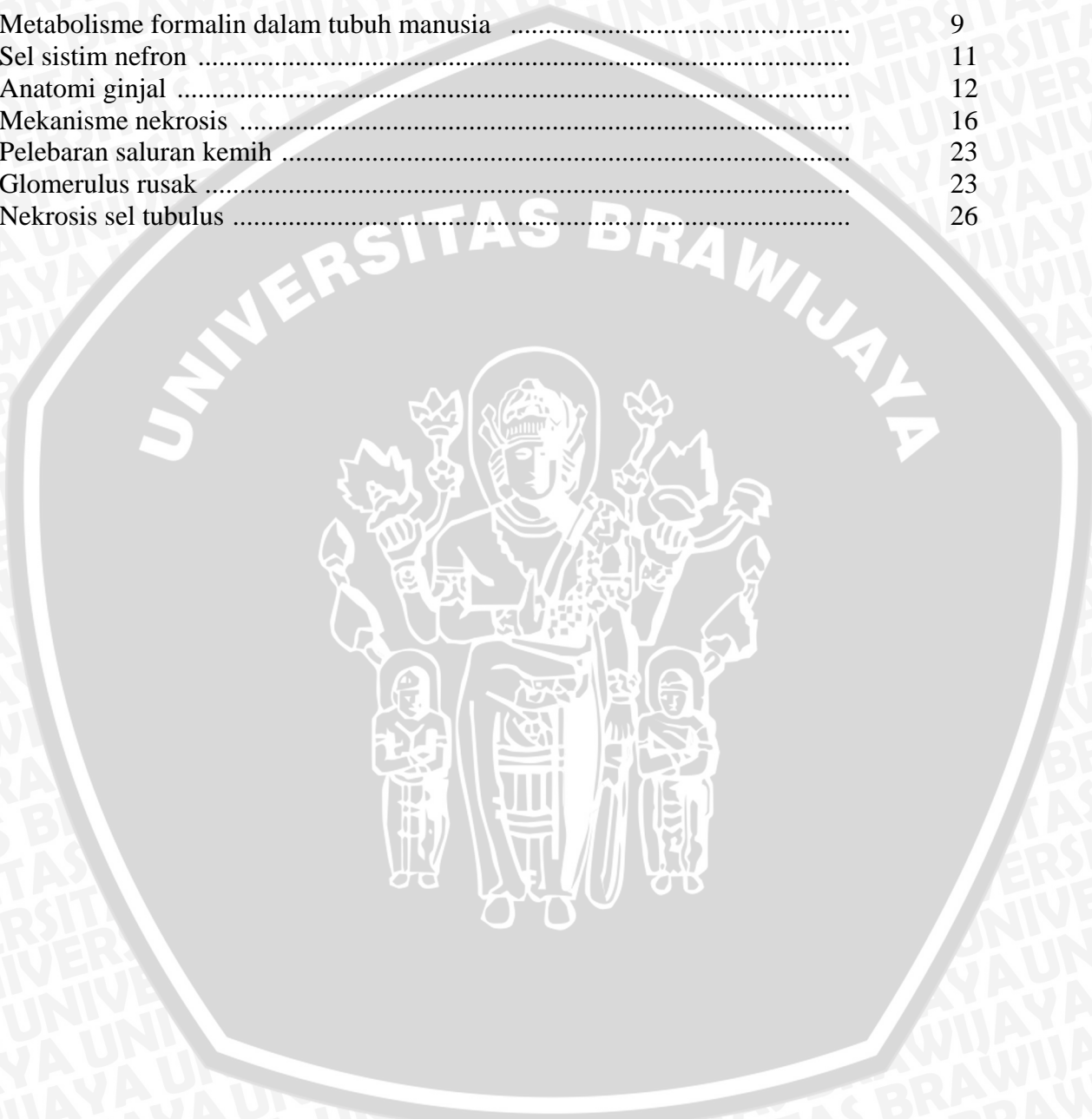
	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Hipotesa	4
1.6 Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Nila	5
2.2 Formalin	6
2.2.1 Fisiko-kimia Formalin	6
2.2.2 formalin dalam Daging Ikan	6
2.2.3 Metabolisme Formalin dalam Tubuh	7
2.2.4 Dampak Formalin dalam Kesehatan	9
2.3 Ginjal	10
2.3.1 Anatomi Ginjal	10
2.3.2 Mekanisme Pembersihan plasma Darah oleh Ginjal	12
2.4 Kerusakan Ginjal	14
2.4.1 <i>Glomerularnephritis Sclerosis</i>	14
2.4.2 <i>Acute Tubular Necrosis (ATN)</i>	15
2.4.3 Mekanisme Nekrosis	15
2.5 Mencit	17
3. METODOLOGI	18
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	18
3.2 Metode Penelitian	18
3.3 Rancangan Percobaan	19
3.4 Prosedur Kerja	19
3.4.1 Preparasi Hewan Uji	19
3.4.2 Pembuatan Spesimen	20
3.4.3 Prosedur Pewarnaan Haemotoxylin-Eosin (HE)	21
3.4.4 Prosedur Pengamatan	21

4. PEMBAHASAN	22
4.1 Analisa Glomerulus	22
4.2 Analisa Tubulus	27
5. PENUTUP	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Metabolisme formalin dalam tubuh manusia	9
2. Sel sistim nefron	11
3. Anatomi ginjal	12
4. Mekanisme nekrosis	16
5. Pelebaran saluran kemih	23
6. Glomerulus rusak	23
7. Nekrosis sel tubulus	26



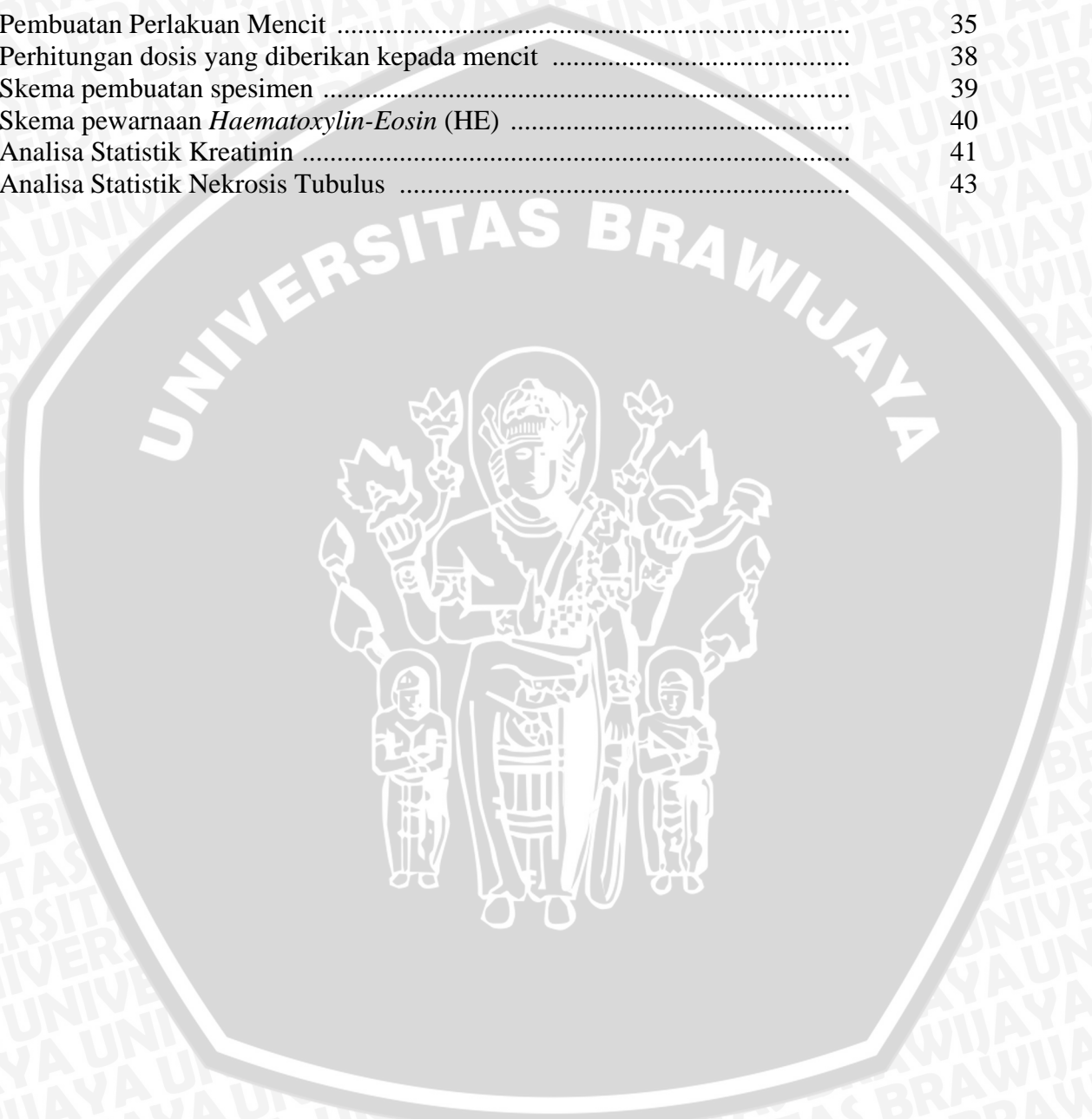
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kerusakan Ginjal	24
2. Perbandingan Berganda Kreatinin	25
3. Perbandingan Berganda Nekrosis Tubulus	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Perlakuan Mencit	35
2. Perhitungan dosis yang diberikan kepada mencit	38
3. Skema pembuatan spesimen	39
4. Skema pewarnaan <i>Haematoxylin-Eosin</i> (HE)	40
5. Analisa Statistik Kreatinin	41
6. Analisa Statistik Nekrosis Tubulus	43



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan segar merupakan salah satu bentuk ikan yang sering dipasarkan di pasaran. Ikan segar yang dipasarkan mempunyai kelebihan, yaitu mempunyai nilai gizi yang tinggi. Ikan segar merupakan bahan makanan yang bersifat *perishable food*, oleh karena itu membutuhkan metode pengawetan. Salah satu metode pengawetan yang biasa digunakan dalam pemasaran ikan segar adalah metode pendinginan menggunakan es curai. Metode ini membutuhkan es dalam jumlah banyak untuk menjaga tubuh ikan agar tetap dingin (Hadiwiyoto, 1993). Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet pengganti formalin merupakan cara untuk mengurangi biaya produksi (Amiruddin, 2006). Menurut Kurniawan (2006), kandungan formalin yang ditambahkan pada ikan segar di pasaran berkisar antara 70,77-3219,92 ppm.

Formalin merupakan bahan kimia yang mudah terbakar, tidak berwarna dan terpolimerisasi menjadi gas pada suhu ruang. Formalin diperdagangkan secara umum dalam bentuk larutan 30-50%. Formalin digunakan sebagai *desinfektan*, *sterilisator* dan pengawet pada dunia medis (Inchem, 1989). Dewasa ini formalin sering disalahgunakan oleh produsen makanan yang tidak bertanggung jawab sebagai bahan pengawet makanan seperti mi basah, ikan asin, ikan segar, ayam, dan lain-lain (Kirsilam, 2006).

Efek yang timbul apabila formalin tercampur dalam makanan dengan dosis rendah yaitu akan menyebabkan keracunan (Wikipedia, 2006). Menurut Studzinski (1995), suatu *cytotoxic* (zat kimia yang dapat membunuh sel) dapat menimbulkan nekrosis pada suatu sel. Amiruddin (2006) menyatakan bahwa penggunaan formalin

dalam jangka panjang dapat berakibat buruk pada organ tubuh, seperti kerusakan hati dan ginjal.

Ginjal merupakan salah satu organ yang dapat melakukan detoksifikasi dalam tubuh dengan cara filtrasi, sehingga ginjal dapat rusak akibat terpapar formalin (Anonymous, 2007). Ginjal adalah organ besar berbentuk kacang yang letaknya retroperitoneal pada dinding posterior tubuh. Di atas setiap ginjal, terdapat kelenjar adrenal yang terbenam di dalam jaringan ikat ginjal (Eroschenko, 2003). Fungsi utama dari ginjal adalah sebagai alat pembersih plasma darah dari bahan-bahan toksis, sisa metabolisme dan benda asing. Ginjal dapat membersihkan plasma darah dari bahan toksikan melalui sistim nefron yang terdapat di dalamnya. Sistim nefron ini terdiri atas glomerulus dan tubulus-tubulus (Mas'ud, 1984). Salah satu bahan toksik yang dibersihkan oleh ginjal dari plasma darah adalah formalin, formalin yang difiltrasi oleh ginjal akan dibuang melalui urin (Conaway *et al.* 1996 dalam Schulte *et al.*, 2006).

Ginjal yang rusak karena formalin, secara makroskopis akan terlihat mengembung, berwarna merah kehitaman, terjadi pendarahan dan lebih keras. Ginjal yang rusak akibat formalin, secara mikroskopis akan terjadi kelainan struktur pada sel glomerulusnya. Secara mikroskopis, kerusakan ginjal akibat formalin juga terlihat pada sel tubulusnya yang mengalami pembengkakan dan beberapa selnya mengalami lisis. Gejala mikroskopis yang terjadi mengindikasikan bahwa pada sel-sel penyusun ginjal mulai mengalami nekrosis (Fishcer, 2008).

