KATA PENGANTAR

ALHAMDULILLAH, segala puji bagi ALLAH SWT atas segala nikmat yang diberikan kepada penulis hingga saat ini terutama sampai selesainya penulisan laporan skripsi ini. Tak lupa shalawat salam kita panjatkan kepada nabi Muhammad SAW atas segala suritauladhan yang telah diberikan.

Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan pada Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Adapun tema penelitian yang dibahas dalam laporan ini ialah tingkat toksisitas ikan nila berformalin 10%, bagaimana jalur paparan dan efeknya.

Atas terselesaikannya laporan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua Orang tua saya, kakak, dan semua keluarga.
2. Ir. Hartati Kartika Ningsih, MS selaku Pembimbing I
3. Ir. Dwi Setijawati, MKes selaku Pembimbing II
4. Kawan-kawan dan Semua pihak yang telah memberikan dorongan semangat dan bantuan lainnya kepada penulis sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan sebagaimana mestinya.

Akhirnya penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat membawa kemanfaatan bagi kemajuan ilmu pengetahuan sehingga memberikan keberkahan bagi kita semua. **Amin**.

Malang, Agustus 2007

Penulis

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Efek Formalin pada manusia (lewat udara)	20
2.	Data Biologi Mencit	24
3.	Data Hematologi Mencit	26
4.	Komposisi Kimia Ikan Nila per 100 gram Bahan	28
5.	Komposisi asam amino ikan	29
6.	Contoh perhitungan analisa probit	38
7.	Perubahan Presentasi ke Probit	39
8.	Prosentase kematian mencit	41
9.	Klasifikasi zat kimia sesuai dengan tonisitasnya	43
10.	Konversi Perhitungan Dosis untuk Beberapa Jenis Hewan dan Manusia.....	51
11.	Berat Organ (hati dan ginjal) mencit	55
12.	Hasil analisa SGOT dan SGPT	57
13	Hasil analisa kadar kreatinin dalam serum darah	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Prosedur Pembuatan Sediaan Larutan Formalin dan Ikan Nila Berformalin 10% 64
2. Prosedur Pemberian Ikan Nila Berformalin 10% 65
3. Prosedur Pembedahan, Pengambilan Darah dan Organ 66
4. Prosedur Pengujian SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase) dan SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase) Metode Kolorimetri Reitman dan Frankel 67
5. Prosedur Pengujian Kreatinin dalam Darah Metode Jaffe 71
6. Volume Cekok Mencit Tiap Dosis 72
7. Data Pengamatan Berat Badan Mencit Selama 14 Hari 73

RIGKASAN

M. JAHUJURI. Kajian LD_{50} Ikan Nila (*Tilapia nilotikus)* Berformalin 10% dengan Menggunakan Hewan Percobaan Mencit (*Mus musculus)*. Di bawah bimbingan Ir. HARTATIK KARTIKA NINGSIH MS dan Ir. DWI SETIJAWATI MKes.

Maraknya penggunaan bahan tambahan pangan dalam proses pengolahan produk pangan akhir-akhir ini sangat mengkhawatirkan. Berbagai macam zat kimia yang masih belum jelas efek yang akan ditimbulkan dijual bebas pada masyarakat. Pada bidang perikanan terakhir ini marak diberitakan tentang kandungan bahan pengawet yang dilarang di antaranya adalah formalin, rodhamin, antibiotik dan yang lainnya. Secara umum penggunaan bahan ini dilakukan berdasarkan kebutuhan ekonomi untuk menjaga kwalitas dari produk tersebut.

Minimnya sosialisasi ataupun penegakan hukum terhadap produk bahan tambahan pangan yang dilarang berakibat pada penggunaan bahan tersebut masih tetap dilakukan oleh masyarakat. Meskipun bahan tersebut sebenarnya sangat berbahaya bagi kesehatan manusia sendiri. Kondisi ini diperburuk dengan ketidakpastian informasi yang diterima oleh masyarakat. Contoh yang terjadi adalah adanya perbedaan pendapat dikalangan ilmuan atau pakar tentang bahaya atau tidaknya suatu bahan, seperti pada kasus penggunaan formalin, beberapa pakar mengatakan bahwa formalin dalam bahan pangan itu berbahaya tetapi ada beberapa pakar yang mengatakan bahwa formalin dalam bahan pangan tidak berbahaya selama dalam jumlah yang dapat ditolerir.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dari ikan Nila berformalin 10% dengan menggunakan hewan percobaan mencit betina dewasa. Diharapkan dari penelitian ini diperoleh informasi tentang penggunaan formalin 10% pada ikan Nila, sebagai data awal bagi penelitian berikutnya dengan topik yang sama, dari sini juga nantinya diharapkan dapat muncul kebijakan oleh pemerintah tentang penggunaan formalin 10% pada ikan nila. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif, dimana metode ini coba untuk menggambarkan atau memaparkan jalannya sebuah peristiwa atau kejadian yang akan atau telah terjadi. Parameter utama pada penelitian ini adalah kematian hewan coba, yang kemudian akan didukung oleh beberapa parameter medis diantaranya adalah perkembangan berat badan

(pertumbuhan), berat organ, SGOT, SGPT, dan kreatinin. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Agustus hingga Desember 2006.

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan nilai LD_{50} ikan Nila berformalin 10% pada hewan percobaan mencit adalah 5453 mg/kg berat badan. Hasil ini tergolong pada jenis toksikkan ringan (5-15 g/kg berat badan). Berdasarkan perbandingan ikan Nila berformalin 10% dengan nilai LD_{50} formalin secara tunggal, hubungan atau reaksi antara daging ikan Nila dengan formalin 10% termasuk dalam hubungan *Antagonisme kimia*, dimana dalam interaksi ini terjadi perlemahan nilai toksiksitas.

Berat badan mencit selama percobaan pada dosis 1000 mg/kg berat badan menunjukkan tidak terjadinya perubahan berat badan yang signifikan. Tetapi pada dosis 5000 mg/kg berat badan terjadi penurunan berat badan pada lima hari pertama setelah pemberian ikan Nila berformalin 10% pada mencit, hasil ini menunjukkan adanya pengaruh negatif yang terjadi pada mencit setelah pemberian ikan Nila berformalin 10%.

Setelah percobaan selesai, mencit yang masih hidup diamati organ dalamnya dan dilakukan analisa klinis pada serum darahnya. Hasil yang diperoleh menunjukkan terjadinya kenaikkan berat hati mencit, indikasi ini menunjukkan telah terjadi penyimpangan pada hati mencit akibat pemberian ikan Nila berformalin 10%. Sedangkan pada ginjal tidak terjadi perubahan berat, berdasarkan beratnya ginjal dalam kondisi normal setelah pemberian ikan Nila berformalin 10%.

Analisa darah (serum) bertujuan untuk mengetahui tingkat kesehatan darah dalam tubuh, dapat juga digunakan sebagai indikator kerusakan suatu organ (hati dan ginjal). Pada penelitian ini dilakukan analisa SGOT dan SGPT dengan tujuan untuk mengetahui fungsi hati, sedangkan analisa kreatinin digunakan untuk mengetahui kesehatan ginjal. Hasil yang diperoleh pada penelitian terjadi kenaikkan pada kadar SGPT dibandingakan dengan nilai SGPT mencit normal (kontrol). Hasil analisa kreatinin pada dosis 1000 mg/kg berat badan terjadi penurunan, sedangkan pada dosis 5000 mg/kg berat badan tidak menunjukkan adanya perbedaan dibandingkan dengan kadar kreatinin kontrol (sehat).

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di penghujung tahun 2005, marak pemberitaan tentang beredarnya produk makanan yang mengandung formalin di tengah masyarakat. Diantara produk-produk makanan yang mengandung formalin adalah produk makanan perikanan (ikan segar, ikan asin, ikan pindang, cumi-cumi, dan yang lainnya). Umumnya formalin digunakan sebagai bahan tambahan pangan dengan tujuan untuk meningkatkan kuwalitas produk.

Meski berbahaya, penggunaan formalin dalam makanan sulit dihindari. Para pedagang dan pengusaha makanan menggunakan formalin untuk motif ekonomi. Penggunaan bahan pengawet ini dapat menolong untuk menekan biaya produksi. Sementara itu, para pembeli terkesan acuh tak acuh terhadap bahaya formalin. Meski mengetahui adanya kandungan formalin dalam makanan tertentu, mereka tetap nekat membeli dan mengkonsumsi makanan tersebut. Sebab, makanan itu adalah makanan pokok yang sudah biasa dimakan dan harga belinya terjangkau (Astawan, 2006).

Dengan proses garam dan penjemuran, rendemen yang tersisa kurang dari separuh. Bila bahan bakunya seratus kilogram saat masih basah, setelah jadi ikan asin tinggal 40 persen atau 40 kg. Kehilangan 60 kg itu sangat merugikan karena harga jual menggunakan satuan kilogram. Jika memakai formalin, rendemen bisa mencapai 75 persen. Selisih 35 persen itu yang dikejar para pengolah (Astawan, 2006).

Formalin terbukti bersifat karsinogen atau menyebabkan kanker pada hewan percobaan, yang menyerang jaringan permukaan rongga hidung. Bila dilihat dari respon tubuh manusia terhadap formalin, efek yang sama juga dapat terjadi. Secara intrasel,

paparan akut formalin pada hewan percobaan menyebabkan perlemakan hati dan degenerasi sel. Sedangkan paparan kronis menyebabkan menurunnya kadar elektrolit intra dan ekstrasel, disintegrasi sel, meningkatnya kekentalan darah, dan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna (Fatimah, 2006). Ditambahkan oleh Cahyadi (2006), bahwa kadar yang tinggi menyebabkan kematian karena kegagalan peredaran darah. Dari penelitian terhadap pemberian formaldehid dengan cara pencernaan (*disgestion*) didapatkan bahwa proses pencernaan formaldehid akut menyebabkan luka pada ginjal, disuria, anuria, piuria, haematuria, dan peningkatan kadar format dalam urin.

Menurut Judarwanto (2006), apabila formalin tertelan ke dalam mulut maka dapat terjadi kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, sistem susunan syaraf pusat dan ginjal. Ditambahkan oleh Amiruddin (2006), beberapa efek yang dapat terjadi antara lain, iritasi saluran pernapasan, muntah-muntah, kepala pusing, rasa terbakar pada tenggorokan, penurunan suhu badan dan rasa gatal di dada. Selain itu dapat menyebabkan kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, sistem susunan syaraf pusat, dan ginjal.

Menurut Pohan (2006) , formalin adalah zat yang amat toksik. Di tempat kerja, batas aman kadar formalin di udara adalah 0,3 ppm. Sedangkan hasil penelitian Bertazzi dan Work (1959-1980) dalam Republika (2006), di pabrik-pabrik pembuatan resin (bahan dasar plastik) di Amerika Serikat sepanjang tahun 1959-1980, ditemukan 18 orang meninggal dunia akibat kanker paru-paru. Penyebabnya adalah paparan formalin pada udara sekitar pabrik diatas 3,0 ppm.

Formalin, dilarang untuk digunakan sebagai bahan tahan tambahan pangan, karena bahan ini dapat menyebabkan beberapa efek yang berbahaya. Menurut

Widaryana (2006), dosis akut pada percobaan rats dan mouse secara oral adalah LD_{50} 800 mg/kg (rats) dan LD_{50} 42 mg/kg (mouse) .Sedangkan menurut Bloemen dan Burn (1993) dalam Cahyadi (2006), LD_{50} oral dari larutan formaldehid 2% pada tikus berkisar antara 500-800 mg/kg berat badan, pada *gunea pigs* adalah 260 mg/kg berat badan. Untuk larutan formaldehid 37% dosis 523 mg/kg berat badan adalah mematikan pria dewasa. Menurut WHO, konsentrasi formaldehid yang direkomendasikan dalam air adalah 0,9 mh/lt (90ug/lt), dengan asumsi bahwa ada potensi bahaya.