Menurut Baraas (2006), nekrosis yang terjadi pada sel diawali dengan fase *ischemia*. Fase *ischemia* mengakibatkan terjadinya depleksi ATP. Fase depleksi ATP akan mengganggu sistim kanal ion yang terdapat pada sel. Gangguan kanal ion

mengakibatkan air dari luar sel masuk dan mengakibatkan terjadinya edema pada sel. Sel yang edema akan lisis apabila membran sel tidak dapat mempertahankan bentuknya.

1.2 Rumusan Masalah

Nekrosis merupakan suatu fase kematian sel yang diakibatkan oleh suatu *cytotoxic* (senyawa yang dapat membunuh sel) (Studzinski, 1995). Toksikan seperti formalin dapat mengakibatkan terjadinya *ischaemia*. *Ischaemia* merupakan fase kurangnya suplai oksigen ke dalam jaringan yang diakibatkan terganggunya sistem pengangkutan oksigen oleh darah. *Ischaemia* dapat merusak organ dalam seperti ginjal yang sangat rentan terhadap *ischaemia* (Baraas, 2006).

Penelitian ini dimaksudkan untuk menetapkan, apakah pemberian ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm memberikan pengaruh terhadap kerusakan mikroskopis ginjal induk mencit?

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dilakukan penelitian ini adalah untuk menetapkan pengaruh paparan berulang ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm secara oral dan berulang selama 1 bulan terhadap kerusakan mikroskopis ginjal induk.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran mengenai kerusakan mikroskopis ginjal induk mencit dengan paparan berulang ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm secara oral selama 1 bulan.

1.4 Manfaat Penelitian

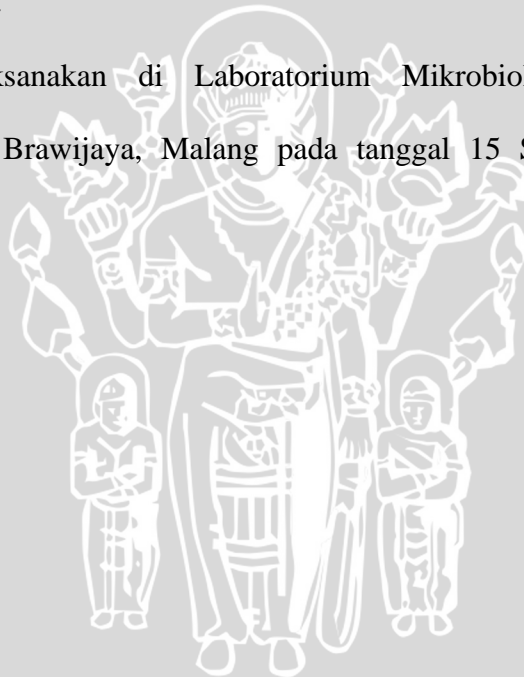
Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran kepada masyarakat dan pemerintah bahwa pemberian ikan nila berformalin dosis sangat rendah kepada induk mencit dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal.

1.5 Hipotesis

Pemberian ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan ginjal induk mencit (*Mus musculus*).

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 15 September 2007 - 28 Desember 2007.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila

Ikan nila merupakan jenis ikan konsumsi air tawar dengan bentuk tubuh memanjang dan pipih kesamping dan warna putih kehitaman. Ikan nila berasal dari Sungai Nil dan danau-danau sekitarnya. Sekarang ikan ini telah tersebar ke negara-negara di lima benua yang beriklim tropis dan subtropis. Sedangkan di wilayah yang beriklim dingin, ikan nila tidak dapat hidup baik. Ikan nila disukai oleh berbagai bangsa karena dagingnya enak dan tebal seperti daging ikan kakap merah. Klasifikasi ikan nila menurut Prihatman (2000), adalah sebagai berikut:

Kelas : Osteichthyes
Sub-kelas : Acanthopterygii
Ordo : Percomorphi
Sub-ordo : Percoidea
Famili : Cichlidae
Genus : *Oreochromis*
Spesies : *Oreochromis niloticus*

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang mudah ditemukan di Indonesia. Ikan ini memiliki ciri-ciri morfologis sebagai berikut : bentuk badannya pipih kesamping memanjang, mempunyai garis vertical berwarna hitam kebiruan, garis-garis pada sirip ekor berwarna hitam, tipe sisik ctenoid (sisik sisir), mata tampak menonjol agak besar dan dipinggirnya berwarna hijau kebiru-biruan. (Sugiarto, 1989; Rustidja, 1996).

2.2 Formalin

2.2.1 Fisiko-Kimia Formalin

Formalin merupakan bahan kimia yang mudah terbakar, tidak berwarna dan terpolimerisasi menjadi gas pada suhu ruang. Formalin diperdagangkan secara umum dalam bentuk larutan 30-50%. Formalin digunakan sebagai *desinfektan*, *sterilisator* dan pengawet pada dunia medis (Anonymous, 1989). Nurachman (2005) menambahkan bahwa formaldehid berguna sebagai bahan baku pabrik-pabrik resin plastik, peledak, senyawa busa, desinfektan, dan insektisida.

Formalin ($H_2C=O$) merupakan bahan kimia yang mudah terbakar, tidak berwarna dan mudah menguap pada suhu dan tekanan kamar dengan berat molekul relative sebesar 30,03. Pada tekanan atmosfer, formalin mudah teroksidasi oleh sinar matahari menjadi karbon dioksida melalui proses foto-oksidasi. Formalin mudah bereaksi dengan polutan di udara dengan pengaruh sinar matahari, sehingga masa simpannya menjadi rendah. Dalam kondisi spesifik, formalin dapat bereaksi dengan hydrogen dan chlorida anorganik lainnya untuk membentuk *chloromethyl ether* (WHO, 2001).

2.2.2 Formalin dengan Daging Ikan

Formalin yang dicampur dengan daging ikan dapat mengawetkan daging tersebut untuk beberapa hari. Formalin yang masuk ke dalam daging akan bereaksi dengan protein. Reaksi antara protein dengan formalin akan membentuk suatu ikatan kimia yang sangat kuat. Ikatan kimia yang terbentuk antara protein dengan formalin biasanya disebut dengan jembatan metilen. Jembatan metilen yang terbentuk dapat mengeluarkan air dari protein yang diikat. Kelebihan jembatan metilen biasanya

digunakan dalam industri penyamakan. Protein yang telah membentuk jembatan metilen akan berubah struktur luarnya, sehingga mengakibatkan perubahan bentuk (Kiernan, 2004).

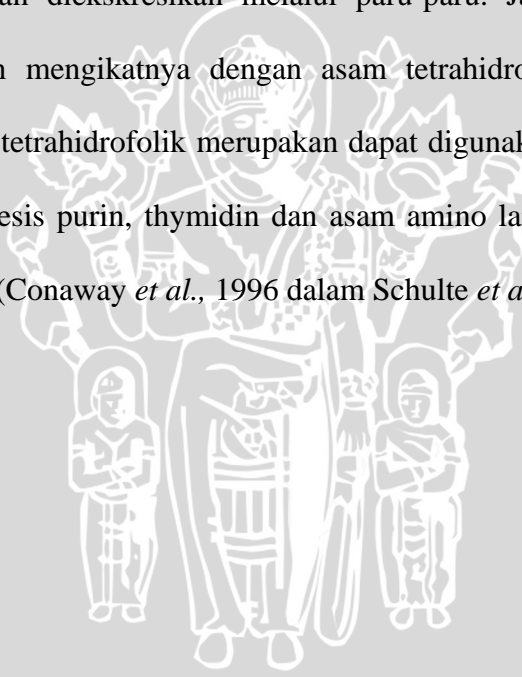
2.2.3 Metabolisme Formalin dalam Tubuh

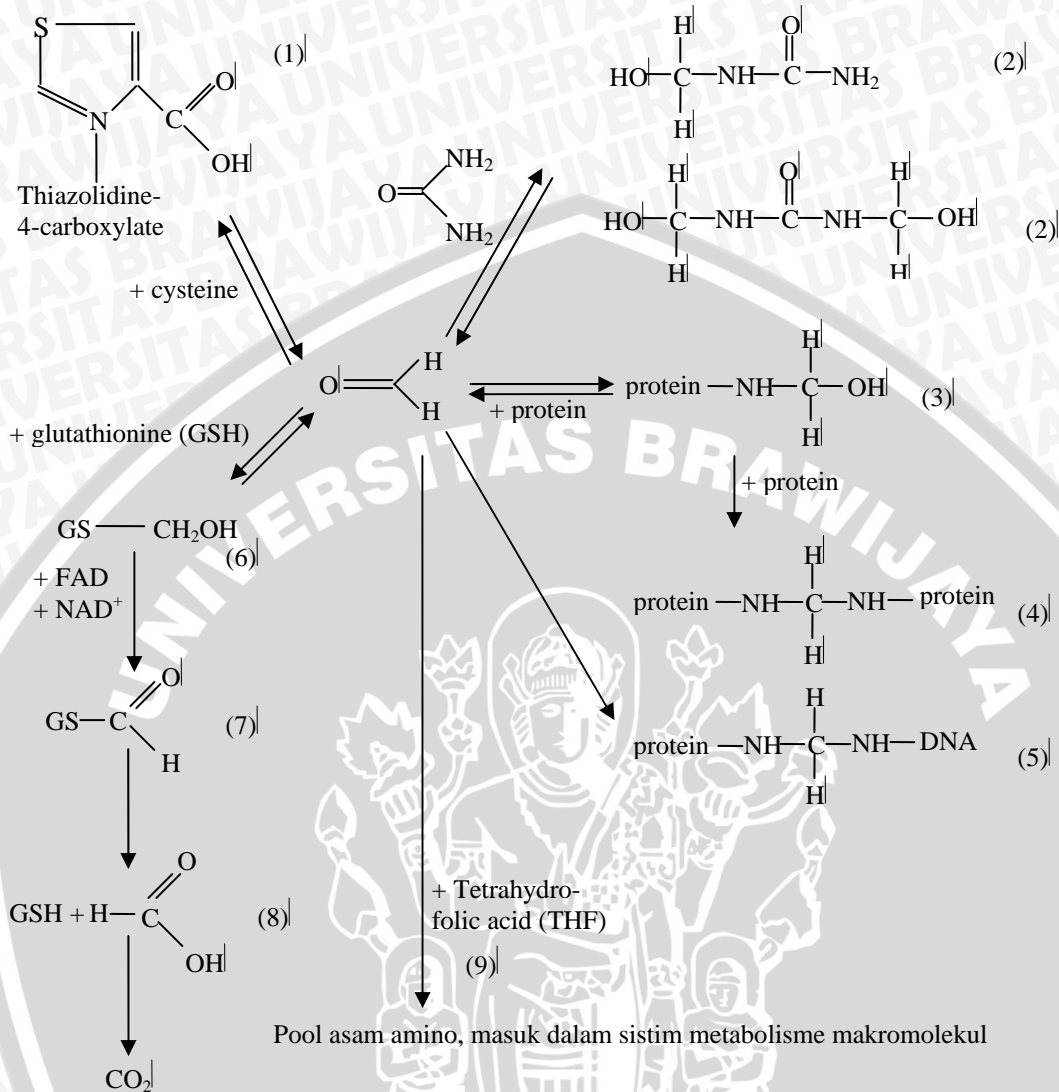
Formalin yang masuk ke dalam tubuh akan masuk dalam siklus metabolisme untuk dirubah menjadi turunan formiat dan CO₂ sebagai pencegahan masuknya toksikan ke dalam tubuh. Enzim yang berperan dalam metabolisme formalin adalah Formaldehyde-dehydrogenase (FAD) yang memerlukan *gluthionine* sebagai kofaktor. FAD yang terdapat pada tikus, dimana FAD dapat mengoksidasi formalin pada konsentrasi yang rendah (2,6 ppm) (Casanove *et. al*, 1996. dalam Schulte *et. al.*, 2006).

Formalin juga diproduksi di dalam tubuh dalam jumlah kecil sebagai metabolit normal, dimana metabolit ini banyak terdapat pada hati. Formalin yang terdapat pada plasma darah dapat dihilangkan dari plasma darah dengan mengubahnya menjadi karbondioksida (CO₂) dan dibuang melalui paru-paru. Proses penghilangan formalin dari tubuh yang melalui mekanisme ini memerlukan waktu 1 sampai 1,5 menit. Formalin juga dibuang melalui ginjal dalam jumlah kecil. pembuangan melalui ginjal harus melalui proses transformasi menjadi garam formiat dan metabolit lainnya (WHO, 2001).

Ada beberapa kemungkinan mengenai jalur metabolisme formalin dalam tubuh. Mekanisme pertama adalah formalin bergabung dengan cystein untuk membentuk *thiazolidine-4-carboxylate*. Jalur kedua adalah berikatan dengan urea untuk membentuk *hydroxymethyladducts* atau dengan protein (seperti protein darah, serum albumin atau protein lendir), reaksi *irreversible* adalah hasil dari reaksi satu molekul formalin dengan

2 molekul protein (jalur ketiga). Formalin juga dapat bereaksi dengan protein dan DNA membentuk ikatan silang protein dan DNA (jalur keempat). Formalin bereaksi spontan dengan *gluthationin* (GSH) di dalam sel membentuk *S-hydroxymethylglutathione* dan dengan keberadaan NAD^+ , *S-hydroxymethylglutathione* akan diubah oleh *formaldehyde-dehidrogenase* (FAD) menjadi *S-formylglutathione* (jalur keenam). Keberadaan air dalam sel akan memicu proses hidrolisis *S-formylglutathione*, sehingga menghasilkan GSH dan asam formiat. Asam formiat akan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urine dengan mengubahnya menjadi garam sodium, selain itu asam formiat juga dapat diubah menjadi CO_2 dan diekskresikan melalui paru-paru. Jalur lain metabolisme formalin adalah dengan mengikatnya dengan asam tetrahidrofolik. Formalin yang terkandung dalam asam tetrahidrofolik merupakan dapat digunakan oleh tubuh sebagai bahan utama dalam sintesis purin, thymidin dan asam amino lainnya dan disimpan di dalam pool asam amino (Conaway *et al.*, 1996 dalam Schulte *et al.*, 2006)





Gambar 1. Metabolisme formalin dalam tubuh manusia

2.2.4 Dampak Formalin bagi Kesehatan

Berbagai data dari Material Safety Data Sheet (MSDS) di bidang industri yang ada memberikan informasi mengenai bahaya formalin. Formalin umumnya terdiri dari bahan formaldehid 37% dan metil alkohol 10-15 %, terdapat dalam larutan-larutan dalam berbagai kepekatan dan mempunyai bau yang menyengat dan bersifat racun. Jika dikonsumsi dalam jangka panjang maka formaldehid dapat merusak hati, ginjal, limpa,

pankreas, otak dan menimbulkan kanker, terutama kanker hidung dan tenggorokan. Keracunan akut formalin dapat menimbulkan vertigo dan perasaan mual dan muntah. Keracunan akut metil alkohol dalam makanan dapat menyebabkan kebutaan, kerusakan hati dan saraf dan menimbulkan kanker pada keturunan selanjutnya. Jadi kombinasi antara formaldehid dan metil alkohol dalam formalin sebenarnya mempunyai efek karsinogenik atau menimbulkan kanker secara ganda (Kirsilam, 2006).

Terpapar formaldehid kronik dosis sangat rendah menyebabkan perubahan dan kerusakan sistem imun dan sistem saraf seperti sakit kepala, kesehatan buruk, kerusakan genetik ireversibel, dan sejumlah masalah kesehatan serius lainnya (Amiruddin, 2006). Makanan berformalin akan beracun hanya jika di dalamnya mengandung sisa formaldehid bebas. Sisa formaldehid bebas (yang tidak bereaksi) hampir selalu ada dan sulit dikendalikan. Itulah sebabnya, formalin untuk pengawet makanan tidak dianjurkan karena sangat berisiko (Nurrachman, 2005).

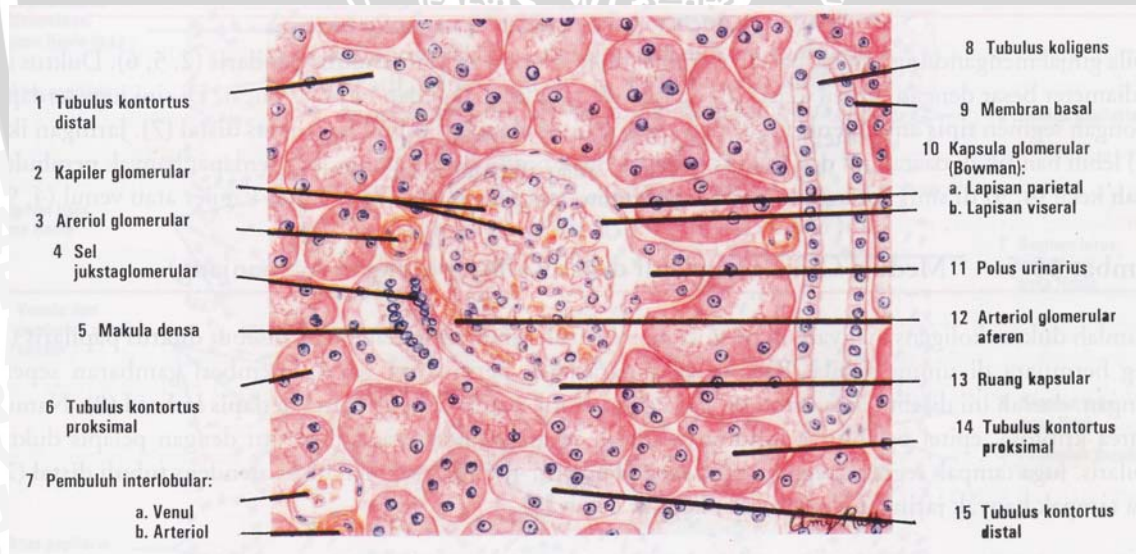
2.3 Ginjal

2.3.1 Anatomi Ginjal

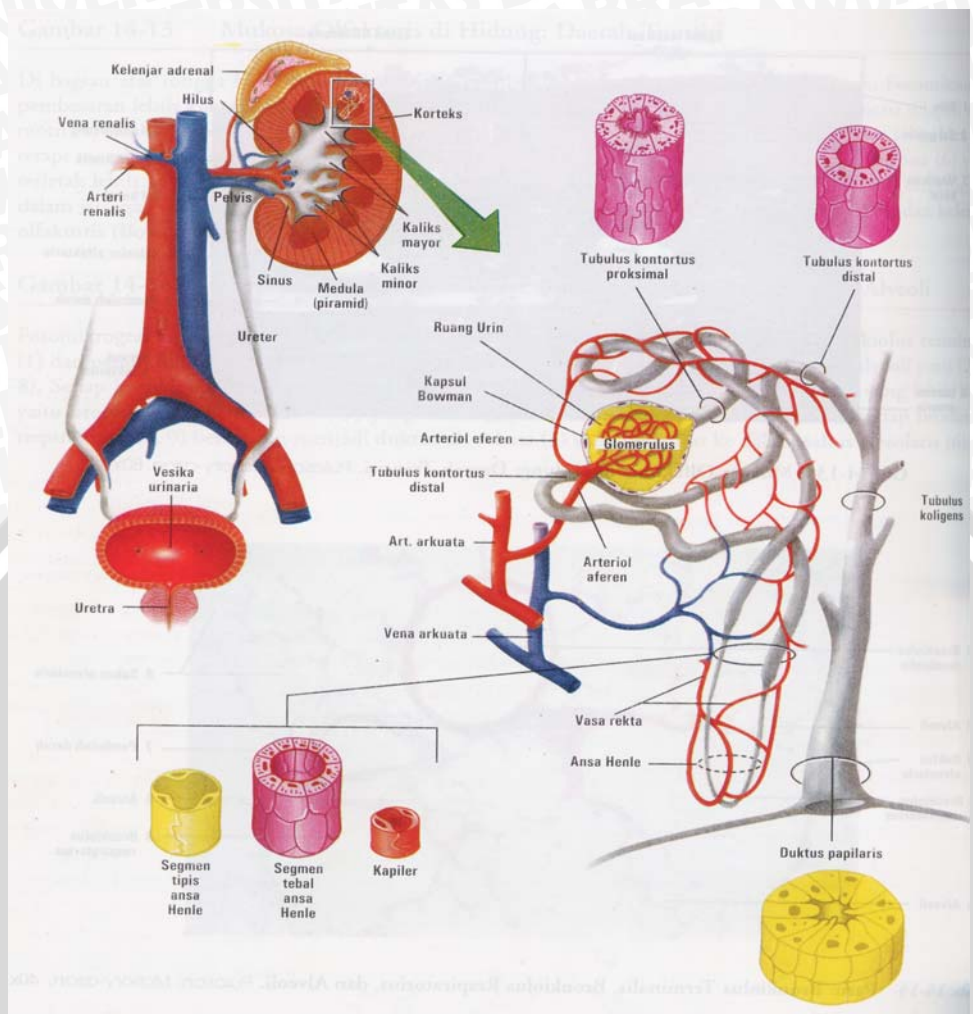
Sistim urinaria terdiri atas dua ginjal dan dua ureter yang menuju ke satu vesika urinaria tempat keluarnya uretra. Ginjal adalah organ penting berbentuk kacang yang letaknya retroperitoneal pada dinding posterior tubuh. Di atas setiap ginjal, terdapat kelenjar adrenal yang terbenam di dalam jaringan ikat ginjal. Tepi medial ginjal yang cekung adalah hilus yang terdiri atas tiga bangunan besar, yaitu arteri renalis, vena renalis dan pelvis renalis yang berbentuk corong. Irisan sagital ginjal menampilkan bagian korteks yang lebih gelap di bagian luar dan bagian medula yang lebih pucat di bagian dalam yang terdiri atas piramida renal berbentuk kerucut (Eroschenko, 2003).

Menurut Guyton dan Hall (1997), bahwa sebenarnya fungsi dari ginjal ada dua macam yaitu membuang bahan-bahan sampah dari hasil pencernaan atau yang diproduksi oleh metabolisme, dan fungsi kedua dari ginjal adalah mengontrol volume dan komposisi cairan tubuh.

Satuan fungsional ginjal adalah tubuli urineferus yang terdiri atas nefron. Di bagian korteks setiap ginjal, terdapat jutaan nefron. Nefron terdiri atas dua komponen yaitu korpuskulum renal dan tubuli renal. Korpuskul renal terdiri atas satu kelompok kapiler yang disebut disebut glomerulus yang dikelilingi dua lapis sel epitel yang disebut kapsul glomelular (kapsul bowman). Lapisan viseral pada kapsul ini terdiri atas sel-sel epitel khusus bercabang yang disebut podosit yang berdekatan dan membungkus kapiler glomerulus. Lapisan luar kapsul bowman adalah lapisan pariteal yang terdiri atas selapis sel epitel gepeng (Eroschenko, 2003).



Gambar 2. Sel sistim nefron (Eroschenko, 2003)



Gambar 3. Anatomi ginjal (Eroschenko, 2003)

2.3.2 Mekanisme Pembersihan Plasma Darah oleh Ginjal

Mekanisme ginjal untuk membersihkan plasma darah dari bahan toksik, sisa metabolisme dan benda asing adalah melalui proses filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi oleh tubulus dan sekresi oleh tubulus. Kotoran dari plasma darah yang telah mengalami filtrasi pada glomerulus akan menuju tubulus. Tubulus akan mereabsorpsi kembali bahan-bahan yang diperlukan oleh tubuh dan *unwanted substance* tidak akan direabsorpsi. Bahan-bahan yang tidak difiltrasi di glomerulus dan tidak diperlukan oleh

tubulus akan diekskresi oleh tubulus sebagai *urine* dengan jalan disekresi melalui sel epitel tubulus (Mas'ud, 1995).

Glomerulus merupakan bagian dari sistim nefron yang berbentuk kapiler dan dikelilingi oleh kapsul Bowman. Fungsi dari glomerulus adalah untuk memfiltrasi darah dari bahan-bahan yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh, hasil filtrasi akan dikeluarkan sebagai urin. Arteri yang terdapat pada ginjal mengalirkan darah ke glomerulus untuk difiltrasi. Glomerulus akan memfiltrasi 1/5 dari total plasma darah yang melewati kapiler-kapilernya. Hasil filtrasi dari glomerulus akan di buang melalui tubulus proksimal.

Tubulus merupakan bagian dari sistim nefron. Tubulus dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu tubulus proksimal, ansa henle dan tubulus distal. Tubulus proksimal merupakan tubulus yang langsung berhubungan dengan glomerulus. Filtrat hasil filtrasi glomerulus akan direabsorpsi kembali oleh tubulus proksimal. Tubulus proksimal akan mereabsorpsi kembali air, bahan organik (asam amino, glukosa, dan sebagainya), garam dan fosfat. Hasil dari reabsorpsi tubulus proksimal akan melewati ansa Henle. Air dan ion Na^+ akan direabsorpsi kembali oleh ansa Henle. Tubulus distal akan memproses hasil buangan dari ansa Henle. Tubulus distal bekerja berdasarkan hormon yang dikeluarkan oleh sistim endokrin. Tubulus distal akan merespon dengan mereabsorpsi Ca^+ dan mensekresikan fosfat jika sistim endokrin melepaskan hormon paratiroid. Tubulus distal akan merespon dengan mereabsorpsi Na^+ dan mensekresikan K^+ jika sistim endokrin mengeluarkan hormon aldosteron. Tubulus distal juga bertugas mengatur pH darah dengan mengatur sekresi amonium dan ion hidrogen. Hasil akhir dari tubulus distal dapat disebut sebagai urin dan selanjutnya akan dikeluarkan dari sistim nefron untuk ditampung di ureter (Wikipedia, 2007).