Pengunaan formalin sebagai pengawet ikan segar yang dilakukan belum dapat dipastikan berapa dosis fatalnya. Umunya formalin yang digunakan adalah formalin teknis (10 - 30%). Sampai saat ini, belum ada keterangan yang jelas tentang efek atau pengaruh (jangka panjang dan jangka pendek) dari pengunaan formalin pada ikan yang dikonsumsi terhadap hidup manusia, termasuk berapa dosis fatal atau nilai LD_{50} dari ikan yang mengandung formalin 10%. Padahal formalin 10% banyak digunakan sebagai bahan pengawet ikan konsumsi.

Namun menurut Yuswanto (2006), formalin yang berada di makanan tidak berbahaya karena metabolisme formalin yang masuk ke tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO_2 dan air seni dalam waktu 1,5 menit. Secara alami dalam 1 liter darah manusia mengandung 3 mililiter formalin, sedangkan formalin yang masuk melalui makanan akan didegradasi menjadi CO_2 dan dibuang melalui pernafasan. Formalin baru akan menimbulkan bahaya jika masuk secara terus-menerus melalui pernafasan, kondisi ini berpotensi menimbulkan kanker paru-paru. Formalin baru dapat menyebabkan efek toksifikasi atau pengaruh negatif jika mencapai 6 gram. Jadi meski formalin dikonsumsi dalam jangka waktu yang cukup lama, tidak akan terjadi proses akumulasi dan menyebabkan toksifikasi.

Adanya perbedaan pendapat tentang akibat pengunaan fomalin ini semakin membingungkan masyarakat terhadap penggunaannya oleh masyarakat. Sebagian masyarakat ada yang telah berhenti mempergunakannya, tetapi ada juga sebagian masyarakat yang masih mempergunakannya meskipun secara sembunyi-sembunyi.

Nelayan dan pedagang ikan menggunakan formalin 5–15 % untuk mengawetkan ikan. Tidak ada ukuran pasti seberapa besar nelayan dan pengolah ikan menambahkan formalin. Hasil yang diharapkan hanyalah perubahan tekstur ikan yang lebih kenyal dan penampakan yang bersih, namun tidak disadari pembusukan ikan yang masih tetap berlangsung yang terdeteksi dengan perubahan mata, insang berubah warna dan berlendir. Konsumen umumnya tidak menyadari adanya pengawetan ikan dengan formalin berkadar rendah. Dampak kesehatan tidak terlihat secara langsung, namun bersifat kronis.

Hasil penelitian lapang yang telah dilakukan menunjukkan kandungan formalin dalam daging ikan olahan sebesar 100 ppm, 3000 ppm, 6000 ppm hingga 10.000 ppm. Kadar ini mendekati hasil perendaman ikan dengan formalin 5-20% kurang dari 24 jam perendaman. Kondisi ini didukung dengan penjualan formalin dipasaran mulai dari konsentrasi 10% – 40%.

Dari uraian tersebut dapat kita ketahui bahwa, nilai ambang batas penggunaan formalin pada ikan belumlah jelas, maka diperlukan kajian lebih mendalam mengenai seberapa besar dosis fatal dari ikan yang mengandung formalin. Tahap awal dalam menentukkan tingkat toksisitas adalah dengan melakukan pengujian LD_{50}. Pada penelitian ini dilakuka pengujian LD_{50} ikan nila berformalin 10%, sebagai awal untuk mengetahui toksisitas ikan berformalin.

1.2 Perumusan Masalah

Formalin merupakan bahan disinfektan dan pengawet mayat, namun dipergunakan sebagai bahan pengawet bahan pangan. Pengusaha, pedagang, nelayan dan pengolah ikan menggunakan formalin untuk motif ekonomi. Tujuan penggunaan formalin dalam bahan pangan adalah untuk memperpanjang umur simpan, memperbaiki kenampakan produk, dan untuk menekan biaya produksi. Meskipun bahan ini telah dilarang untuk digunakan dalam bahan pangan, tetapi ada sebagian masyarakat yang masih tetap menggunakannya.

Dari beberapa sumber dikatakan bahwa, Akibat dari mengkonsumsi bahan pangan yang mengandung formalin dapat menimbulkan iritasi lambung, alergi, menyebabkan kanker dan bersifat mutagen, serta orang yang mengkonsumsinya akan muntah, diare bercampur darah, kencing bercampur darah. Akumulasi formalin dalam tubuh yang semakin menumpuk, dalam jangka panjang akan menimbulkan kanker dan mutagent. Tetapi masih belum jelas apa efek yang akan ditimbulkan ketika formalin berada dalam makanan.

Untuk mengetahui efek toksik dari suatu zat kimia baik secara tunggal atau gabungan digunakan uji LD_{50} sebagai parameter awal pengolongan toksisitas, dan sebagai patokan bagi penelitian selanjutnya terhadap bahan tersebut. Sampai saat ini belum ada keterangan yang jelas tentang berapa dosis LD_{50} ikan berformalin 10%. Karena pentingnya informasi tentang dosis letal dan efek toksik ikan berformalin 10% terhadap manusia, maka dilakukan uji LD_{50} pada hewan percobaan. Pada penelitian ini dilakukan uji LD_{50} ikan nila berformalin 10% dengan hewan coba mencit dengan tujuan untuk mendapatkan LD_{50} dari ikan nila berformalin 10%.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- Untuk mendapatkan LD_{50} ikan Nila berformalin 10% pada hewan percobaan mencit (*Mus musculus)*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi lembaga penelitian, pemerintah pusat/ daerah, pedagang/ nelayan dan konsumen akan bahaya penggunaan formalin pada ikan terhadap kesehatan manusia.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan, dan Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilakukan selama bulan Agustus sampai Desember 2006.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

Formalin adalah zat kimia yang mengandung unsur karbon, hidrogen, dan oksigen, dan mempunyai nama lain formaldehid. Secara fisik terdapat dalam bentuk larutan tidak berwarna dengan kadar antara 37-40%. Formalin biasanya mengandung alkohol/metanol 10-15% yang berfungsi sebagai stabilisator untuk mencegah polimerisasi formaldehid menjadi paraformaldehid yang bersifat sangat beracun. Karakteristik dari zat ini adalah mudah larut dalam air, mudah menguap, mempunyai bau yang tajam dan iritatif walaupun ambang penguapannya hanya 1 ‰, mudah terbakar bila kontak dengan udara panas atau api, atau bila kontak dengan zat kimia tertentu (Fatimah, 2006)

Formalin merupakan larutan dengan konsentrasi 10-40% dari formaldehid. Formalin mempunyai banyak nama kimia diantaranya ialah : formol, methylene aldehyde, paraforin, morbicid, oxomethane, polyoxymethylene glycois, methanal, formoform, superlysoform, formic aldehyde, formalith, tetraoxymethylene, methyl oxide, karsan, trioxane, oxymethylene dan methylene glycol. Formalin bisa ditemukan dalam bentuk yang sudah diencerkan, dengan kadungan formaldehid 10-40% (Judarwanto, 2006).

Formalin adalah nama dagang larutan formldehida dalam air dengan kadar 36-40%. Formalin biasanya juga mengandung alkohol (*methanol*) sebanyak 10-15% yang berfungasi sebagai stabilisator supaya formaldehidnya tidak mengalami polimerisasi.

Secara alami formalin dapat ditemui dalam asap proses pengasapan makanan, yang bercampur dengan fenol, keton dan resin (Widaryana, 2006).

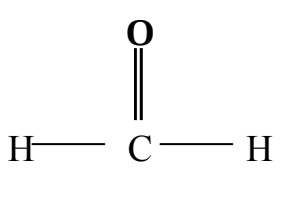
Larutan formaldehid atau larutan formalin mempunyai nama dagang formalin, formol, atau mikrobisida dengan rumus molekul CH_2O mengandung kira-kira 37% gas formaldehid dalam air. Larutan ini sangat kuat dan dikenal denga formalin 100% atau 40% yang mengandung 40 gram formaldehid dalam 100ml pelarut (Windholz *et al*, 1983 dalam Cahyadi, 2006).

2.1.1 Produksi Formalin

Formaldehid menampilkan sifat kimiawi seperti pada umumnya aldehid, senyawa ini lebih reaktif dari pada aldehid lainnya. Formaldehid merupakan elektrolit, bisa dipakai dalam reaksi substitusi aromatik elektrofilik dan senyawa aromatik serta bisa mengalami reaksi adisi elektrofilik dan alkena. Karena keadaannya katalis basa, formaldehid dapat mengalami reaksi Cannizaro menghasilkan asam format dan methanol. Formaldehid bisa dioksidasi oleh oksigen atmosfer menjadi asam format, karena itu larutan formaldehid harus ditutup serta diisolasi supaya tidak kemasukan udara (Wikipedia, 2006).

Formaldehid adalah gas dengan titik didih 21^0C sehingga tidak dapat disimpan dalam keadaan cair ataupun gas. Menurut Fessenden (1986) dalam Cahyadi (2006), formalin merupakan cairan jernih yang tidak berwarna atau hampir tidak berwarna dengan bau menusuk, uapnya merangsang selaput lendir hidung dan tenggorokan, dan rasa membakar. Bobot tiap milliliter ialah 1,08 gram. Dapat bercampur dalam air dan alkohol, tetapi tidak bercampur dalam kloroform dan eter. Sifatnya yang mudah larut dalam air dikarenakan adanya elektron sunyi pada oksigen sehingga dapat mengadakan

ikatan hidrogen dengan molekul air. Adapun struktur bangun formalin adalah seperti gambar dibawah ini :



Gambar.1 Struktur Bangun Formaldehid

Secara industri, formaldehid dibuat dari oksidasi katalitik methanol. Katalis yang paling sering dipakai adalah logam perak atau campuran oksida besi dan molybdenum serta vanadium. Dalam sistem oksida besi yang lebih sering dipakai (Formox), reaksi methanol dan oksigen terjadi pada 250^0C dan menghasilkan formaldehid, berdasarkan persamaan kimia :

$$2\ CH_3OH + O_2 \longrightarrow 2\ H_2CO + 2\ H_2O$$

Katalis yang menggunakan perak biasanya dijalankan dalam hawa yang lebih panas, kira-kira 650^0C. Dalam keadaan ini, akan ada dua reaksi kimia sekaligus yang menghasilkan formaldehid dan satu lagi adalah reaksi dehidrogenasi :

$$CH_3OH \longrightarrow H_2CO + H_2$$

Bila formaldehid ini dioksidasi kembali, akan menghasilkan asam format yang sering ada dalam larutan formaldehid dalam kadar ppm. Di dalam skala yang lebih kecil, formalin bisa juga dihasilkan dari konversi etanol, yang secara komersial tidak menguntungkan (Wikipedia, 2006).

2.1.2 Penggunaan Formalin

Dalam kehidupan sehari-hari formalin sering digunakan, di bidang industri formalin dimanfaatkan sebagai anti bakteri atau pembunuh kuman sehingga dimanfaatkan untuk membersihkan lantai, kapal, gudang, dan pakaian, pembasmi lalat

dan berbagai serangga. Dalam dunia fotografi biasanya digunakan untuk pengeras lapisan gelatin dan kertas. Bahan pembuat pupuk dalam bentuk urea, bahan pembuat produk parfum, pengawet produk kosmetik, pengeras kuku dan bahan untuk insulasi busa (Judarwanto, 2006). Ditambahkan oleh Cahyadi (2006), larutan formaldehid adalah disinfektan yang efektif melawan bakteri vegetatif, jamur atau virus, tetapi kurang efektif melawan spora bakteri.