2.4 Kerusakan Ginjal

2.4.1 *Glomerularnephritis sclerosis*

Glomerulus merupakan bagian dari tubulus yang mengalami invaginasi. Proses invaginasi membentuk kapsul Bowman dan kapiler-kepiler di dalamnya. Kapsul Bowman dan kapiler-kepiler membentuk glomerulus yang berfungsi sebagai pembersih plasma darah. Glomerulus menyaring cairan dari plasma darah yang komposisinya hampir sama dengan plasma darah. Dilihat dari fungsinya, kerusakan pada glomerulus dapat mengakibatkan kegagalan faal ginjal yang dapat berakhir dengan kematian. Kerusakan yang terjadi pada glomerulus dapat menyebabkan peningkatan pelepasan protein dan kreatinin di dalam urin. Kreatinin yang dilepaskan di urin dapat digunakan sebagai parameter kerusakan pada glomerulus (Effendi *et al.*, 1981).

Kreatinin merupakan hasil akhir dari metabolisme kreatin. Kreatin merupakan molekul bernitrogen *non-protein* yang dibentuk dari tiga asam amino (arginin, lisin dan methionin). Kreatin berikatan dengan gugus fosfat membentuk kreatin fosfat di dalam otot. Kreatin fosfat dirubah menjadi energi tinggi dengan cepat untuk kontraksi otot (Farlex, 2008). Kreatinin dapat digunakan sebagai parameter terjadinya *glomerularnephritis* pada ginjal (Medline, 2007).

Glomerularnephritis merupakan salah satu kelainan fungsi nefron. *Glomerularnephritis* mempunyai beberapa macam kelainan yang dipandang dari sisi penyebabnya. *Glomerularnephritis sclerosis* adalah salah satu *glomerularnephritis* yang disebabkan oleh *ischemia* (Gallo *et al.*, 1980). Kelainan ini secara histologi ditandai oleh hilangnya sel-sel pembentuk glomerulus yang ditandai dengan pelebaran saluran kemih pada glomerulus. Hilangnya sel-sel pembentuk glomerulus biasanya diakibatkan oleh *ischemia*. Kelainan ini mengakibatkan protein dan zat lainnya (lemak, kreatinin

dan sebagainya) yang sebenarnya tersaring oleh kapiler glomerulus lolos keluar bersama dengan urin (Guo *et al.*, 2006).

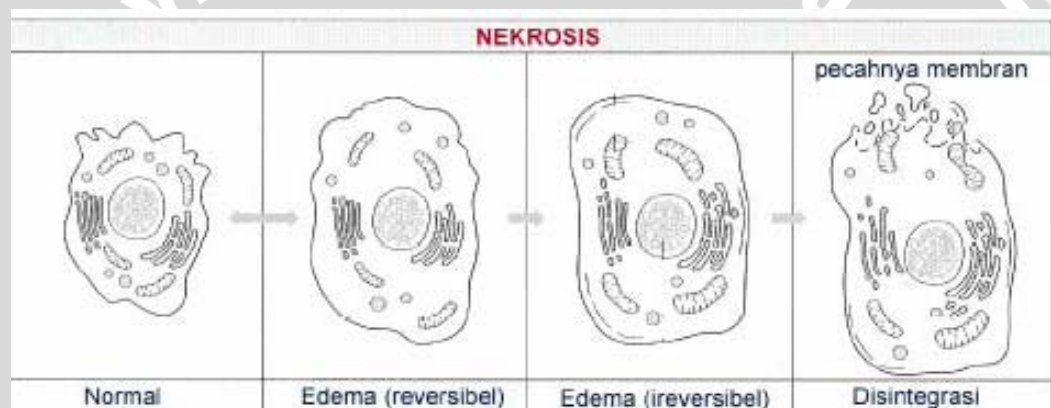
2.4.2 Acute Tubular Nekrosis (ATN)

Acute Tubular Necrosis (ATN) merupakan kelainan ginjal yang menyebabkan *acute renal failure* dan bersifat reversible. ATN biasanya dijumpai pada kasus keracunan dan *ischemia*. Pada kasus keracunan, kontak langsung pada sel-sel epitel tubulus dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel epitel tubulus. Kasus kedua terjadi akibat tubulus pada ginjal sangat peka terhadap *ischemia*, terutama tubulus proksimal. *Ischemia* yang terjadi dapat menyebabkan sel-sel tubulus proksimal rusak berat. Secara mikroskopik, ginjal yang mengalami ATN akan terjadi nekrosis pada sel-sel tubulusnya. Kelainan ini dapat sembuh apabila tingkat regenerasi sel lebih besar dibandingkan dengan nekrosis yang terjadi. Regenerasi sel yang terjadi terlihat adanya sel-sel pipih memanjang yang melebar (Effendi *et al.*, 1981).

2.4.3 Mekanisme Nekrosis

Nekrosis merupakan suatu proses kematian sel. Nekrosis dapat terjadi akibat sel yang keadaannya buruk atau terjadi perubahan pada lingkungan sekitar sel. Nekrosis dapat dipandang sebagai konsekuensi dari kejadian biologis yang mengarah pada kematian sel (Nanji dan Strumhofel, 1997). Nekrosis pada suatu sel merupakan suatu respon terhadap kerusakan yang parah dan biasanya diakibatkan oleh overdosis dari *cytotoxic* (zat kimia yang dapat membunuh sel). Hal ini telah diteliti dengan memberikan obat pada sel dengan dosis sedang, penelitian ini menghasilkan bahwa respon terhadap obat tersebut adalah terjadinya nekrosis (Studzinski, 1995).

Nekrosis yang terjadi akibat masuknya toksikan ke dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya depleksi ATP. Depleksi ATP merupakan perubahan mekanisme perubahan ATP menjadi energi secara aerobik menjadi anaerobik yang dikarenakan kurangnya suplai oksigen ke dalam sel (Nanji dan Strumhofel, 1997). Depleksi ATP dapat terjadi akibat *ischemia* (Baraas, 2006). *Ischemia* merupakan suatu fase kurangnya suplai oksigen ke dalam tubuh akibat terganggunya darah oleh suatu zat (Wikipedia^b, 2008). Depleksi ATP yang terjadi mengakibatkan turunnya pH pada sel dikarenakan peningkatan kadar asam laktat pada sel (Baraas, 2006).



Gambar 4. Mekanisme nekrosis (Baraas, 2006)

Ischemia dapat mengakibatkan keseimbangan ion di dalam sel terganggu. Ion K^+ intrasel dalam sel normal lebih tinggi di bandingkan ekstrasel dan sebaliknya ion Na^+ ekstrasel lebih tinggi dibandingkan dengan intrasel. Keseimbangan ion di dalam sel di kontrol oleh kanal NaK-ATP-ase yang terdapat dalam sel. Terjadinya *ischemia* mengakibatkan disfungsi kanal NaK-ATP-ase yang mengakibatkan keluarnya ion K^+ . Keluarnya ion K^+ mengakibatkan masuknya ion Na^+ dan air ke dalam sel. Sel yang sudah kehilangan kontrol terhadap keseimbangan ion akan mengembung. Penggembungan sel dilanjutkan dengan fase pecahnya sel yang mengarah pada kematian sel (nekrosis) (Baraas, 2006).

2.5 Tikus Mencit

Mencit termasuk familia *Muridae* dari kelompok mamalia (hewan menyusui).

Para ahli zoologi (ilmu hewan) sepakat untuk menggolongkannya ke dalam ordo Rodensia (hewan yang mengerat), subordo Myomorpha, famili Muridae, dan sub famili Murinae. Mencit dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Anonymous, 2005):

Dunia : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Mammalia
Subklas : Theria
Ordo : Rodentia
Sub ordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Sub famili : Murinae
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus*

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan dalam dunia kedokteran sebagai hewan uji. Mencit digunakan sebagai hewan uji dikarenakan mudah untuk dikembangbiakkan dan mempunyai tingkat kesamaan biologis mendekati manusia (Louisiana Veterinary Medical Association, 2000). Mencit yang digunakan sebagai hewan uji dipilih yang telah dewasa. Mencit yang telah dewasa mempunyai berat sekitar 20-40 g dimana mencit jantan akan terlihat lebih besar dibandingkan dengan mencit betina. Mencit betina mempunyai 5 pasang puting susu dan organ genital betina pada umumnya. Mencit jantan mempunyai organ genital jantan pada umumnya seperti penis yang menonjol (Besselsen, 2004).

3. METODOLOGI

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat pemeliharaan tikus mencit, seperangkat alat bedah, seperangkat alat untuk pewarnaan dan alat untuk mengamati jaringan ginjal mencit. Alat yang dipakai untuk memelihara tikus mencit adalah kandang tikus, tempat minum tikus dan suntikan untuk memberikan perlakuan kepada tikus mencit. Alat-alat yang digunakan untuk pewarnaan adalah cawan petri, pipet serologis, pinset, mikrotom, erlenmeyer, dan *beaker glass*. Alat untuk mengamati adalah mikroskop dan layar digital untuk memperjelas gambar sel.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), hewan percobaan yaitu mencit (*Mus musculus*) induk, formalin, larutan fiksatif, alkohol, xylol murni, parafin, dan zat warna *haemotoxylin-eosin*.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan memperbandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 1988).

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Sebagai ulangan adalah ulangan yang masing-masing terdiri dari 9 mencit. Analisa ragam yang dipakai adalah analisa menggunakan ANNOVA. Uji yang dilakukan apabila terdapat perbedaan adalah uji Duncan dan uji LSD. Uji LSD dilakukan untuk melihat beda antara perlakuan dengan kontrol. Perlakuan yang dicobakan adalah 0,2 ppm ikan; 0,2 ppm formalin; 0,2 ppm ikan berformalin, 0,5 ppm ikan; 0,5 ppm formalin; 0,5 ppm ikan berformalin serta tanpa perlakuan (Kontrol).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ikan nila dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm. Dibandingkan dengan kontrol negatif ikan dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, sedangkan sebagai kontrol positif formalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm serta kontrol nol. Variabel terikatnya adalah perubahan nekrosis sel ginjal induk mencit betina yang didukung uji formalin dalam serum darah meliputi uji kreatinin untuk melihat tingkat kerusakan glomerulus ginjal.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Preparasi Hewan Uji

Hewan uji yang dipakai adalah tikus mencit dewasa yang sebelumnya diaklimasi terlebih dahulu selama 1 minggu di laboratorium. Setelah melalui proses aklimasi selanjutnya mencit akan dipapar sesuai dengan perlakuan yang diberikan (pembuatan perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 1). Perlakuan yang diberikan kepada mencit adalah pemberian ikan berformalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, ikan dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, formalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm serta kontrol nol (tanpa perlakuan). Perlakuan diberikan secara oral saat pagi hari.

Besarnya dosis perlakuan yang diberikan terhadap mencit tergantung dari berat mencit tersebut (contoh perhitungan dosis yang diberikan kepada mencit dapat dilihat pada Lampiran 2). Perlakuan diberikan kepada mencit selama 1 bulan, dimana setiap harinya mencit diperlakukan sesuai dengan standar laboratorium.

3.4.2 Pembuatan Spesimen

Pembuatan spesimen merupakan proses persiapan dan pembentukan jaringan sebelum diwarnai. Pembuatan spesimen dilakukan dengan mengambil sampel mencit secara acak dan dibius. Mencit yang telah terbius selanjutnya dibedah dengan cepat dan diambil organ target (ginjal). Organ target selanjutnya difiksasi, fiksasi pada organ target bertujuan untuk mengawetkan organ target. Fiksasi organ target dilakukan dengan merendam organ target di dalam larutan fiksatif (bufer netral formalin pH 7, formalin 37-40% formaldehid 100 ml, Na_2PO_4 6.5 g, $\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ 4 g, aquades 900 mL) selama 1 jam. Ginjal sebagai organ target selanjutnya dipotong membujur.

Ginjal yang telah dipotong selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat (Alkohol 85% 1-2 jam, alkohol 96% 1-2 jam, alkohol 100% 2-3 jam) dan dijemihkan dengan campuran alkohol-xylol (Xylol: Alkohol 100% = 1:3 1jam, Xylol: Alkohol 100% + 2:2 1 jam, Xylol: Alkohol 100% 3:1 1 jam, Xylol murni I 1 jam, xylol murni II 1 jam). Sampel ginjal selanjutnya diinfiltrasi dengan parafin dan dibentuk blok untuk memudahkan pengirisan pada mikrotom. Infiltrasi dilakukan di dalam oven, dimana organ target direndam dengan larutan xylol-parafin (Xylol:parafin 1:1 (45-50°C) 1 jam, parafin I (65-70°C) 1 jam, parafin II (65-70°C) 1 jam). Tahap terakhir dari pembuatan spesimen adalah pemotongan dengan mikrotom. Skema kerja pembuatan spesimen dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.3 Prosedur Pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* (HE)

Perwarnaan dilakukan untuk mempermudah pengamatan di bawah mikroskop. Metode pewarnaan yang dipakai adalah metode *Haematoxylin-Eosin* (HE), dimana sel akan terlihat berwarna merah agar mudah dibedakan organel-organelnya apabila dilihat di bawah mikroskop. Tahap pertama dalam pewarnaan adalah deparafinasi menggunakan xylol (xylol I 2-5 menit, xylol II 2-5 menit) dan dilanjutkan dengan rehidrasi dengan menggunakan alkohol (alkohol absolut 1 menit, alkohol 95% 1 menit, alkohol 70% 1 menit, alkohol 50% 1 menit dan akuades 1 menit). Pemberian zat warna *Haematoxylin* dilakukan setelah rehidrasi. Tahap selanjutnya adalah dilakukan mordanting dan diferensiasi, dimana organ target dimasukkan dalam larutan LiCO_3 . Setelah tahap diferensiasi, dilakukan pewarnaan dengan zat warna *Eosin* yang digabung dengan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat. Tahap terakhir adalah perekatan sampel di atas *objek glass* dan dilakukan penutupan dengan *cover glass* (Skema kerja pewarnaan dapat dilihat pada Lampiran 4).

3.4.4 Prosedur Pengamatan

Pengamatan terhadap sel ginjal dilakukan dengan bantuan alat perbesaran (mikroskop). Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel mati dan total sel dari tubulus dan glomerulus ginjal. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 400X apabila bentuk sel telah terlihat jelas dan dapat dibedakan antara sel mati dan sel hidup, apabila kurang jelas maka digunakan perbesaran 1000X. Pengamatan dilakukan untuk setiap ulangan dengan jumlah total hitungan 1000 sel. Perhitungan per seribu sel dimaksudkan untuk menghomogenkan data dan untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

4. PEMBAHASAN

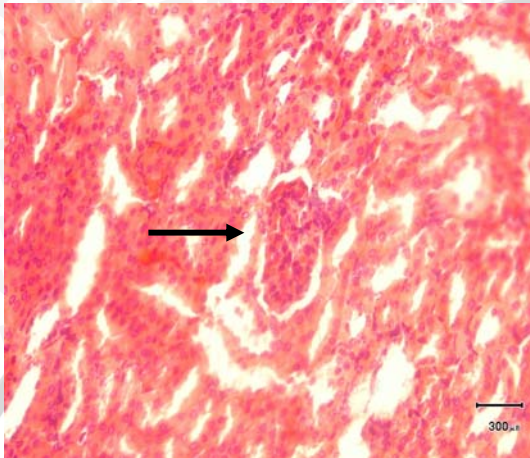
4.1 Analisa Glomerulus

Kapsul Bowman dan kapiler-kapiler membentuk glomerulus yang berfungsi sebagai pembersih plasma darah. Komposisi hasil saringan glomerulus berbeda dengan plasma darah hanya pada hasil saringan glomerulus tidak dijumpai jumlah protein yang besar seperti halnya plasma darah. Kerusakan yang terjadi pada glomerulus dapat menyebabkan peningkatan pelepasan protein dan kreatinin di dalam urin. Kreatinin yang dilepaskan di urin dapat digunakan sebagai parameter kerusakan pada glomerulus (Effendi *et al.*, 1981). Kreatinin merupakan hasil akhir dari metabolisme kreatin. Kreatin merupakan molekul bernitrogen *non-protein* yang dibentuk dari tiga asam amino (arginin, lisin dan methionin) (Farlex, 2008). Kisaran normal kreatinin pada menciit adalah 0.30-1.00 mg/dl (Kusumawati, 2004).

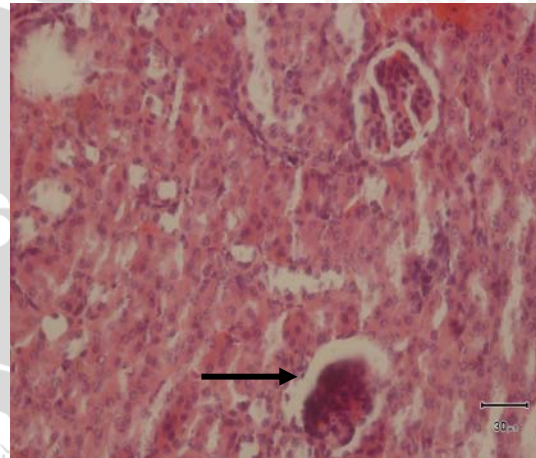
Pengamatan yang dilakukan terhadap kerusakan pada glomerulus akibat paparan ikan berformalin ditunjukkan oleh gambar 5 (tanda panah menunjukkan kerusakan glomerulus). Glomerulus yang rusak terlihat mengecil dan saluran kemihnya membesar, hal ini diakibatkan karena hilangnya sel-sel penyusun kapiler glomerulus. Sel penyusun kapiler glomerulus rentan rusak akibat *ischemia*. Rusaknya sel-sel penyusun kapiler glomerulus mengakibatkan lolosnya zat-zat yang masih diperlukan oleh tubuh seperti protein dan kreatinin. Kerusakan terhadap sel penyusun kapiler glomerulus mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis*.

Glomerulus normal ditunjukkan oleh gambar 5 (tanda panah menunjukkan glomerulus sehat). Glomerulus yang normal tidak terjadi pembesaran saluran kemih dan pengecilan kapiler glomerulus. Glomerulus yang normal terlihat dialiri oleh darah.

Gambar 6 menunjukkan kerusakan glomerulus yang ditandai oleh pelebaran saluran kemih. Menurut Gallo *et al.* (1980) kerusakan yang terjadi pada glomerulus ditandai dengan pelebaran saluran kemih mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis*.



Gambar 5. Glomerulus normal (*Haematoxylin-Eosin*, 400X)



Gambar 6. Pelebaran saluran kemih (*Haematoxylin-Eosin*, 400X)

Pengamatan terhadap kerusakan yang terjadi pada ginjal akibat perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada tabel 1. Pelebaran saluran kemih dan nekrosis tubulus mengindikasikan bahwa ginjal mencit rusak akibat paparan formalin. Pelebaran saluran kemih hanya terdapat pada perlakuan 0,5 ppm ikan, 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan berformalin, dan kontrol positif. Nekrosis tubulus terjadi pada semua perlakuan yang diberikan kepada mencit. Pendarahan dan infiltrasi limfosit tidak terjadi pada semua perlakuan yang diberikan kepada mencit. Tidak terjadinya pendarahan dan infiltrasi ginjal mencit mengindikasikan bahwa tingkat kerusakan belum parah. Infiltrasi limfosit merupakan peristiwa masuknya sel limfosit ke dalam jaringan sebagai respon terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Tabel 1. Kerusakan pada ginjal mencit

Perlakuan	Kerusakan			
	Infiltrasi limfosit	Pendarahan	Pelebaran saluran kemih	Nekrosis Tubulus
Kontrol	-	-	-	-
0,2 ppm ikan	-	-	+	-
0,5 ppm ikan	-	-	+	+
0,2 ppm ikan berformalin	-	-	+	+
0,5 ppm ikan berformalin	-	-	+	+
0,2 ppm formalin	-	-	+	+
0,5 ppm formalin	-	-	+	+

Keterangan. - : tidak terjadi, + : terjadi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh terhadap kerusakan glomerulus ginjal yang dilihat dari data uji kreatinin ($p < 0,05$).

Hasil analisa statistik lanjutan menggunakan uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan ikan berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan ginjal induk mencit. Hasil analisa menggunakan uji Duncan adalah untuk melihat pengaruh secara umum dampak dari perlakuan yang diberikan kepada mencit.

Uji LSD dilakukan untuk melihat pengaruh antara perlakuan dengan setiap kontrol yang diberikan kepada mencit. Uji LSD menghasilkan tabel perbandingan ganda kreatinin yang dapat digunakan untuk melihat perbandingan antara perlakuan dengan kontrol yang diberikan. Tabel perbandingan ganda kreatinin dapat dilihat pada Tabel 2. Tabel perbandingan berganda menunjukkan bahwa perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol positif (0,2 ppm formalin) dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol positif (0,5 ppm formalin) dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif (0,5 ppm ikan).

Tabel 2. Tabel Perbandingan Ganda Kreatinin

Perlakuan	Kontrol	P
0,2 ikan berformalin	kontrol	0,001 (*)
	0,2 ikan	0,072
	0,2 formalin	0,000 (*)
0,5 ikan berformalin	kontrol	0,000 (*)
	0,5 ikan	0,477
	0,5 formalin	0,000 (*)

(*) Berbeda nyata

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol mengindikasikan bahwa 0,2 ppm ikan berformalin mempengaruhi kerusakan ginjal mencit, khususnya pada glomerulus. Diduga formalin bebas yang terkandung dalam tubuh ikan berformalin membloking sistim kerja dari darah untuk mengangkut oksigen sehingga jaringan ginjal khususnya glomerulus yang rentan terhadap fase *ischaemia* (kurangnya jaringan karena suplai oksigen) rusak. Menurut Nurrachman (2005), makanan berformalin akan beracun hanya jika di dalamnya mengandung sisa formaldehid bebas.

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol positif (0,2 ppm formalin) mengindikasikan bahwa paparan formalin yang lebih tinggi dapat mempengaruhi kerusakan glomerulus ginjal mencit. Diduga perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin mengandung formalin bebas lebih rendah dibandingkan dengan 0,2 ppm formalin sebagai kontrol positif karena formalin yang diberikan kepada ikan bereaksi dan menurunkan kadar formalin bebasnya. Turunnya kadar formalin bebas pada perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin menyebabkan tingkat kerusakan yang tidak parah

dibandingkan dengan kontrol positif. Conaway *et al.* (1996) dalam Schulte *et al.*, (2006), menambahkan bahwa formalin mudah berikatan dengan protein, dimana ikatan antara protein dengan formalin tidak mudah putus dan bersifat *irreversible*.

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin tidak berpengaruh nyata terhadap kontrol negatif (0,2 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa di dalam tubuh ikan terdapat senyawa lain yang dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan glomerulus ginjal dan bersifat toksikan.

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol mengindikasikan bahwa 0,5 ppm ikan berformalin mempengaruhi kerusakan ginjal mencit, khususnya pada glomerulus. Diduga formalin bebas yang terkandung dalam tubuh ikan berformalin membloking sistim kerja dari darah untuk mengangkut oksigen sehingga jaringan ginjal khususnya glomerulus yang rentan terhadap fase *ischaemia* (kurangnya jaringan karena suplai oksigen) rusak. Menurut Nurrachman (2005), makanan berformalin akan beracun hanya jika di dalamnya mengandung sisa formaldehid bebas.

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol positif (0,5 ppm formalin) mengindikasikan bahwa paparan formalin yang lebih tinggi dapat mempengaruhi kerusakan glomerulus ginjal mencit. Diduga perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin mengandung formalin bebas lebih rendah dibandingkan dengan 0,5 ppm formalin sebagai kontrol positif karena formalin yang diberikan kepada ikan bereaksi dan menurunkan kadar formalin bebasnya. Turunnya kadar formalin bebas pada perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan tingkat kerusakan yang tidak parah dibandingkan dengan kontrol positif. Conaway *et al.* (1996) dalam Schulte *et al.*,

(2006), menambahkan bahwa formalin mudah berikatan dengan protein, dimana ikatan antara protein dengan formalin tidak mudah putus dan bersifat *irreversible*.

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin tidak berpengaruh nyata terhadap kontrol negatif (0,5 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa di dalam tubuh ikan terdapat senyawa lain yang dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan glomerulus ginjal dan bersifat toksikan.

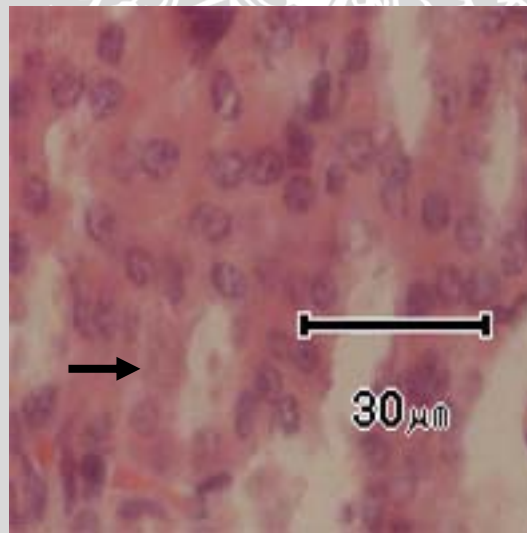
Data kreatinin menunjukkan beda nyata pada setiap perlakuan, tetapi kadar kreatinin yang diukur masih dalam batas ambang normal sesuai dengan standar kreatinin mencit menurut Kusumawati (2004). Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan bahwa terjadi kerusakan pada glomerulus ginjal sehingga kreatinin dapat lolos dari sistim filtrasi glomerulus. Kerusakan yang terjadi akibat paparan ikan berformalin dosis sangat rendah belum menunjukkan kerusakan yang parah pada glomerulus ginjal meski telah terjadi peningkatan kadar kreatinin.