Dalam bidang medis, larutan formaldehid, dipakai untuk mengeringkan kulit misalnya mengangkat kutil. Larutan formaldehid sering dipakai dalam membalsem, untuk mematikan bakteri serta untuk sementara mengawetkan bangkai. Untuk mensintesa bahan-bahan kimia, formaldehid misalnya dipakai untuk produksi alkohol polifungsional seperti pentaeritritol, yang dipakai untuk membuat cat, bahan peledak. Turunan formaldehid yang lain adalah metilen difenil diisosianat, komponen penting dalam cat dan busa poliuretan, serta heksametilen tetramina, yang dipakai dalam resin feol-formaldehid untuk membuat RDX (bahan peledak). Sebagai formalin, larutan senyawa kimia ini digunakan sebagai insektisida, serta bahan baku pabrik-pabrik resin plastik dan bahan peledak (Wikipedia, 2006).

Formalin terkadang disalahgunakan sebagai bahan pengawet bahan pangan. Sebagai contohnya para nelayan menggunakan formalin untuk mendukung usaha mereka. Selain itu, para pengolah hasil-hasil perikanan juga telah menggunakan formalin untuk mempertahankan masa simpan produk. Bagi nelayan dengan menggunakan formalin biaya operasional lebih rendah, daya awet ikan lebih lama, kerusakan ikan rendah serta ikan yang didaratkan kenampakannya lebih baik terutama pada ikan yang disimpan lebih dari 15 hari. Sedangkan bagi para pengolah dengan menggunakan formalin, biaya produksi rendah (biaya formalin Rp 375/ kg ikan),

pengeringan lebih cepat, rendemen lebih tinggi (formalin yield 70% garam 40%) serta kenampakan lebih baik (Departemen Kelautan Perikanan Republik Indonesia, 2006).

2.1.3 Bahaya Penggunaan Formalin

Formaldehid merupakan salah satu polutan dalam ruangan yang sering ditemukan, apabila kadar di udara lebih dari 0,1 mg/kg formaldehid yang terhisap bisa menyebabkan iritasi kepala dan membran mukosa, yang menyebabkan keluar air mata, pusing, tenggorokan serasa terbakar serta kegerahan. Kalau terpapar formaldehid dalam jumlah banyak, misalnya terminum, bisa menyebabkan kematian. Dalam tubuh manusia, formaldehid dikonversi menjadi asam format yang meningkatkan keasaman darah, tarikan nafas menjadi pendek dan sering, hipotermia, juga koma, atau sampai kepada kematiannya (Wikipedia, 2006).

Menurut Akbar (2006), formalin adalah zat berbahaya lantaran dapat memicu mutasi sel pada jaringan tubuh manusia dan binatang. Mutasi sel ini, dapat menyebabkan kanker yang sangat sulit disembuhkan. Terutama lewat paparan kronik (sering atau berulang), formalin dapat memicu kanker hidung dan tenggorokan pada manusia. Seekor tikus yang diberi formalin dengan dosis tinggi (200 hingga 50 ribu ppm) terbukti mengidap kanker perut (Wikipedia, 2006).

Efek pemberian formaldehid malalui oral dosis tinggi (sekitar 100 mg/kg berat badan) selama 2 bulan melalui air minum hewan percobaan menunjukkan terhambatnya pertumbuhan berat badan disertai dengan menurunnya asupan makanan dan minuman, produksi urin menurun, penyempitan dan penipisan bagian depan lambung, bahkan pada pemberian formaldehid dengan dosis 300 mg/kg berat badan. Penelitian terhadap pemberian formaldehid dengan cara pencernaan (*digestion*) didapatkan bahwa proses pencernaan formaldehid akut menyebabkan luka pada ginjal, disuria, anuria, piuria,

haematuria, dan meningkatnya kadar format dalam urin. Proses pencernaan (pemasukan) akut dapat menyebabkan kematian karena oedema pada paru-paru, dan *circulatory collapse* ((WHO (2002), dalam Cahyadi 2006).

Dari empat studi terhadap pemberian air minum yang mengandung formaldehid pada tikus menunjukkan hasil yang bermacam-macam; pertama, menunjukkan timbulnya peningkatan *forestomach pappilomass* pada tikus jantan; kedua, menunjukkan meningkatnya/timbulnya *gastrointestinal leiomyosarcomas* pada tikus betina dan kedua jenis kelamin tikus tersebut; ketiga, menunjukkan peningkatan timbulnya total tumor menular, *lymphomas* dan *leukemia*, dan *testicular interstitial cell adenomas* pada tikus jantan; sedangkan keempat tidak menimbulkan suatu efek karsinogenik ((Cogliano *et al*, (2005), dalam Cahyadi, 2006).

2.2 Jalur Toksikan

Zat kimia dapat dimasukkan ke dalam organisme biologi melalui berbagai macam jalur. Sifat kimia dan fisika yang dimiliki oleh masing-masing senyawa, sebagian besar menentukan dengan jalur mana pemejanan taksengaja atau yang disengaja dapat terjadi. Pada manusia, pemakaian zat kimia pada permukaan badan (pemberian topikal) atau pemasukkan ke dalam berbagai lubang badan kodrati terutama jalur oral dan pernafasan merupakan cara paling sesuai dan karena itu akan merupakan cara yang palim lazim untuk menghadapi pemejanan tak sengaja terhadap zat kimia (Loomis, 1978).

Formalin masuk ke dalam tubuh manusia melalui dua jalan, yaitu mulut dan pernapasan (Judarwanto,2006). Sedangkan menurut Amiruddin (2006), Formalin masuk

ke dalam tubuh melalui beberapa jalur: (1) saluran pernafasan, (2) kontak kulit atau mata, (3) saluran pencernaan.

Selain menyebabkan efek lokal ditempat kontak, suatu toksikan akan menyebabkan kerusakan bila diserap oleh organisme itu. Absorbsi dapat terjadi lewat kulit, saluran cerna, paru-paru, dan beberapa jalur lain. Selain itu, sifat dan hebatnya efek zat kimia terhadap organisme ini tergantung kadarnya di organ sasaran. Kadar ini tidak hanya tergantung pada dosis yang diberikan tetapi juga pada beberapa faktor lain misalnya derajat absorbsi, distribusi, pengikatan, dan eksresi. Agar dapat diserap, didistribusi, dan akhirnya dikeluarkan, suatu toksikan harus melewati sejumlah membran sel. Suatu membran sel biasanya terdiri atas lapisan biomelekuler yang dibentuk oleh molekul lipid dengan molekul protein yang tersebar di seluruh membran (Lu, 1995).

Pada saluran pencernaan, mencerna cairan formaldehid dapat menyebabkan trauma korosif pada esofagus dan perut. Bisa juga terjadi *nausea*, muntah, diare, nyeri perut, peradangan perut, ulserasi dan perforasi osofaring, epiglotis pada esofagus dan perut. Formaldehid dan methanol mudah diabsorpsi dan dapat menyebabkan keracunan sistemik (Amiruddin, 2006).

Banyak toksikan dapat masuk ke saluran cerna bersama makanan dan air minum, atau secara sendiri sebagai obat atau zat kimia lain. Lambung merupakan tempat penyerapan yang penting, terutama untuk asam-asam lemah yang akan berada dalam bentuk non-ion yang larut lipid dan mudah berdifusi. Asam-asam lemah terutama akan berada dalam bentuk ion yang terlarut dalam plasma dan diangkut, sementara basa lemah akan berada dalam bentuk non-ion dan dapat berdifusi kembali dengan lambung (Lu, 1995).

Saluran cerna dapat dipandang sebagai pipa yang menembus tubuh, berpangkal pada mulut dan berakhir pada anus. Walaupun saluran cerna berada di dalam tubuh, tetapi kandungannya pada dasarnya berada di luar cairan tubuh. Karena itu zat kimia dalam saluran cerna dapat menimbulkan efek hanya pada permukaan sel mukosa yang melapisi saluran tersebut, kecuali terjadi absorbssi dari saluran cerna. Bahan tajam yang dapat membakar (*caustic*) atau zat iritan primer, seperti basa atau asam kuat ataupun fenol, pada kadar yang memadai dapat menyebabkan terjadinya efek nekrosis langsung pada mukosa saluran cerna. Jika tidak demikian maka sebagian besar zat kimia yang diberikan secara oral, akan dapat memberi efek sistemik pada organisme, hanya setelah terjadi absorbsi dari mulut atau saluran cerna tersebut (Loomis, 1978).

Menurut Winarno dan Sulistyowati (1991) dalam Cahyadi (2006), formalin dapat bereaksi dengan cepat pada lapisan lendir saluran pencernaan dan saluran pernafasan. Di dalam tubuh, bahan ini secara cepat teroksidasi membentuk asam formiat terutama di hati dan sel darah merah.

2.3 Biotransformasi

Organisme biologi yang komplek tersusun dari sekumpulan organ. Sebagian besar organisme dilindungi dari lingkungan mereka oleh pelindung khusus yang dapat berfungsi terutama bukan hanya untuk melindungi organisme tersebut dari suhu yang ekstrim, kehilangan cairan, atau cercaan mekanik, tetapi juga untuk menghalangi secara efisien perpindahan zat kimia secara bebas dari jalan masuk ke berbagai organ dalam sehingga sampai ke sel di dalam organ itu. Pada komplek organisme yang ditunjukkan oleh mamalia, agar zat kimia dapat mencapai jalan masuk ke suatu sel pada organ

dalam, zat kimia tersebut harus secara efektif melewati inang membran pelindung tertentu (Loomis, 1978).