4.2 Analisa Tubulus

Tubulus merupakan bagian dari sistim nefron yang bertugas untuk mereabsorpsi zat-zat yang masih diperlukan oleh tubuh dan mensekresi zat-zat yang sudah tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Tubulus mengandung banyak mitokondria karena tubulus bekerja untuk melakukan transport aktif (Wikipedia, 2007). Transport aktif memerlukan banyak energi sehingga keberadaan mitokondria pada tubulus sangat penting, mengingat bahwa tubulus bekerja untuk mengatur keseimbangan ion dalam tubuh (Mas'ud, 1995). Kerusakan pada mitokondria tubulus dapat mengakibatkan gangguan pada sistim keseimbangan ion tubuh. Menurut Baraas (2006), *ischemia* yang terjadi pada sel dapat merusak sistim kerja dari mitokondria.

Ischemia merupakan suatu fase kurangnya suplai oksigen ke dalam tubuh akibat terganggunya darah oleh suatu zat (Wikipedia, 2008^b). *Ischemia* dapat mengakibatkan deplesi ATP yang berarti mengganggu transport ion pada kanal ion membran sel. Rusaknya kanal ion membran sel dapat mengakibatkan sel tersebut nekrosis (Baraas, 2006). Kerusakan tubulus akibat nekrosis dinamakan *Acute Tubular Necrosis* (ATN) (Effendi *et al.*, 1981).

Gambar 7 menunjukkan terjadinya *Acute Tubular Necrosis* (ditunjukkan oleh tanda panah). *Acute Tubular Necrosis* ditandai dengan hilangnya inti sel dari badan sel. Hal ini diakibatkan oleh pecahnya sel yang mengakibatkan enzim autolisis yang terkandung dalam lisosom berhamburan keluar. Enzim autolisis yang keluar dari sel akan memecah organel-organel sel yang terdapat di dalam sel menjadi lebih sederhana.



Gambar 7. Nekrosis sel tubulus (*Haemotoxylin-Eosin*, 400X)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh terhadap nekrosis tubulus ginjal ($p < 0,05$).

Hasil analisa statistik lanjutan menggunakan uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan ikan berformalin 0,2 ppm tidak berbeda nyata terhadap kontrol dan perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol.

Uji LSD dilakukan untuk melihat pengaruh antara perlakuan dengan setiap kontrol yang diberikan kepada mencit. Uji LSD menghasilkan tabel perbandingan ganda nekrosis tubulus yang dapat digunakan untuk melihat perbandingan antara perlakuan dengan kontrol yang diberikan. Tabel perbandingan ganda nekrosis tubulus dapat dilihat pada Tabel 3. Tabel perbandingan berganda menunjukkan bahwa perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol positif (0,2 ppm ikan berformalin) dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol, kontrol negatif (0,5 ppm ikan) dan kontrol positif (0,5 ppm formalin).

Tabel 3. Tabel Perbandingan Ganda Nekrosis Tubulus

Perlakuan	Kontrol	P
0,2 ikan berformalin	kontrol	0,083
	0,2 ikan	0,410
	0,2 formalin	0,000 (*)
0,5 ikan berformalin	kontrol	0,001 (*)
	0,5 ikan	0,013 (*)
	0,5 formalin	0,001 (*)

(*) Berbeda nyata

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin tidak berpengaruh nyata terhadap kontrol dan kontrol negatif (0,2 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa 0,2 ppm ikan berformalin tidak berpengaruh nyata terhadap kerusakan yang terjadi pada tubulus

ginjal menciit. Menurut Effendi *et al.* (1981) tubulus ginjal menciit sangat rentan terhadap fase *ischaemia*, dimana formalin bebas dapat mengakibatkan fase *ischaemia* apabila masuk ke dalam tubuh. Formalin bebas dapat membloking sistim kerja dari darah untuk mensuplai oksigen ke jaringan dan menyebabkan se-sel darah merah menjadi *immatur* (berkurangnya kemampuan darah untuk mengangkut oksigen).

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol positif (0,2 ppm formalin). Diduga pemberian formalin ke tubuh ikan menyebabkan terjadinya ikatan antara formalin dengan protein tubuh ikan, sehingga formalin bebas yang terkandung di dalam perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (0,2 ppm formalin).

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol negatif (0,5 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa 0,5 ppm ikan berformalin berpengaruh terhadap kerusakan tubulus ginjal. Diduga perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan fase *ischaemia* sehingga tubulus ginjal mengalami nekrosis.

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol positif (0,5 ppm formalin), mengindikasikan bahwa paparan formalin yang lebih tinggi dapat mempengaruhi kerusakan glomerulus ginjal menciit. Diduga perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin mengandung formalin bebas lebih rendah dibandingkan dengan 0,5 ppm formalin sebagai kontrol positif karena formalin yang diberikan kepada ikan bereaksi dan menurunkan kadar formalin bebasnya. Turunnya kadar formalin bebas pada perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan tingkat kerusakan yang tidak parah dibandingkan dengan kontrol positif. Conaway *et al.* (1996) dalam Schulte *et al.*, (2006), menambahkan bahwa formalin mudah berikatan dengan protein, dimana ikatan antara protein dengan formalin tidak mudah putus dan bersifat *irreversible*.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

- Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan ginjal induk mencit (*Mus musculus*).
- Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan glomerulus ginjal induk mencit (*Mus musculus*).
- Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm tidak berpengaruh terhadap kerusakan tubulus ginjal induk mencit (*Mus musculus*).
- Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan tubulus ginjal induk mencit (*Mus musculus*).
- Kerusakan yang terjadi pada glomerulus mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis*.
- Kerusakan yang terjadi pada tubulus mengarah pada *acute tubular necrosis*.

5.2 Saran

Saran dari penelitian yang telah dilakukan adalah perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa lain (logam berat) yang terkandung dalam tubuh ikan selain formalin yang dapat mempengaruhi tingkat nekrosis ginjal tubuh mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. Pedoman Pengendalian Tikus Khusus di Rumah Sakit. www.depkes.go.id/. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Anonymous. 2007. Detoksifikasi? Colon Cleansing. <http://detokshop.wordpress.com/>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Amiruddin, M. D. 2006. Formalin dalam Makanan. <http://www.freelists.org/>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Baraas, Faisal. Apoptosis Charming to Death. <http://www.dietary.go.id/>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Besselsen, D.G. 2004. Biology of Laboratory Rodents. www.uac.arizona.edu. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Effendi, H., Jazir, J., Lubis, H. R., Hoesodowidjojo, S. 1981. Fisiologi dan Pathofisiologi Ginjal. IKAPI. Bandung.
- Eroschenko, V. P. 2003. Atlas Histolgi. Universitas Pelita Harapan. Jakarta.
- Farlex. 2008. Creatinine. <http://acronyms.thefreedictionary.com/Creatinine>. Diakses tanggal 10 Juni 2008 pukul 04.30 WIB.
- Fischer. 2008. The Toxic Effect of Formaldehyde and Formaline. www.medline.org. Diakses tanggal 10 Agustus 2007 pukul 04.30 WIB.
- Gallo, G.R., Fienner, H.D., Gluck, M.C., Baldwin, G.S. 1980. Role of intrarenal vascular sclerosis in progression of poststreptococcal glomerulonephritis. www.ncbi.nlm.nih.gov. Diakses tanggal 10 Januari 2007 pukul 04.30 WIB.
- Guyton, A. C. dan Hall J. E. 1997. Fisiologi Kedokteran. Universitas Pelita Harapan. Jakarta.
- Guo, J.K., Schedl, A., Krause S.D. 2006. Bone Marrow Transplantation Can Attenuate the Progression of Mesangial Sclerosis. <http://stemcells.alphamedpress.org>. Diakses tanggal 13 Juli 2008 pukul 04.30 WIB.
- Hadiwiyoto, S. 1993. Teknologi Hasil Pengolahan Perikanan. Jilid I. Liberty. Yogyakarta.
- Hole, J.F. 1993. Human Anatomy. Oxford Press. London.

- Inchem. 1989. Formaldehyde. <http://www.inchem.org/>. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Kapanlagi. 2007. Indonesia Negara Maritim Rendah Konsumsi Ikan. www.kapanlagi.com. Diakses tanggal 13 Mei 2008 pukul 04.30 WIB.
- Kiernan, J.A. 2004. Effect of Formaldehyde in Fixation. www.shoun.laboratory.co.id. Diakses tanggal 28 Agustus 2007 pukul 04.30 WIB.
- Kirslam. 2006. Bahaya Formalin dalam Makanan. <http://www2.rnw.nl/>. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04,30 WIB.
- Kurniawan, Bagus. 2006. Yoga Aman Formalin 12 Orang Diproses Hukum. www.detiknet.com. Diakses tanggal 13 Mei 2008 pukul 04.30 WIB.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Louisiana Veterinary Medical Association. 2000. Biology of The Mouse. www.lvma.org. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Mas'ud, Ibnu. 1984. pengantar Belajar Dasar-Dasar Ilmu Faal Ginjal. Universitas Brawijaya. Malang.
- Medline. 2007. Creatinine-Urine. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/>. Diakses tanggal 10 Juni 2008 pukul 04.30 WIB.
- Nanji, A. A. dan Sturmhofel Susane Hiller. 1997. Apoptosis and Necrosis. <http://www.iarc.fr/>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Nurachman, Z. 2005. Formalin. www.tonangardyanto.com/. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Prihatman, Kemal. 2000. Budidaya Ikan Nila (Oreochromis Niloticus). digilib.brawijaya.ac.id/. Diakses tanggal 13 Mei 2008 pukul 05.00 WIB.
- Rustidja. 1996. Maskilinitasi Ikan Nila. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Schulte, Herausgegeben von A., Madle, U.B.S., Mielke , H., Herbst, U., H.-B. Richter-Reichhelm, Appel , K.E., U. Gundert-Remy. Assessment of the Carcinogenicity of Formaldehyde [CAS No. 50-00-0]. <http://www.bfr.bund.de/>. Diakses tanggal 12 Januari 2008 pukul 20.00 WIB.
- Studzinski, G.P. 1995. Cell Growth and Apoptosis. New Jersey Medical School. New Jersey.

Suryabrata, Sumadi. 1988. Metodologi Penelitian. CV. Rajawali. Jakarta

WHO. 2001. Formaldehyde. <http://www.iacc.org/>. Diakses tanggal 12 Januari 2008 pukul 20.00 WIB.

Wikipedia. 2006. Formaldehyde. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.

_____. 2007. Nephron. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.

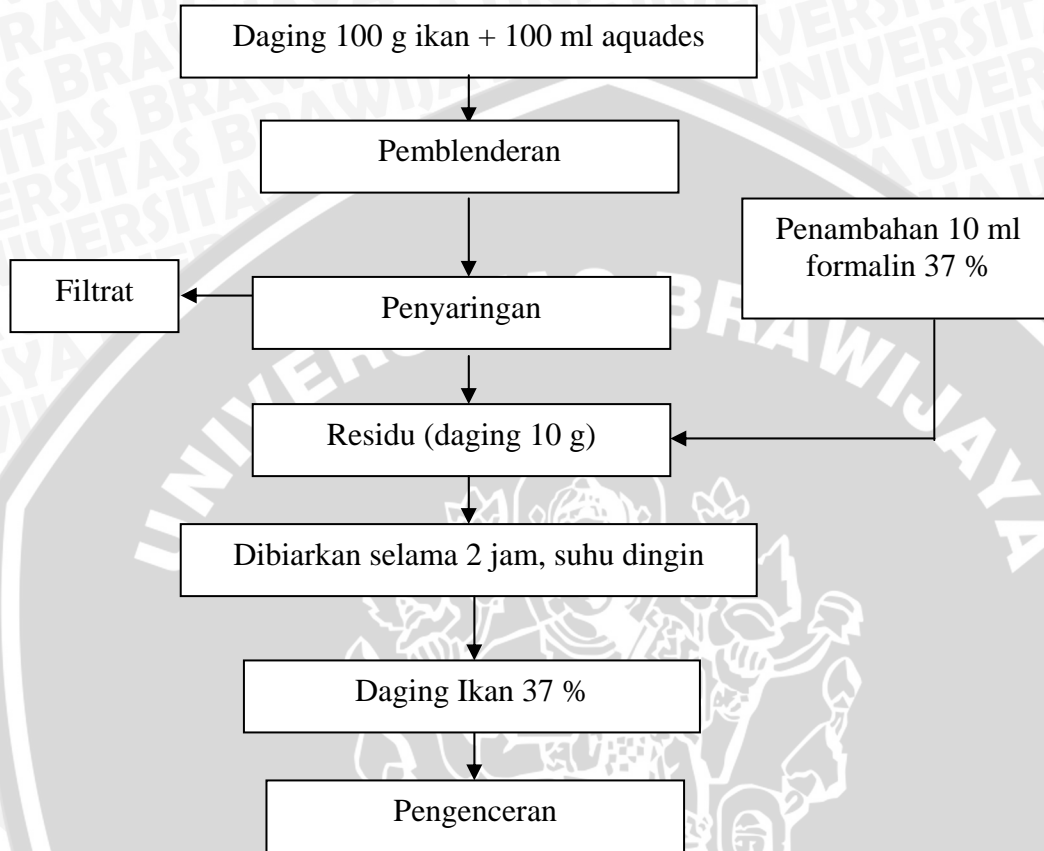
_____.^a 2008. Glomerulonephritis. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.

_____.^b 2008. Ischemic Heart Disease. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.

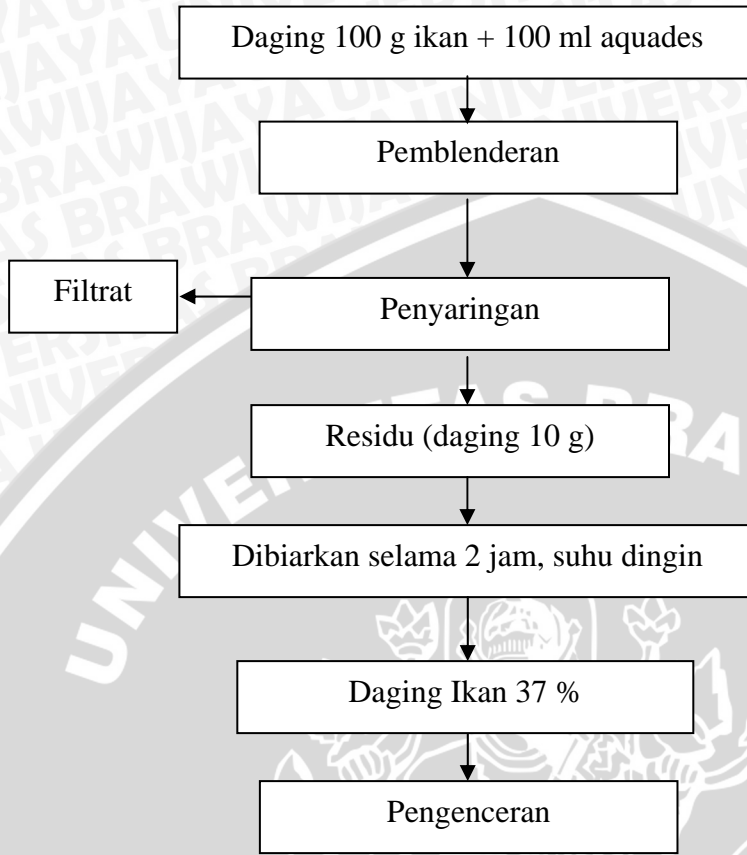


Lampiran 1. Pembuatan perlakuan menciit

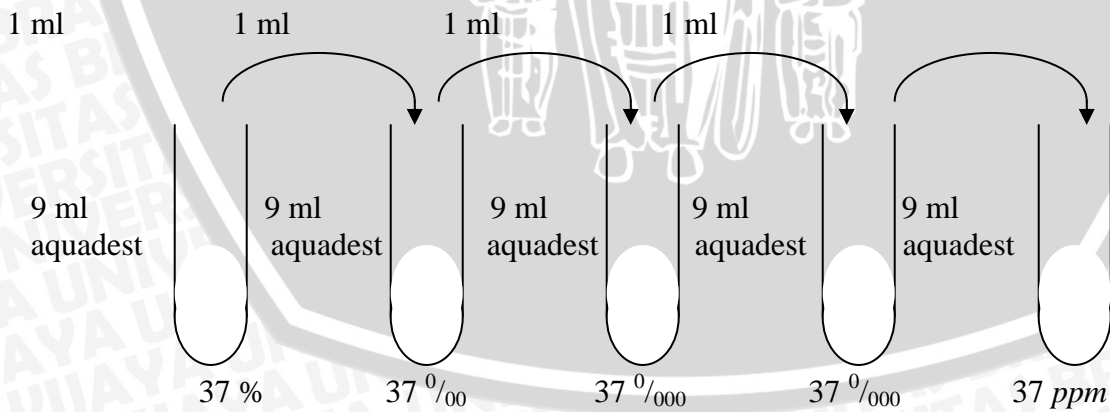
Skema pembuatan ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm



Skema pembuatan ikan 0,2 ppm dan 0,5 ppm



Skema pengenceran dan pembuatan formalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm



Setelah dilakukan pengenceran, untuk mencapai kadar yang ditentukan maka dicari dengan rumus $V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$. Rincian dari rumus tersebut adalah sebagai berikut:

V_1 adalah volume awal larutan yang dicari

K_1 adalah konsentrasi larutan setelah diencerkan

V_2 adalah volume akhir larutan yang dikehendaki

K_2 adalah konsentrasi larutan yang dikehendaki

Contoh pembuatan 0,2 ppm Ikan Berformalin

Diketahui volume akhir ikan berformalin dengan konsentrasi 0,2 ppm yang diperlukan adalah 200 ml, konsentrasi awal yang didapatkan setelah pengenceran adalah sebesar 37 ppm, maka perhitungan besarnya volume awal yang akan diencerkan adalah sebagai berikut:

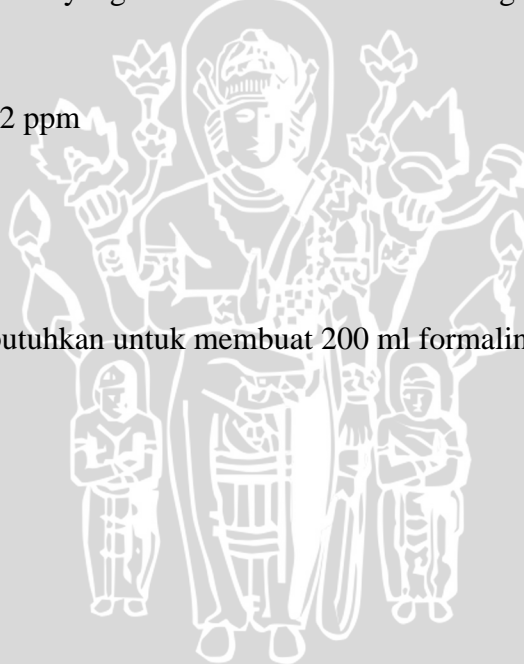
$$V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$$

$$V_1 \times 37 \text{ ppm} = 200 \text{ ml} \times 0,2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{200 \text{ ml} \times 0,2 \text{ ppm}}{37 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,081 \text{ ml}$$

Jadi volume formalin yang dibutuhkan untuk membuat 200 ml formalin 0,2 ppm yaitu sebesar 1,081 ml.



Lampiran 2. Perhitungan dosis yang diberikan kepada mencit

- Contoh penentuan volume cekok 0,5 ppm pada mencit dengan berat 20 gr.

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

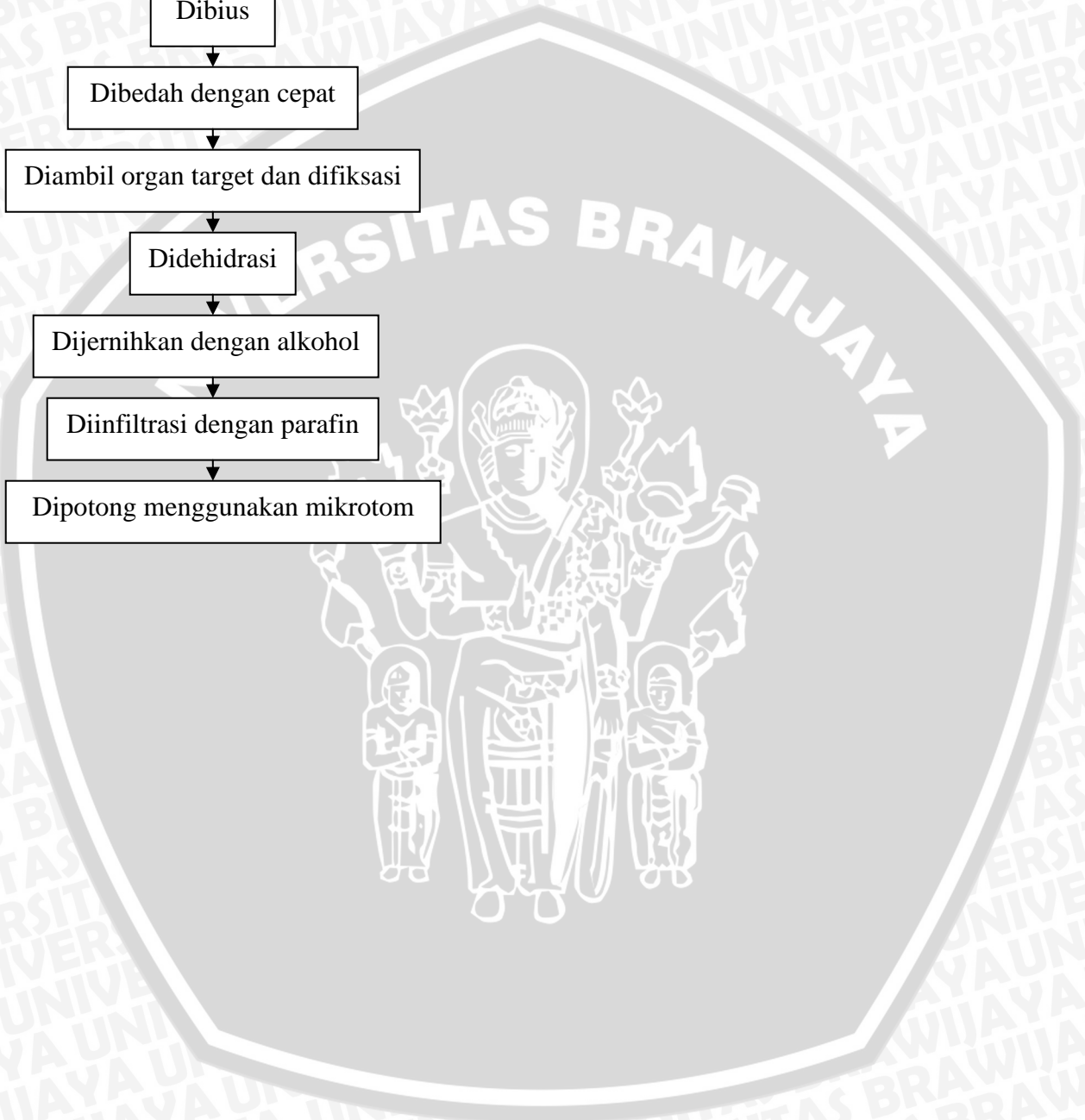
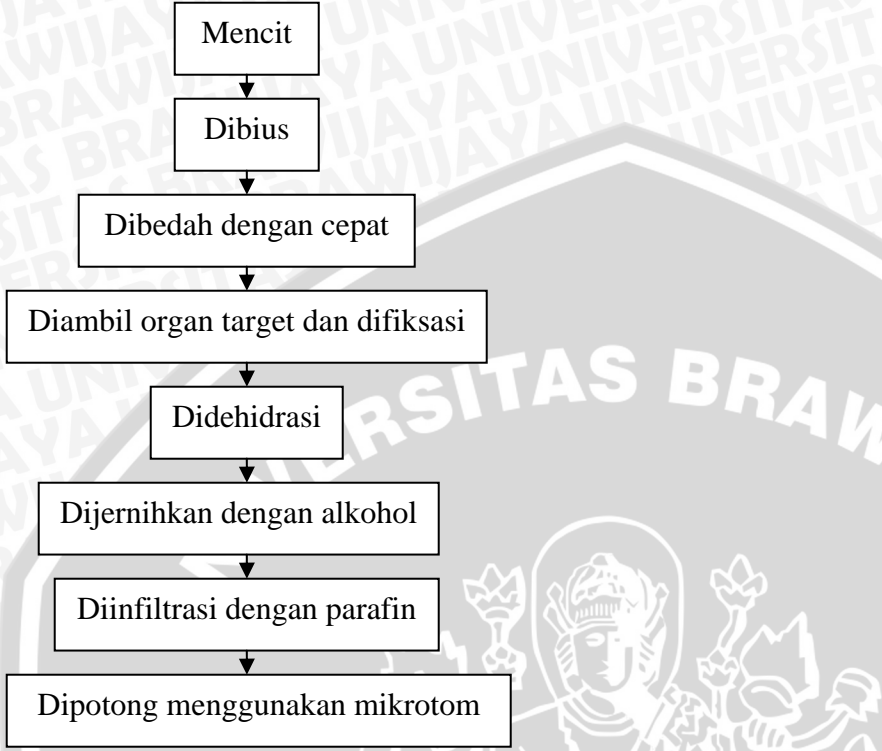
$$\begin{aligned} 20\text{gr mencit} &\longrightarrow = \frac{20\text{gr}}{1000\text{gr}} \times 0.0005\text{gr} \\ &= 1 \times 10^{-5}\text{g/kg} \\ &= 1 \times 10^{-2}\text{mg/kg} \end{aligned}$$

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.