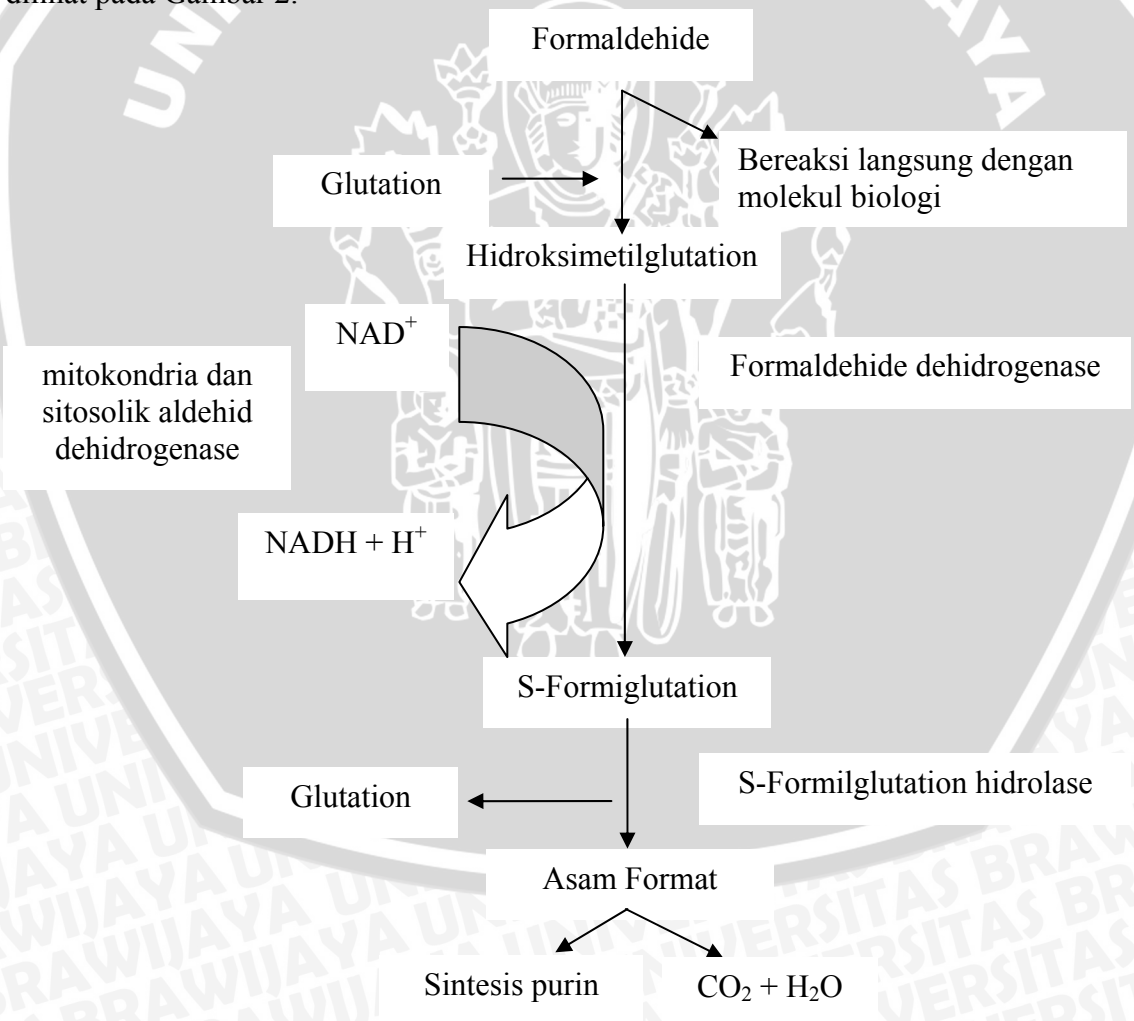
Suatu toksikan dapat diserap melalui berbagai jalur. Setelah diabsorbsi, toksikan terdistribusi ke berbagai bagian tubuh, termasuk dalam organ sekresi, sehingga siap dikeluarkan dari tubuh. Banyak zat kimia menjalani biotransformasi (transformasi metabolik) di dalam tubuh. Tempat yang terpenting untuk proses ini adalah hati, paru-paru, lambung, usus, kulit dan gijal. Karena itu, biotrasnformasi adalah suatu proses yang umumnya mengubah senyawa asal menjadi metabolit, kemudian membentuk konjugat (Lu, 1995).

Hampir semua jaringan di tubuh mempunyai kemampuan untuk memecah dan memetabolisme formaldehid. Salah satunya membentuk asam format dan dikeluarkan melalui urine. Formaldehid dapat dikeluarkan sebagai CO2 dari dalam tubuh. Tubuh juga diperkirakan bisa memetabolisme formaldehida melalui reaksi dengan DNA atau protein untuk membentuk molekul yang lebih besar sebagai bahan tambahan DNA atau protein tubuh (Hadi, 2006).

Beberapa studi in vitro dengan jelas menunjukkan bahwa formaldehid adalah genotosik. Formaldehid menginduksi berbagai efek genotosik di dalam perkembangbiakan sel-sel binatang mamalia. Sebuah contoh variasi DNA primer yang dipercaya sebagai bukti perubahan setelah pengunjukan formaldehid adalah DNA–protein crosslinks atau (DPX). DPX dapat menangkap atau menghentikan replikasi DNA dan menjurus kepada penginduksian dari efek genotoxic seperti pertukaran kromatid bersaudara atau *sister chromatid exchanges* (SCE) di dalam perkembangbiakan sel-sel. Perbaikan yang tidak sempurna dari DPX dapat menjurus kepada formasi mutasi. Kondisi yang muncul sebagai indikasi paling sensitif pada titik akhir genetik untuk

pendeteksian mutagenisitas akibat formaldehid adalah penyimpangan-penyimpangan chromosomal dan micronuclei. Gen mutasi spesifik pada loci juga terinduksi tetapi hanya berefek pada chromosomal, seperti yang lebih sering terjadi yaitu penghapusan dan penggabungan ulang (Speit and Schmid, 2006).

Didalam tubuh, formaldehid bisa menimbulkan terikatnya DNA oleh protein, sehingga menggangu ekspresi genetik yang normal. Dalam jumlah sedikit formalin akan larut dalam air, serta akan dibuang keluar bersama cairan tubuh, sehingga formalin sulit dideteksi keberadaannya didalam darah. Degradasi formaldehid dalam tubuh dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Degradasi Formaldehide dalam Tubuh (IARC, 2005) dalam Kartikaningsih (2006)

Pohan (2006) mengungkapkan bahwa formalin juga mengandung methanol. Methanol dimetabolisis oleh alkohol menjadi formaldehid dan dimetabolisis lebih lanjut oleh aldehyde dehydrogenase menjadi asam format. Sebagian besar kandungan asam format formalin mendekam dalam jaringan tubuh, sehingga menimbulkan efek permanen. Tercatat hanya 3% formalin yang disekresi oleh ginjal, dan melalui saluran pernafasan hanya sebanyak 10-20%. Menurut Suyatna dalam Republika (2006), tak ada cara untuk mengukur seberapa besar kandungan formalin yang sudah terakumulasi dalam tubuh seseorang. Ini lantaran senyawa-senyawa dalam formalin langsung mengalami proses metabolisme yang kompleks dalam tubuh, dan larut dalam jaringan.

Dalam biotransformasi toksikan, dibentuk sejumlah metabolit elektrofilik yang sangat reaktif. Beberapa metabolit ini dapat bereaksi dengan unsur-unsur sel dan menyebabkan kematian sel atau pembentukan tumor. Peran glutation adalah berikatan dengan metabolit elektrofilik dengan demikian mencegah pengaruh buruknya terhadap sel. Namun, pajanan zat-zat reaktif semacam itu dalam jumlah besar dapat mengahabiskan glutation, dan dengan demikian mengakibatkan munculnya efek toksik (Lu, 1995).

Menurut Yuswanto (2006), formalin yang berada di makanan tidak berbahaya karena metabolisme formalin yang masuk ke tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO_2 dan air seni dalam waktu 1,5 menit. Secara alami dalam 1 liter darah manusia mengandung 3 mililiter formalin, sedangkan formalin yang masuk melalui makanan akan didegradasi menjadi CO_2 dan dibuang melalui pernafasan. Formalin baru akan menimbulkan bahaya jika masuk secara terus-menerus melalui pernafasan, kondisi ini berpotensi menimbulkan kanker paru-paru. Formalin baru dapat menyebabkan efek toksifikasi atau pengaruh negatif jika mencapai

6 gram. Jadi, meski formalin dikonsumsi dalam jangka waktu yang cukup lama, tidak akan terjadi proses akumulasi dan menyebabkan toksifikasi.

Suatu toksikan dapat diubah dalam suatu organ menjadi metabolit yang stabil yang kemudian diangkut ke organ lain dan diubah menjadi metabolit akhir yang toksik. Keadaan yang agak serupa terjadi dengan metanol. Zat ini dimetabolisme menjadi formaldehid, lalu menjadi asam format untuk kemudian diubah menjadi karbon monoksida dan air. Namun pada manusia, enzim khusus untuk oksidasi formaldehid menjadi format tidak terdapat di mata sehingga pajanan metanol akan menyebabkan menumpuknya formaldehid dalam mata. Karena zat ini secara lokal bersifat destruktif, pajanan berulang akan menimbulkan kebutaan. Metanol merupakan contoh pengaruh tidak adanya mekanisme detoksifikasi dalam suatu organ (Lu, 1995).

Saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi, sifat racun formalin hilang. Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Namun nilai gizi makanan itu menjadi rendah, karena proteinnya berubah. Protein-protein dalam tahu berformalin misalnya, menjadi sukar dihidrolisis oleh enzim enzim pencernaan (tripsin). Modifikasi struktur rantai samping residu lisin dan arginin akibat reaksi dengan formaldehid membuat pusat aktif tripsin tidak mampu mengenali sisi spesifik pemutusan ikatan peptida pada protein tahu. Ini yang membuat tahu berformalin jauh lebih sulit dicerna ketimbang tahu bebas formalin. 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 (Nurchaman, 2006)

2.4 Efek Formalin

Formalin sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit dan tertelan. Akibat yang ditimbulkan dapat berupa : luka bakar pada kulit, iritasi pada saluran pernafasan, reaksi alergi dan bahaya kanker pada manusia. Jika kandungan dalam tubuh tinggi, akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat didalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel yang menyebabkan kerusakan pada organ tubuh. Formalin merupakan zat yang bersifat karsinogenik atau bisa menyebabkan kanker. Menurut IPCS (International Programme on Chemical Safety), secara umum ambang batas aman didalam tubuh adalah 1 mg/lt. Bila formalin masuk ke tubuh melebihi ambang batas tersebut maka dapat mengakibatkan gangguan pada organ dan sistem tubuh pada manusia (Judarwanto, 2006).

Ditambahkan oleh Cahyadi (2006), bahwa kadar yang tinggi menyebabkan kematian karena kegagalan peredaran darah. Dari penelitian terhadap pemberian formaldehid dengan cara pencernaan (*disgestion*) didapatkan bahwa proses pencernaan formaldehid akut menyebabkan luka pada ginjal, disuria, anuria, piuria, haematuria, dan peningkatan kadar format dalam urin.

Akibat yang ditimbulkan tersebut dapat terjadi dalam waktu singkat atau jangka pendek dan dalam jangka panjang, bisa melalui hirupan, kontak langsung atau tertelan. Akibat jangka pendek yang terjadi biasanya bila terpapar formalin dalam jumlah yang banyak, tanda dan gejala akut atau jangka pendek yang terjadi adalah bersin, radang tonsil, radang tenggorokan, sakit dada yang berlebihan, lelah, jantung berdebar, sakit kepala, mual, diare dan muntah. Pada konsentrasi yang tinggi dapat mengakibatkan kematian. Bila terhirup formalin dapat mengakibatkan iritasi pada hidung dan tenggorokan, gangguan pernafasan, rasa terbakar pada hidung dan tenggorokan serta

batuk-batuk. Kerusakan jaringan sistem saluran pernafasan bisa mengganggu paru-paru berupa pneumonia (radang paru-paru) atau edema paru (pembengkaan paru). Selain itu juga dapat terjadi kerusakan hati, jantung ,otak, limfa, pankreas, sistem susunan saraf pusat dan ginjal. Gangguan otak mengakibatkan efek neuropsikologis meliputi gangguan tidur, cepat marah, gangguan emosi, keseimbangan terganggu, kehilangan konsentrasi, daya ingat berkurang dan gangguan perilaku lainnya. Dalam jangka panjang dapat terjadi gangguan haid dan kemandulan pada perempuan. Kanker pada hidung, rongga hidung, mulut, tenggorokan, paru dan otak juga bisa terjadi (Judarwanto, 2006).

Tabel 1. Efek Formalin pada manusia (lewat udara)

Kadar	Efek
0-0,5 ppm	Efek pada konsentrasi Hampir tidak ada
0,05-1,5 ppm	Efek pada syaraf (neurophysiological)
0,01-2,0 ppm	Iritasi pada mata
0,1-25 ppm	Iritasi tingkat tinggi pada organ luar
5-30 ppm	Efek pada paru-paru
50-100 ppm	Radang dan pneumonia
di atas 100 ppm	Kematian

Sumber : Suyatna dalam Republika (2006).