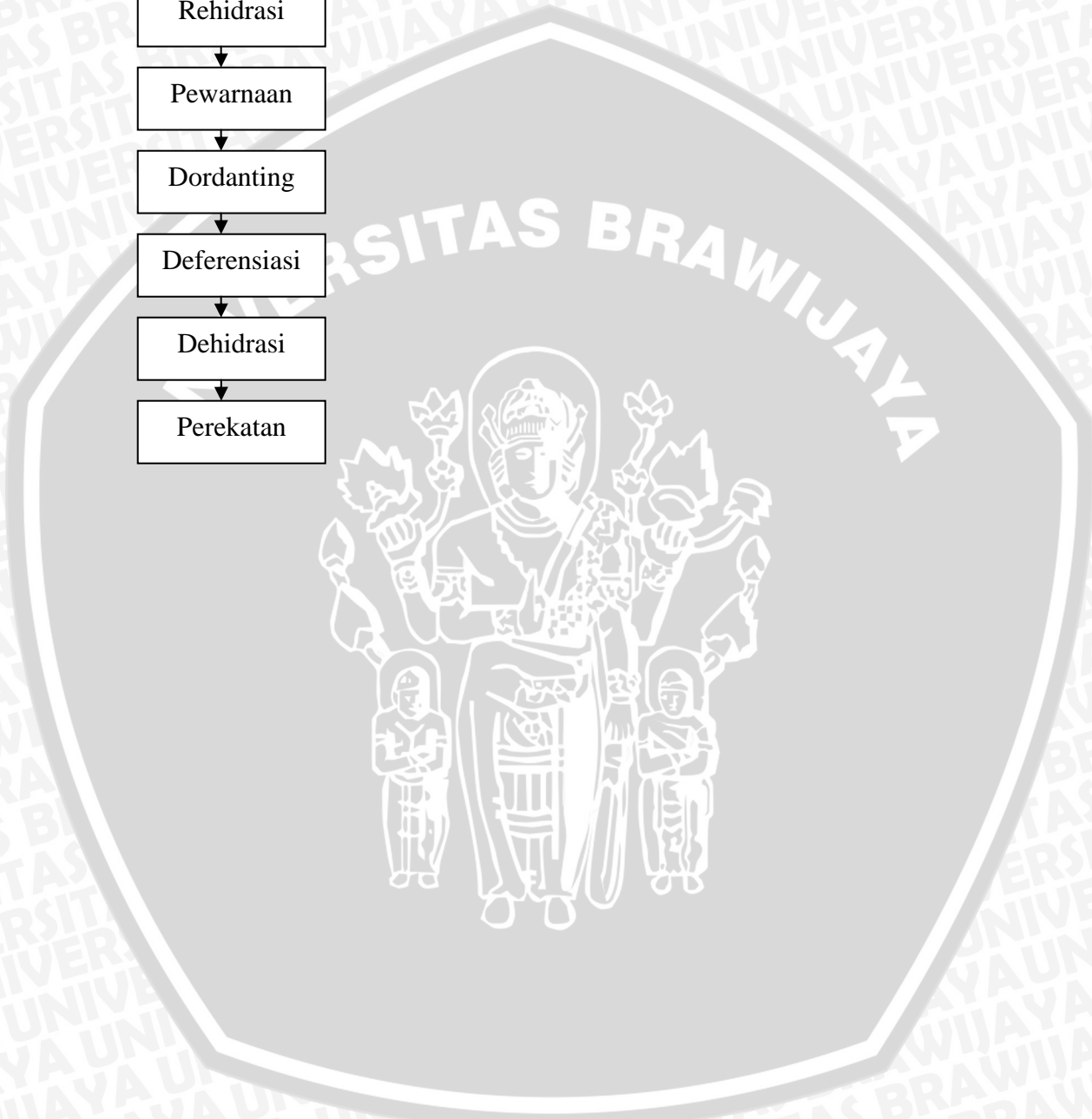
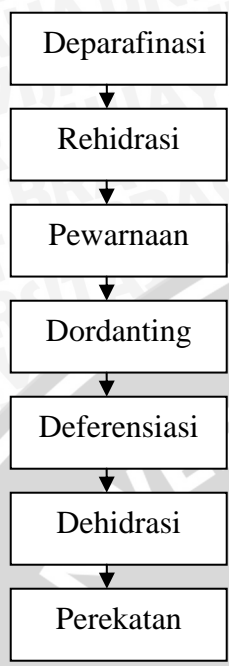
Volume cekok yang diberikan untuk berat mencit yang lain menggunakan rumus :

$$= \frac{\text{berat badan mencit} \times 0.01}{\text{berat rata-rata mencit} (20\text{gr})}$$

Lampiran 3. Skema pembuatan spesimen



Lampiran 4. Skema pewarnaan *Haematoxylin-Eosin (HE)*



Lampiran 5. Analisa Statistik Kreatinin

Uji Kreatinin

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
kontrol	0,23	0,22	0,23
0,2 ikan	0,27	0,25	0,25
0,5 ikan	0,28	0,28	0,28
0,2 ikan berformalin	0,30	0,27	0,28
0,5 ikan berformalin	0,30	0,28	0,29
0,2 formalin	0,38	0,43	0,44
0,5 formalin	0,41	0,44	0,45

ANOVA

KREATININ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.115	6	.019	68.249	.000
Within Groups	.004	14	.000		
Total	.119	20			

KREATIN (Duncan)

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kontrol	3	.2267			
0,2 ikan	3		.2567		
0,5 ikan	3		.2800	.2800	
0,2 ikan berformalin	3		.2833	.2833	
0,5 ikan berformalin	3			.2900	
0,2 formalin	3				.4167
0,5 formalin	3				.4333
Sig.		1.000	.085	.500	.243

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Multiple Comparisons (LSD)

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	0,2 ikan	-,0300(*)	,01369	,046	-,0594	-,0006
	0,2 formalin	-,1900(*)	,01369	,000	-,2194	-,1606
	0,2 ikan berformalin	-,0567(*)	,01369	,001	-,0860	-,0273
	0,5 ikan	-,0533(*)	,01369	,002	-,0827	-,0240
	0,5 formalin	-,2067(*)	,01369	,000	-,2360	-,1773
	0,5 ikan berformalin	-,0633(*)	,01369	,000	-,0927	-,0340
0,2 ikan	kontrol	,0300(*)	,01369	,046	,0006	,0594
	0,2 formalin	-,1600(*)	,01369	,000	-,1894	-,1306
	0,2 ikan berformalin	-,0267	,01369	,072	-,0560	,0027
	0,5 ikan	-,0233	,01369	,110	-,0527	,0060
	0,5 formalin	-,1767(*)	,01369	,000	-,2060	-,1473
	0,5 ikan berformalin	-,0333(*)	,01369	,029	-,0627	-,0040
0,2 formalin	kontrol	,1900(*)	,01369	,000	,1606	,2194
	0,2 ikan	,1600(*)	,01369	,000	,1306	,1894
	0,2 ikan berformalin	,1333(*)	,01369	,000	,1040	,1627
	0,5 ikan	,1367(*)	,01369	,000	,1073	,1660
	0,5 formalin	-,0167	,01369	,243	-,0460	,0127
	0,5 ikan berformalin	,1267(*)	,01369	,000	,0973	,1560
0,2 ikan berformalin	kontrol	,0567(*)	,01369	,001	,0273	,0860
	0,2 ikan	,0267	,01369	,072	-,0027	,0560
	0,2 formalin	-,1333(*)	,01369	,000	-,1627	-,1040
	0,5 ikan	,0033	,01369	,811	-,0260	,0327
	0,5 formalin	-,1500(*)	,01369	,000	-,1794	-,1206
	0,5 ikan berformalin	-,0067	,01369	,634	-,0360	,0227
0,5 ikan	kontrol	,0533(*)	,01369	,002	,0240	,0827
	0,2 ikan	,0233	,01369	,110	-,0060	,0527
	0,2 formalin	-,1367(*)	,01369	,000	-,1660	-,1073
	0,2 ikan berformalin	-,0033	,01369	,811	-,0327	,0260
	0,5 formalin	-,1533(*)	,01369	,000	-,1827	-,1240
	0,5 ikan berformalin	-,0100	,01369	,477	-,0394	,0194
0,5 formalin	kontrol	,2067(*)	,01369	,000	,1773	,2360
	0,2 ikan	,1767(*)	,01369	,000	,1473	,2060
	0,2 formalin	,0167	,01369	,243	-,0127	,0460
	0,2 ikan berformalin	,1500(*)	,01369	,000	,1206	,1794
	0,5 ikan	,1533(*)	,01369	,000	,1240	,1827
	0,5 ikan berformalin	,1433(*)	,01369	,000	,1140	,1727
0,5 ikan berformalin	kontrol	,0633(*)	,01369	,000	,0340	,0927
	0,2 ikan	,0333(*)	,01369	,029	,0040	,0627
	0,2 formalin	-,1267(*)	,01369	,000	-,1560	-,0973
	0,2 ikan berformalin	,0067	,01369	,634	-,0227	,0360
	0,5 ikan	,0100	,01369	,477	-,0194	,0394
	0,5 formalin	-,1433(*)	,01369	,000	-,1727	-,1140

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 6. Analisa Statistik Nekrosis Tubulus

Nekrosis Tubulus

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
kontrol	0,00	0,00	0,50
0,2 ikan	1,37	0,93	1,22
0,5 ikan	1,85	0,92	1,17
0,2 ikan berformalin	1,85	2,23	1,96
0,5 ikan berformalin	3,80	4,62	4,01
0,2 formalin	8,68	4,18	6,55
0,5 formalin	10,48	6,42	7,25

ANOVA

NEKROSIS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	159.774	6	26.629	18.181	.000
Within Groups	20.506	14	1.465		
Total	180.279	20			

NEKROSIS (Duncan)

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
kontrol	3	.1667		
0,2 ikan	3	1.1733		
0,5 ikan	3	1.3133		
0,2 ikan berformalin	3	2.0133		
0,5 ikan berformalin	3		4.1433	
0,2 formalin	3			6.4700
0,5 formalin	3			8.0500
Sig.		.106	1.000	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Multiple Comparisons (LSD)

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	0,2 ikan	-1,0067	,98816	,326	-3,1261	1,1127
	0,2 formalin	-6,3033(*)	,98816	,000	-8,4227	-4,1839
	0,2 ikan berformalin	-1,8467	,98816	,083	-3,9661	,2727
	0,5 ikan	-1,1467	,98816	,265	-3,2661	,9727
	0,5 formalin	-7,8833(*)	,98816	,000	-10,0027	-5,7639
	0,5 ikan berformalin	-3,9767(*)	,98816	,001	-6,0961	-1,8573
0,2 ikan	kontrol	1,0067	,98816	,326	-1,1127	3,1261
	0,2 formalin	-5,2967(*)	,98816	,000	-7,4161	-3,1773
	0,2 ikan berformalin	-,8400	,98816	,410	-2,9594	1,2794
	0,5 ikan	-,1400	,98816	,889	-2,2594	1,9794
	0,5 formalin	-6,8767(*)	,98816	,000	-8,9961	-4,7573
	0,5 ikan berformalin	-2,9700(*)	,98816	,009	-5,0894	-,8506
0,2 formalin	kontrol	6,3033(*)	,98816	,000	4,1839	8,4227
	0,2 ikan	5,2967(*)	,98816	,000	3,1773	7,4161
	0,2 ikan berformalin	4,4567(*)	,98816	,000	2,3373	6,5761
	0,5 ikan	5,1567(*)	,98816	,000	3,0373	7,2761
	0,5 formalin	-1,5800	,98816	,132	-3,6994	,5394
	0,5 ikan berformalin	2,3267(*)	,98816	,034	,2073	4,4461
0,2 ikan berformalin	kontrol	1,8467	,98816	,083	-,2727	3,9661
	0,2 ikan	,8400	,98816	,410	-1,2794	2,9594
	0,2 formalin	-4,4567(*)	,98816	,000	-6,5761	-2,3373
	0,5 ikan	,7000	,98816	,490	-1,4194	2,8194
	0,5 formalin	-6,0367(*)	,98816	,000	-8,1561	-3,9173
	0,5 ikan berformalin	-2,1300(*)	,98816	,049	-4,2494	-,0106
0,5 ikan	kontrol	1,1467	,98816	,265	-,9727	3,2661
	0,2 ikan	,1400	,98816	,889	-1,9794	2,2594
	0,2 formalin	-5,1567(*)	,98816	,000	-7,2761	-3,0373
	0,2 ikan berformalin	-,7000	,98816	,490	-2,8194	1,4194
	0,5 formalin	-6,7367(*)	,98816	,000	-8,8561	-4,6173
	0,5 ikan berformalin	-2,8300(*)	,98816	,013	-4,9494	-,7106
0,5 formalin	kontrol	7,8833(*)	,98816	,000	5,7639	10,0027
	0,2 ikan	6,8767(*)	,98816	,000	4,7573	8,9961
	0,2 formalin	1,5800	,98816	,132	-,5394	3,6994
	0,2 ikan berformalin	6,0367(*)	,98816	,000	3,9173	8,1561
	0,5 ikan	6,7367(*)	,98816	,000	4,6173	8,8561
	0,5 ikan berformalin	3,9067(*)	,98816	,001	1,7873	6,0261
0,5 ikan berformalin	kontrol	3,9767(*)	,98816	,001	1,8573	6,0961
	0,2 ikan	2,9700(*)	,98816	,009	,8506	5,0894
	0,2 formalin	-2,3267(*)	,98816	,034	-4,4461	-,2073
	0,2 ikan berformalin	2,1300(*)	,98816	,049	,0106	4,2494
	0,5 ikan	2,8300(*)	,98816	,013	,7106	4,9494
	0,5 formalin	-3,9067(*)	,98816	,001	-6,0261	-1,7873

* The mean difference is significant at the .05 level.