Secara intrasel, paparan akut formalin pada hewan percobaan menyebabkan perlemakan hati dan degenerasi sel. Sedangkan paparan kronis menyebabkan menurunnya kadar elektrolit intra dan ekstrasel, disintegrasi sel, meningkatnya kekentalan darah, dan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna. Bila zat ini termakan dapat menyebabkan rasa terbakar di mulut dan tenggorokan, mual, muntah, sakit perut hebat, diare, vertigo, tidak bisa buang air kecil / buang air kecil berdarah, penurunan kesadaran, kegagalan fungsi hati yang menyebabkan kuning pada kulit, kegagalan fungsi ginjal

menyebabkan turunnya kadar protein albumin, keasaman darah meningkat, dan kejang (Fatimah, 2006).

Konsumsi formalin pada dosis sangat tinggi dapat mengakibatkan konvulsi (kejang-kejang), haematuri (kencing darah), dan haimatomesis (muntah darah) yang berakhir dengan kematian. Injeksi formalin dengan dosis 100 gram dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 3 jam (Astawan, 2006).

2.5 Kajian LD_{50} dan LD_{50} Ikan Berformalin 10%

LD_{50} didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba. Pengujian ini juga dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama. Apabila toksisitasnya rendah, kadang tidak perlu menentukan LD_{50} secara tepat. Suatu angka perkiran sudah dapat memberi manfaat. Informasi bahwa dosis yang cukup besar saja menyebabkan sedikit kematian, atau bahkan tidak menyebabkan kematian, mungkin cukup. Nilai LD_{50} sangat berguna untuk hal-hal sebagai berikut :

1. Klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisistas relatifnya
2. Evaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja; perencanaan penelitian toksisitas sub-akut dan kronik pada hewan; memberi informasi tentang mekanisme toksisitas, pengaruh umur, seks, faktor pejamu dan faktor lingkungan lainnya, variasi respons antar spesies dan antar strain hewan; memberikan informasi tentang reaktivitas suatu populasi hewan; memberi sumbangan bagi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia

dan dalam pengendalian mutu zat kimia, deteksi pencemaran toksik serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas (Lu, 1995).

Menurut Kusumawati (2004), tujuan menentukan LD_{50} adalah mengetahui dosis lethal, efek suatu bahan terhadap fungsi fisiologis tubuh seperti respirasi, sirkulasi, lokomosi, dan *behaviour*. Dengan jumlah minimal lima ekor untuk tiap peingkat dosis dan untuk tiap jenis kelamin, masa pengamatan 24 jam, tetapi pada kasus tertentu dapat 7 – 14 hari. Pengamatan dilakukan terhadap gejala klinis , berat badan, jumlah hewan yang mati dan histopatologi.

Cara menentukan LD_{50} secara tepat, yaitu dipilih suatu dosis yang akan membunuh sekitar separuh jumlah hewan-hewan itu, dosis lain yang akan membunuh lebih dari separuh (kalau bisa kurang dari 90%), dan dosis ketiga yang akan membunuh kurang dari separuh (kalau bisa lebih dari 10%) dari hewan-hewan itu. Sering digunakan empat dosis atau lebih dengan harapan bahwa sekurang-kurangnya tiga diantaranya akan berada dalam rentang dosis yang dikehendaki (Lu, 1995).

Dalam studi toksikologi atau *bioassay*, dibutuhkan suatu pengukuran yang sensitif dan tidak ada bandingannya ataupun suatu indeks toksisitas. Ini dapat dikaitkan langsung atau tidak langsung, dengan suatu fungsi biokimia, fisiologi ataupun perilaku sedemikian sehingga suatu hubungan sebab akibat dapat dimantapkan atau dianggap masuk akal. Salah satu jenis tanggapan yang umum diukur adalah tanggapan kuantal ("semua atau tidak ada"), misalnya kematian, kususnya kuantifikasi suatu tanggapan adalah sulit atau tidak mungkin. Dalam praktiknya, kematian (*letalitas*) mewakili suatu pengukuran yang persis dan tidak ada bandingnya yang digunakan secara luas untuk memperkirakan hubungan dosis-tanggapan di dalam suatu populasi makluk hidup uji yang dikenai (Connell dan Miller, 1995).

Secara umum, LD_{50} akan lebih tepat bila digunakan lebih banyak hewan untuk tiap dosis dan bila rasio antara dosis yang berurutan kecil. Banyak penelitian menggunakan 40-50 hewan per LD_{50} dan memilih rasio 1,2-1,5. Namun, peneliti lain menyarankan penggunaan empat hewan untuk setiap dosis dan rasio sebesar 2,0 antara dosis yang berurutan. Belakangan ini diajukan prosedur uji sederhana yang lain yang hanya menggunakan enam sampai sembilan hewan uji untuk setiap uji (Lu, 1995).

Pada umumnya, efek dari dua zat adalah jumlah respon pada masing-masing zat itu (Loomis, 1978). Toksisitas bahan kimia pada suatu organisme dapat meningkat atau berkurang bila organisme itu terpajan pada bahan kimia lain secara serentak atau berurutan. Kalau efek gabungan ini sama dengan jumlah efek tiap-tiap bahan bila diberikan tersendiri, interaksi ini disebut *aditif*. Kalau efek gabungan itu lebih besar dari pada jumlah efek tiap bahan, interaksi itu disebut *sinergistik*. Istilah *potensiasi* digunakan bila toksisitas suatu bahan pada suatu organ meningkat dengan nyata karena pengaruh bahan lain yang sebenarnya tidak toksik untuk organ tersebut. Pajanan suatu organisme terhadap suatu zat kimia dapat mengurangi toksisitas bahan kimia lain. *Antagonisme kimia* menunjukkan reaksi antara dua bahan kimia yang menghasilkan keadaan kurang toksik. *Antagonisme fungsional* terjadi bila dua zat kimia menghasilkan efek sebaliknya pada suatu parameter fisiologik. *Antagonisme bersaing* terjadi bila zat agonis dan antagonis bekerja pada reseptor yang sama. *Antagonisme nonkompetitif* terjadi bila efek toksik zat kimia dihambat oleh zat lain yang tidak bekerja pada reseptor yang sama (Lu, 1995).

Formalin yang boleh masuk ke tubuh dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5 mg hingga 14 mg per hari (hadi, 2006). Tetapi banyak pihak yang berpendapat lain, misalkan nilai ambang batas yang diperbolehkan pada tubuh yang

berbeda-beda. Secara umum belum ada kepastian berapa nilai atau dosis berbahaya atau minimum dari makanan yang mengandung formalin.

Penambahan ikan dengan formalin selama ini dilakukan dengan tujuan ekonomi. Penggunaan formalin teknis (10%), lebih sering digunakan para nelayan dan pengolah ikan. Tetapi tidak ada informasi yang pasti tentang bahaya dan efek dari penambahan tersebut, tidak juga pada dosis toleransi atau dosis maksimum yang diperbolehkan. Baru ada satu peraturan menteri yang dengan tegas melarang penggunaan formalin pada bahan makanan.

2.6 Mencit (*Mus musculus*)

Tabel 2. Data Biologi Mencit

Keterangan	Jumlah
Berat badan (g) :	
Jantan	20-40
Betina	18-35
Lama hidup (tahun)	1-3
Temperatur tubuh (^{o}C)	36,5
Kebutuhan air	ad libitum
Kebutuhan makanan (g/hari)	4-5
Pubertas (hari)	28-49
Lama kebuntingan (hari)	17-21
Mata membuka (hari)	12-13
Tekanan darah :	
Systolik (mmHg)	133-160
Diastolik (mmHg)	102-110
Frekuensi respirasi (per menit)	163
Tidal volume (ml)	0,18 (0,09-0,38)

Sumber : Fox (1984) dalam Kusumawati (2004)

Menurut Lu (1995), pemilihan spesies hewan coba lebih banyak menggunakan mencit karena murah, mudah didapat dan mudah ditangani. Selain itu terdapat banyak data toksikologi tentang jenis hewan ini, fakta yang mempermudah pembandingan toksisitas zat-zat kimia.

Mencit sering dipakai sebagai hewan coba dalam penelitian biomedis. Spesies yang sering dipakai adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Peningkatan temperatur tubuh tidak dipengaruhi tekanan darah, sedangkan frekuensi jantung, *cardiac output* berkaitan dengan ukuran tubuhnya. Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Diantara spesies-spesies hewan lain, mencit yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004).

Adapun klasifikasi dari mencit adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Mammalia

Order : Rodentia

Family : Muridae

Subfamily : Murinae

Genus : Mus

Species : *Mus musculus*

(Wikipedia, 2007)

Tabel 3. Data Hematologi Mencit

Keterangan	Jumlah
Eritrosit (RBC) x (10^6/mm^3)	6,86-11,7
Hemoglobin (g/dl)	10,7-11,5
MCV (μ^3)	47,0-52,0
MCH (μ μg)	11,1-12,7
MCHC (%)	22,3-31,2
Hematokrit (PCV) (%)	33,1-49,9
Leukosit (WBC) (x 10^3/mm^3)	12,1-15,9
Neutrofil (x 10^3/mm^3)	1,87-2,46
Eosinofil (x 10^3/mm^3)	0,29-0,41
Basofil (x 10^3/mm^3)	0,06-0,01
Limfosit (x 10^3/mm^3)	8,70-12,4
Monosit (x 10^3/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)

Kelemahan menggunakan mencit sebagai hewan coba yaitu dapat memberikan hasil *false-positive* dengan agen carcinogenic. Kejadian tumor spontan juga sering terjadi pada mencit terutama setelah berumur 18 bulan. Selain itu mencit memiliki beberapa idiosyncrasi seperti kepekaan mencit jantan terhadap chloroform. Kelemahan lain dari penggunaan mencit sebagai hewan coba adalah kesulitan memperoleh darah

dalam jumlah yang cukup untuk rangkaian pemeriksaan hematologi (Kusumawati, 2004). Dalam pengujian LD_{50} sering kali digunakan mencit, Dalam penentuan LD_{50} sebaiknya dilakukan pada kedua jenis kelamin, juga pada hewan dewasa dan yang masih muda, karena kerentanannya mungkin berbeda (Lu, 1995).

2.7 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan Nila merupakan jenis ikan konsumsi dengan bentuk tubuh memanjang dan pipih kesamping dengan warna putih kehitaman. Ikan nila disukai banyak orang karena dagingnya enak dan tebal seperti daging ikan kakap merah. Bibit ikan nila didatangkan ke Indonesia secara resmi oleh Balai Penelitian Perikanan Air Tawar pada tahun 1969. setelah melalui masa penelitian dan adaptasi, barulah ikan ini disebarluaskan kepada petani ikan di Indonesia. Nila adalah nama khas Indonesia (*local name*) yang diberikan oleh Pemerintah (Direktorat Jendral Perikanan).

Klasifikasi ikan nila adalah sebagai berikut:

Kelas : Osteichthyes

Sub-kelas : Acanthoptherigii

Crdo : Percomorphi

Sub-ordo : Percoidea

Famili : Cichlidae

Genus : Oreochromis

Spesies : *Oreochromis niloticus*

(Warintek.progessio, 2007)

Ikan nila mencapai dewasa kelamin pada umur 5 - 6 bulan dengan berat badan mencapai 400 - 600 gram. Ikan Nila jantan bisa dibedakan dari jenis betina berdasarkan

sifat kelamin sekunder, yang mulai terbentuk setelah ikan berumur 28 hari. Ikan nila jantan mempunyai sisik berwarna merah gelap di bawah dagu dan perut, sedangkan jenis betina berwarna merah pucat di bagian sisik yang sama. Hidung dan rahang nila jantan melebar kebalikan dari Nila betina yang lebih meruncing.

Ikan nila adalah salah satu komoditas budidaya yang memiiiki prospek pasar yang cukup tinggi. Selain mempunyai spesifik rasa, padat dagingnya, mudah disajikan dalam berbagai menu, juga harganya relatif murah sehingga terjangkau oleh masyarakat luas. Terlebih kini *fillet* nila merupakan komoditas ekspor yang mulai diminati oleh negara-negara importir khususnya Amerika Serikat, sebagai alternatif sumber protein non-kelesterol (Direktorat Jenderal Perikanan, 1982). Komposisi kimia ikan nila dapat dilihat pada tabel dibawah :

Tabel 4. Komposisi Kimia Ikan Nila per 100 gram Bahan

Komposisi Kimia	Jumlah
Protein	16-20%
Lemak	2-22%
Karbohidrat	0,5-1,5%
Abu	2,5-9,5%
Air	56,79%
Kolesterol	70mg/gr

Sumber : Direktorat Jendral Perikanan (1982)

Kelompok aldehid dapat dikombinasikan dengan metanol dan beberapa atom yang lain dari protein-protein, atau dengan dua atom jika mereka dapat menutup bersama-sama. Pengikatan formaldehid akan terjadi bila formaldehid bereaksi dengan protein. Indikasi reaksi awal formaldehid pada protein akan terjadi selama beberapa jam.

Unsur pokok seperti karbohidrat, lipid dan asam nukleat akan terikat dalam matriks yang *insolubilized* dan berikatan silang dengan molekul protein, tetapi secara kimiawi tidak diubah oleh formaldehid, kecuali pengikatan diperlama beberapa hari. Studi-studi dari ilmu kimia tentang penyamakan menunjukkan bahwa, kebanyakan jenis dari ikatan silang yang dibentuk oleh formaldehida di dalam kolagen adalah antara atom metanol pada akhir rantai samping dari *lisina* dan atom metanol dari suatu pertalian peptida dan banyaknya sambungan ikatan silang seperti itu terjadi berapa waktu kemudian (Kiernan, 2000).

Tabel 5. Komposisi asam amino ikan

Asam Amino	Ikan Segar (segala jenis) %	Ikan Air Tawar (segala jenis) %
Arginine	1.06	4.62
Cystine	0.22	0.47
Methionine	0.53	1.92
Therotinine	0.86	3.25
Isoleucine	0.90	3.27
Leucine	1.44	4.87
Lysine	1.71	5.89
Valine	1.15	3.50
Tyrosine	0.68	-
Tryptophan	0.21	0.62
Phenylalanine	0.73	2.92
Histidine	0.66	2.03

Sumber : FAO Corporate Document Repository (2007)

Menurut Nurachman (2006), Saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi, sifat racun formalin hilang. Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Namun nilai gizi makanan itu menjadi rendah, karena proteinnya berubah. Sedangkan menurut Kiernan (2000), yang bereaksi pertama kali dengan formaldehid adalah lysin, reaksi ini terjadi pada hari pertama (24 jam), sesudah itu baru akan bereaksi dengan bahan-bahan yang lain.

3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan

Dalam penelitian ini digunakan hewan percobaan mencit (*Mus musculus*), yang diperoleh dari Pusat Veterinary Farma (PUSVETMA) Surabaya, yang telah berumur ± 2 bulan (betina dewasa). Bahan yang digunakan sebagai larutan perlakuan adalah ikan berformalin 10%. Ikan yang digunakan adalah ikan nila (*Tilapia niloticus*) yang diperoleh dari Stasiun Percobaan Budidaya Air Tawar, Sumber Pasir, Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Sedangkan formalin diperoleh dari toko kimia Panadia, Malang.

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi tiga, yaitu alat untuk membuat larutan ikan nila berformalin 10%, alat untuk mencekok mencit, dan alat untuk uji serum darah mencit. Alat dalam membuat larutan ikan formalin antara lain timbangan analitik, pipet volume, pipet serologis, bola hisap, beaker glass, spatula, saringan, blender, dan botol film. Alat untuk pengambilan darah antara lain : perangkap mencit, spet, opendorf, sentrifuse dan mikro pipet. Sedangkan alat untuk mencekok adalah sonde (spet dan jarum).

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif adalah bentuk atau tipe penelitian untuk pencarian fakta dengan interpretasi

yang tepat. Tujuan yang ingin dicapai adalah untuk mengetahui perkembangan saranan fisik tertentu atau frekuensi terjadinya suatu aspek fenomena sosial tertentu, membuat penggambaran secara sistematis, factual, dan akurat mengenai situasi atau daerah tertentu (Noor, 1991).

Metode deskriptif adalah metode penyelidikan yang menuturkan dan mengklasifikasikan data yang diperoleh dari berbagai teknik pengambilan data (Surakhmad, 1994). Tujuan dari metode deskriptif ini adalah memaparkan secara sistematis, aktual dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat dari populasi tertentu, data dikumpulkan sesuai tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data-data tersebut (Suharjono, 1995).

Menurut Ndraha (1981), metode deskriptif bekerja berdasarkan anggapan bahwa dengan anggapan ini orang dapat : (1) Mengumpulkan data yang bernilai statistik, (2) Melukiskan keadaan suatu obyek pada suatu saat, (3) Mengidentifikasi data yang menunjukkan gejala-gejala dari suatu peristiwa, (4) Menemukan data yang menunjukkan *apperearance* dari suatu realitas, (5) mengumpulkan data yang dapat menunjukkan realisasi suatu gagasan atau ide atau peraturan.

Dalam penelitian ini berusaha untuk mendiskripsikan (menggambarkan) suatu akibat dari pemberian ikan nila berformalin 10%. Penelitian LD_{50} dilakukan dua tahap yaitu tahap pertama, pemberian ikan nila berformalin 10% satu kali dan dilakukan pengamatan klinis tiap 2 jam sekali pada hari ke-0, selain itu juga dihitung jumlah mencit yang mati. Kedua dilakukan pengamatan berat badan selama 14 hari, mengamati perkembangan fisiologis mencit dan melakukan autopsi kasar dan hematologi darah pada mencit yang masih hidup.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Hewan Percobaan

Semua mencit dipastikan dalam kondisi sehat sebelum dilakukan percobaan, mencit diadaptasikan (aklimatisasi) dahulu selama satu minggu dan diberi pakan setiap harinya. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 6 ekor untuk setiap dosis yang akan diamati dan ditempatkan dalam satu kandang (kandang kelompok).

3.3.2 Penyediaan Sediaan Formalin dan Ikan Berformalin 10%

Cara mendapatkan sediaan ikan Nila berformalin 10%, yaitu ikan nila disiangi dan difillet terlebih dahulu. Kemudian daging ikan Nila ditimbang, setelah diketahui berat daging, selanjutnya ditambah aquadest dengan perbandingan ikan dan air adalah 1:1 selanjutnya diblender sampai halus dan disaring.

Daging ikan nila hasil penyaringan (residu) ditimbang untuk memudahkan mencari banyaknya formalin yang harus ditambahkan sehingga mejadi larutan ikan berformalin 10%. Formalin yang digunakan adalah formalin *pro analisis* (PA), yaitu formalin dengan konsentrasi formaldehid 40%. Cara pembuatan larutan ikan berformalin adalah daging ikan nila hasil penyaringan (residu) yang didapat atau yang dikehendaki (sesuai dengan ukuran perhitungan) ditambah dengan formalin 10% sehingga didapat larutan yang diinginkan.

Cara memperoleh sediaan larutan formalin 10%, yaitu dengan mengencerkan formalin 40% menjadi 10% (misalkan menambahkan 7,5 ml aquades pada 2,5 ml formalin 40%), atau untuk lebih mudahnya dibeli formalin 10%. Sedangkan untuk memperoleh konsentrasi larutan formalin yang lebih tinggi dapat dilakukan dengan pemurnian kembali (destilasi) kemudian dilakukan pengenceran ulang sesuai dengan konsentrasi yang dilakukan. Misalkan dari larutan formalin 40% 100 ml, didestilasi,

akan diperoleh 40 gram formaldehid, hasil destilasi ditambah dengan aquadest sebanyak 30 ml ditambah metanol sebanyak 12,5 ml maka terbentuk formalin 50%. Prosedur pembuatan larutan ikan nila berformalin 10% dapat dilihat pada Lampiran 1. Jumlah larutan ikan nila berformalin 10% yang dibuat dalam proses penelitian sebanyak 100 ml, larutan ini diperoleh dengan cara mencampurkan 50 ml formalin 10% pada 50 gram daging ikan nila yang telah dihaluskan (residu). Dari pencampuran antara daging dan ikan tadi akan diperoleh larutan ikan nila berformalin 10% ± 100 ml.

3.3.3 Perlakuan Pemberian Ikan Nila Berformalin 10%

Menurut Loomis (1978), karena adanya kenyataan bahwa beberapa zat kimia akan menimbulkan kematian dalam dosis mikrogram, maka zat kimia seperti itu biasa dianggap sebagai toksik (atau beracun). Karena mungkin terlibat banyak kisaran kadar atau dosis berbagai zat kimia yang menghasilkan bahaya, maka telah dirumuskan golongan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya.

Perlakuan mengunakan metode Loomis, dimana standart bahan toksik : 5000 mg/kg berat badan sebagai patokan awal pemberian dosis. 5000 mg/kg berat badan digolongkan relatif tidak toksik, hasil mencit yang mati dihitung, apabila tidak ada yang mati maka percobaan LD_{50} dihentikan, bila ada yang mati , maka dicari dosis diatas dan dibawahnya, demikian seterusnya.

Mencit dewasa betina dikelompokkan masing-masing 6 ekor untuk satu perlakuan dosis ikan nila berformalin 10%. Sehingga 6 ekor mencit untuk satu perlakuan merupakan ulangannya. Mencit kemudian diperlakukan dengan pemberian ikan nila berformalin 10% secara oral akut, yaitu pemberian satu kali saja dan dilakukan

pengamatan selama 14 hari. Contoh atau keterangan tentang penelitian yang dilakukan terhadap mencit dapat dilihat pada tabel 6. Setelah mencit dikelompokkan dalam kandang dan ditimbang berat badannya, maka dapat dihitung besarnya volume cekok pada tiap mencit berdasarkan berat badan dan dosis. Volume cekok adalah ml/berat badan mencit. Adapun perhitungan volume cekok ikan nila berformalin 10% :

- Ikan nila berformalin 10% dengan dosis 5000 mg/kg berat badan

  $100.000 \text{ ppm} = 5000 \text{ ppm}$

  $100.000 \text{ ppm}.V1 = 5000 \text{ ppm}$

  $V1 = \frac{5000}{100.000} ppm = 0{,}05ml$

  Misalkan berat mencit 20 gram

  $\frac{20}{1000} \times 0{,}05ml$

  $= 0{,}001ml$

Karena kecilnya volume yang harus diambil, sementara tidak ada alat yang dapat digunakan maka dilakukan pengenceran hingga volume larutan ikan nila berformalin dapat diambil. Pengenceran dilakukan hingga formalin mencapai 10 $^{0}/_{00}$, sehingga volume cekok mencapai 0,01 ml untuk dosis 5000 mg/kg berat badan dengan berat badan mencin 20 gram. Untuk besarnya volume cekok yang diberikan pada mencit lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

Untuk kontrol digunakan mencit tanpa perlakuan yaitu tanpa diberi ikan nila berformalin 10% hanya diberi pakan secara normal (dibiarkan seperti biasanya) sebagai kontrol 0, dan dengan diberi ikan nila sebagai kontrol negatif. Bagan prosedur pemberian ikan nila berformalin 10% pada mencit perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah :

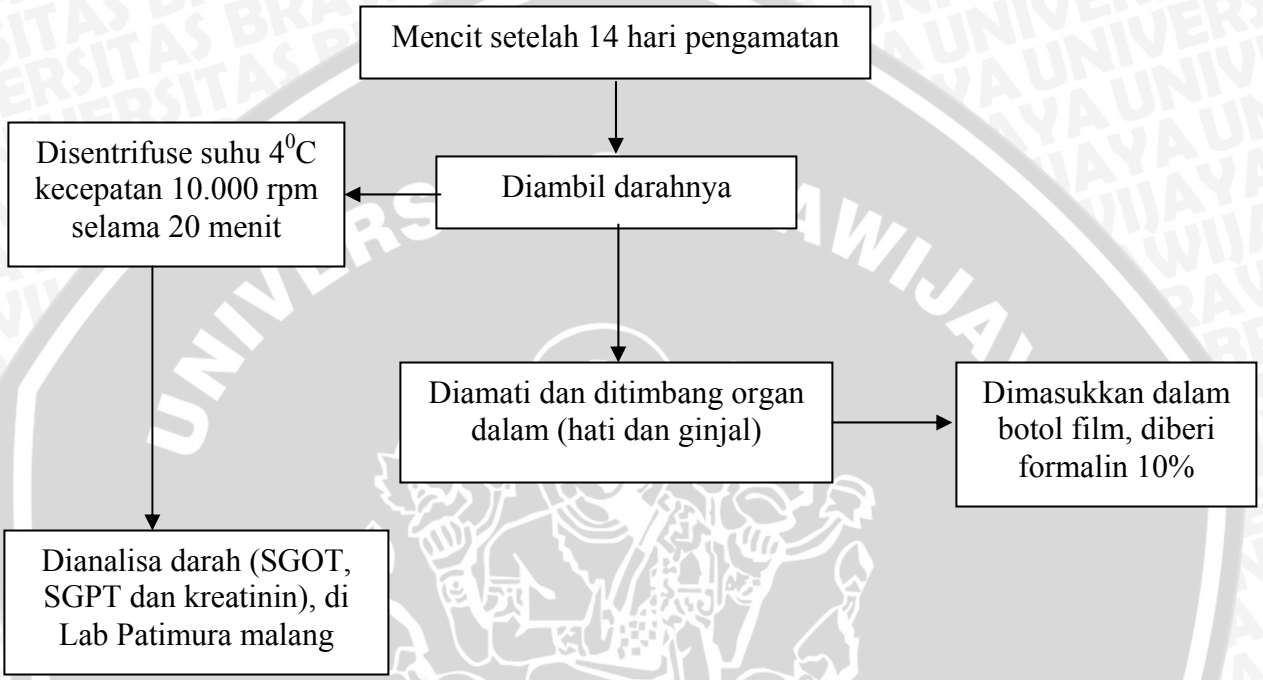
a) Pengamatan fisik
    a) Pengukuran berat badan setiap hari selama 14 hari
    b) Pengamatan terhadap perubahan fisik mencit setelah perlakuan hari ke-0 dan selanjutnya sampai hari ke-14 perlakuan yaitu keadaan mata (mata merah berair), badan bergetar, lemas, nafas tersengal-sengal, tersedak, rambut berdiri, diare.

b) Pengamatan Klinis
    a) Pengamatan berat organ dalam (hati dan ginjal)
    b) Penimbangan berat organ dalam
    c) Analisa kualitas darah (hematologi)

Sebelum melakukan pengujian klinis, mencit yang telah mengalami perlakuan selama 14 hari dibedah dan diambil darah serta organnya (hati dan ginjal), untuk lebih jelasnya tentang perlakuan terhadap mencit yang masih hidup dapat dilihat pada Gambar 3. Sampel darah mencit diambil dari jantung. Menurut Smith (1988), pengambilan sampel darah mencit dapat diambil dari jantung. Cara ini sukar, makan banyak waktu dan memerlukan anestesi. Cara ini sering kurang produktif karena darah biasanya cepat menggumpal di dalam jarum. Proses pengambilan dilakukan dengan hati-hati agar tidak terjadi lisis. Darah ditampung dalam eppendorf yang berada dalam kotak yang telah diisi es dan air.

Darah kemudian disentrifuse untuk memisahkan serumnya dengan menggunakan sentrifuse dingin, suhu 4^0C kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Sedangkan organ yang diambil dimasukkan dalam botol film yang diberi larutan formalin 10%. Menurut

Astuti (1986), tergantung dari macam analisis yang akan dilakukan organ dapat diawetkan dalam larutan formalin 1% (untuk analisis struktur jaringan) ataupun disimpan dalam almari pendingin (untuk analisis organ). Prosedur pembedahan, pengambilan darah dan organ dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 3: Perlakuan untuk analisa darah dan organ mencit

3.4.1 Analisa Probit

Suatu dosis letal bagi 50% hewan uji yang biasa dikenal sebagai LD_{50}, adalah dosis suatu senyawa yang akan menimbulkan kematian pada 50% hewan uji. LD_{50} merupakan suatu harga sebenarnya yang diperoleh secara statistik. Ini merupakan suatu harga perhitungan yang mengambarkan estimasi yang paling baik dari dosis yang diperlukan untuk menimbulkan kematian pada 50% hewan uji, karenanya selalu disertai dengan suatu rata-rata estimasi dari harga kesalahannya, seperti probabilitas kisaran nilainya (Loomis, 1978)

Untuk menentukan LD_{50} secara tepat, perlu dipilih suatu dosis yang akan membunuh sekitar separuh jumlah hewan-hewan itu, dosis yang lain akan membunuh lebih dari separuh (kalau bisa kurang dari 90%), dan dosis ketiga yang akan membunuh kurang dari separuh (kalau bisa lebih dari 10%) dari hewan-hewan itu (Lu, 1995).

Harga LD_{50} diperoleh dari kurva dengan menarik suatu garis mendatar dari titik angka kematian 50% pada ordinat sampai suatu titik yang memotong kurva tersebut. Pada titik perpotongan tersebut ditarik garis vertikal, dan garis ini akan memotong absis pada titik LD_{50}nya. Terbukti dari kurva tersebut bahwa informasi mengenai suatu dosis letal bagi 95% hewan uji, atau bagi 5% hewan uji, juga dapat diperoleh dengan suatu tata cara yang serupa. Prosen angka kematian tersebut, dapat dikonversikan menjadi probit, yang merupakan bilangan yang menentukan presentasi supaya angka kematian 50% sama dengan suatu probit 5, angka kematian 50% ±1 S.D. berturut-turut sama dengan probit 6 atau 4, angka kematian 50% ±2 S.D. berturut-turut sama dengan probit 7 atau 3, dan sebagainya (Loomis, 1978)

Bila frekwensi atau efek lain dihubungkan terhadap dosis dalam skala logaritmik, diperoleh suatu kurva berbentuk S. Bagian tengah kurva itu (antara 16% dan 84% respons) cukup lurus untuk memperkirakan LD_{50} atau ED_{50}. Akan tetapi, banyak bagian kurva dapat diluruskan dengan mengambarkan titik-titik tersebut berdasarkan nilai basis probit. Prosedur ini terutama berguna untuk memperhitungkan, misalnya, LD_5 atau LD_{95}, dengan mengunakan ujung-ujung ekstrem dari kurva (Lu, 1995).

Tabel prosentase kematian hewan uji dalam menentukan LD_{50} dengan mengunakan metode analisa probit dapat dilihat pada tabel dibawah :

Tabel 6. Contoh perhitungan analisa probit

Konsentrasi (mg/Kg BB)	Σ Mencit	Σ Mortalitas	% Kematian	Log X	probit
1000	6				
5000	6				
10000	6				

Dibawah adalah contoh tabel untuk menentukan besarnya nilai LD_{50} berdasarkan analisa probit :

Tabel 7. Perubahan Presentasi ke Probit

%	Nilai Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.85	3.87	3.92	3.96	4.02	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

3.4.2 Pengujian SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase) dan SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase)

SGPT adalah lebih spesifik untuk kerusakan hati. SGPT merupakan enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), jadi lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Biasanya peningkatan SGOT terjadi bila ada kerusakan pada selaput sel hati. 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. SGOT adalah enzim mitokondria yang juga ditemukan dalam jantung, ginjal dan otak. Jadi tes ini kurang spesifik untuk

penyakit hati. Dalam beberapa kasus peradangan hati, peningkatan SGPT dan SGOT akan serupa (Yayasan Spiritia, 2005).

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui adanya kerusakan hati akibat pemberian ikan nila berformalin 10% secara oral. Prosedur pengujian SGPT dan SGOT dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.3 Pengujian Kreatinin

Kreatinin adalah produk endogenous akhir dari metabolisme keratin fosfat yang terjadi di dalam otot. Kreatinin dengan bebas melintas membrane glomerulus, tidak diserap kembali dalam filtrate, dan hanya sebagian kecil saja yang disekresi ke dalam tubulus nefron. Konsentrasinya di dalam plasma dan ekskresi total harianya tetap konstant meskipun ada perubahan-perubahan dalam makanannya. Oleh karena itu cukup mudah dan memadai untuk kebanyakan keperluan yang bersifat klinis. Secara patologis, pada saat penyakit-penyakit ginjal menurunkan sejumlah fungsi nefron, clearance kreatinin menurun dan kandungannya di dalam plasma menaik (Srigandono dan Praseno, 1992). Pengujian kreatinin dimaksudkan untuk mengetahui adanya kerusakan pada organ ginjal mencit. Prosedur pengujian kreatinin dapat dilihat pada Lampiran 5.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Probit

Setelah proses percobaan selama 14 hari, dengan mengunakan enam ekor mencit pada setiap dosisnya, diperoleh jumlah mencit (hewan percobaan) yang mati pada tiap dosisnya seperti pada tabel dibawah, yaitu :

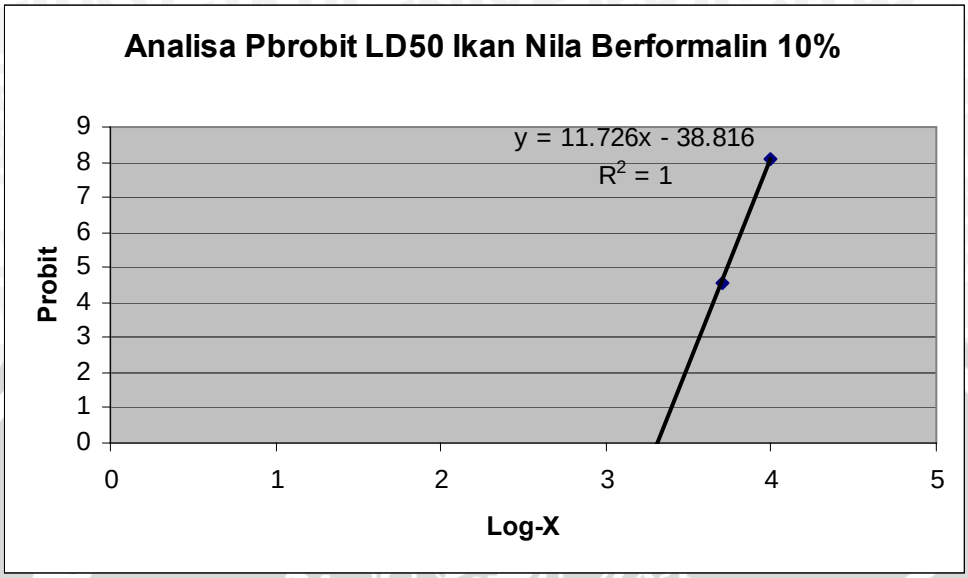
Table 8. Prosentase kematian mencit

Konsentrasi (mg/Kg BB)	∑ Mencit	∑ Mortalitas	% Kematian	Log X	Probit
10000	6	6	100	4	8,09
5000	6	2	33.33	3.72	4.56
1000	6	0	0	3	-

Dari prosentase kematian yang diketahui, dapat ditentukan besarnya persamaan matematika untuk mencari besarnya LD_{50} ikan Nila berformalin 10%, persamaan diperoleh dengan cara mencari garis regresi dari grafik prosentase kematian (probit) dengan Log-X (dosis) atau lebih sering disebut grafik dosis - respon, grafik hubungan tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.

Dengan persamaan matematika Y=11.726X-38.816 seperti pada grafik di bawah, dapat dicari LD_{50} ikan Nila berformalin 10%, yaitu sebesar 5453 mg/kg berat badan. Dari hasil ini dapat disimpulkan nilai atau dosis ikan Nila berformalin10% akan menyebabkan kematian pada 50% hewan uji pada dosis 5453 mg/kg berat badan. Menurut Loomis (1978), karena mungkin terlibat banyak kisaran kadar atau dosis berbagai zat kimia yang menghasilkan bahaya, maka telah dirumuskan golongan toksik atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya. Pengolongan itu dapat dilihat pada tabel 8. Berdasarkan pada pengolongan bahan ini,

maka bahan (ikan Nila berformalin 10%) dapat digolongkan sebagai bahan yang toksik ringan.



Gambar 4. Grafik hubungan prosentase kematian dengan dosis

Sedangkan menurut Lu (1995), Nilai LD_{50} sangat berguna untuk hal-hal sebagai berikut :

(1) Klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitas relatifnya, klasifikasi lazim adalah seperti tabel 8.

(2) Kegunaan lain nilai LD_{50} ialah dalam evaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja, perencanaan penelitian toksisitas sub akut dan kronik pada hewan, memberikan informasi tentang (a) mekanisme toksisitas, (b) pengaruh umur, seks, factor penjamu dan factor lingkungan lainnya, (c) variasi respons antar spesies dan antar strain hewan. Memberi sumbangan bagi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia dan dalam pengendalian mutu zat kimia, deteksi pencemaran toksik serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas.

Tabel 9. Klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitasnya

Kategori	LD_{50}
Supertoksik	5 mg/kg atau kurang
Amat sangat toksik	5-50 mg/kg
Sangat toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	> 15 g/kg

Mengacu pada pengolongan bahan berdasarkan toksisitasnya seperti pada Tabel 8 diatas, ikan Nila berformalin 10% dikategorikan sebagai campuran bahan yang tergolong dalam toksik ringan. Ikan Nila berformalin 10% memiliki nilai LD_{50} 5453 mg/kg berat badan, dimana dosis ini masuk dalam kisaran toksik ringan yaitu 5-15 g/kg berat badan. Dosis ini jauh lebih besar dibandingkan dengan dosis LD_{50} formalin secara sendiri (tunggal).

LD_{50} oral dari larutan formaldehid 2% pada tikus berkisar antara 500-800 mg/Kg berat badan. Sedangkan bagi *gunea pigs* adalah 260 mg/Kg berat badan. Untuk larutan formadehid 37% dosis 523 mg/Kg berat badan adalah mematikan bagi pria dewasa (Bloemen dan Burn (1993), dalam Cahyadi (2006)). Sedangakan menurut Nurachman (2006), Konsentrasi terendah formalin yang dapat mematikan manusia lewat pernapasan adalah 17 mg per meter kubik per 30 menit, dan lewat mulut sebesar 108 mg per kilogram berat badan.

Melihat hasil yang diperoleh pada percobaan (LD_{50} ikan Nila berformalin 10%) yang dibandingkan dengan penelitian LD_{50} formalin diatas, dapat diketahui bahwa larutan formalin (formaldehid) lebih berbahaya (*toksik*) apabila masuk kedalam tubuh (organisme) secara tunggal (sendiri) dari pada secara gabungan (bergabung dengan

daging ikan Nila). Pada hasil penelitian (ikan Nila berformalin 10%) baru akan menyebabkan kematian pada 50% hewan uji pada dosis 5453 mg/Kg berat badan, sementara formalin 2% memiliki dosis LD_{50} sebesar 500-800 mg/Kg berat badan dengan percobaan yang sama (oral).

Berdasarkan perbedaan dosis LD_{50} yang diperoleh diatas, maka dapat dikatakan terjadi reaksi antara formalin dengan larutan daging ikan Nila sebelum masuk ke dalam hewan percobaan. Kesimpulan yang dapat diambil adalah reaksi yang terjadi antara formalin dengan ikan Nila menyebabkan menurunnya (melemahkan) kadar racun (toksisitas) dari formalin yang menyebabkan efek secara langsung (mematikan / *letal*). Dimana kematian merupakan parameter mutlak (utama) dalam analisa LD_{50} (probit) yang digunakan dalam menentukan besarnya nilai LD_{50} suatu bahan kimia baik secara tunggal ataupun gabungan.

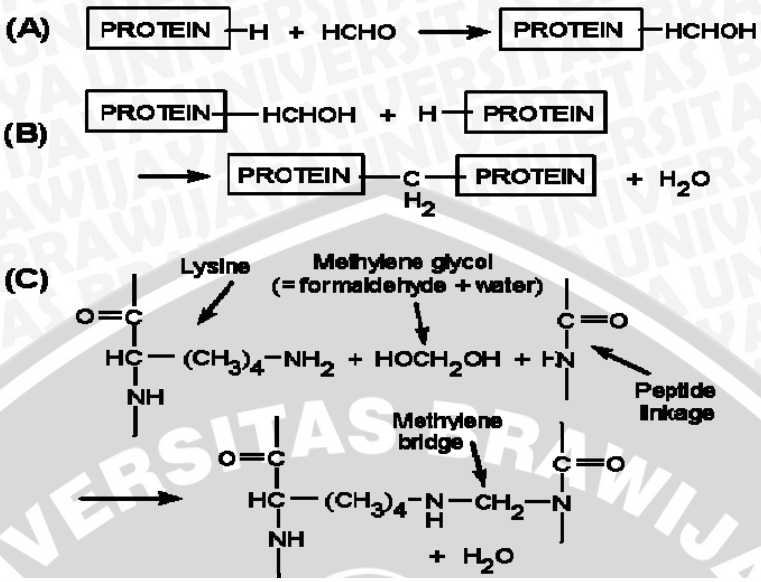
Menurut Loomis, (1978), Tempat pertama dari mana zat kimia yang diberikan mulalui oral dapat ditranslokasi secara efektif adalah lambung (atau rumen pada jenis yang memiliki organ seperti itu). Toksisitas zat kimia yang diberikan melalui oral, mungkin berubah-ubah karena frekwensi pemberiannya dan karena berbagai kondisi yang ada ketika mereka diberikan, yakni apakah mereka tercampur dengan makanan atau diberikan pada saat lambung dalam keadaan kosong.

Saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi, sifat racun formalin hilang. Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Namun nilai gizi makanan itu menjadi rendah, karena proteinnya berubah. Protein-protein dalam tahu berformalin, misalnya, menjadi sukar dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan (tripsin). Modifikasi struktur rantai samping

residu lisin dan arginin akibat reaksi dengan formaldehid membuat pusat aktif tripsin tidak mampu mengenali sisi spesifik pemutusan ikatan peptida pada protein tahu. Ini yang membuat tahu berformalin jauh lebih sulit dicerna ketimbang tahu bebas formalin. 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 (Nurachman, 2006).

Bereaksinya formalin dengan daging ikan merupakan penyebab menurunnya tingkat toksisitas larutan formaldehid. Sementara itu, kematian yang terjadi diakibatkan oleh adanya formaldehid bebas, karena makanan yang bereaksi dengan formalin tidak terdeteksi sebagai racun didalam lambung dan usus. Tetapi makanan (protein) akan kehilangan nilai gizinya, makanan akan diteruskan pada proses pencernaan berikutnya yaitu hati.

Diperkuat oleh Gustavson, (1956) dalam Kiernan (2000), Kelompok aldehid dapat bereaksi (kombinasi) dengan nitrogen dan beberapa atom protein, atau dengan dua atom protein jika ikatan ini dapat menutup secara bersama-sama pada akhirnya, kombinasi (reaksi) ini akan membentuk ikatan silang CH_2 yang disebut jembatan metilen. Dari beberapa studi ilmu kimia tentang penyamakan menunjukkan bahwa kebanyakan ikatan silang terbentuk dari formaldehid di dalam kolagen antara nitrogen pada akhir rantai samping dari lisin dan atom nitrogen pada suatu ikatan peptida, dan banyak ikatan silang lainnya yang sama seperti itu dalam beberapa waktu kemudian. Bebrapa contoh reaksi antara formaldehid dengan protein dapat dilihat pada gambar 4 dibawah :



Gambar 5. Reaksi antara formaldehid dengan protein

Sumber : Kiernan (2000)

Kematian mencit pada dosis 10.000 dan 5000 mg/kg berat badan dapat diakibatkan oleh dua hal, yaitu : pertama adanya reaksi formaldehid bebas yang tidak bereaksi dengan daging ikan nila, secara umum reaksi yang diakibatkan adalah iritasi pada dinding sel lambung. Kedua, lambung mencit tidak mampu untuk mencerna ikan nila berformalin 10%, sehingga terjadi reaksi antara ikan nila berformalin 10% dengan asam-asam dalam lambung. Terjadinya perubahan pH dalam lambung akibat bereaksinya larutan ikan nila berformalin 10% dengan asam lambung secara mendadak (akibat jumlah larutan yang sangat banyak) yang tidak dapat ditolerir oleh lambung berakibat pada kematian mencit tersebut.

Formaldehid tidak diserap ke dalam aliran darah sebagai satu molekul utuh, kecuali mungkin pada dosis yang sangat tinggi dan tergantung pada kemampuan metabolisme dari jaringan ketika kontak dengan formaldehid. Dengan kemampuan metabolisme jaringan binatang yang cepat, molekul formaldehida didistribusikan secara

utuh kepada organ atau bagian badan lain (ginjal, lemak, limpa, dll.) Ketoksikan formaldehida tergantung pada jalur kontak. Iritasi dapat terjadi pada kontak lewat jalur inhalasi, oral, dermal. Dosis-dosis tinggi bersifat sitotoksik dan mengakibatkan degenerasi, nekrosis pada mukosal dan lapisan-lapisan sel epitelium (U.S. Departement of Health and Human Services, 1999). Ditambahkan oleh Nurachman (2006), Formaldehid sangat beracun dan menyebabkan iritasi selaput lendir, pada pernapasan atas, mata, juga kulit. Ia juga dapat mengakibatkan reaksi alergi, kerusakan ginjal, kerusakan gen, dan mutasi yang dapat diwariskan. Sifat merusak ini terletak pada gugus CO atau aldehid. Gugus ini bereaksi dengan gugus amina, pada protein menghasilkan metenamin atau heksametilentetramin.

Tabel 10. Konversi Perhitungan Dosis untuk Beberapa Jenis Hewan dan Manusia.

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

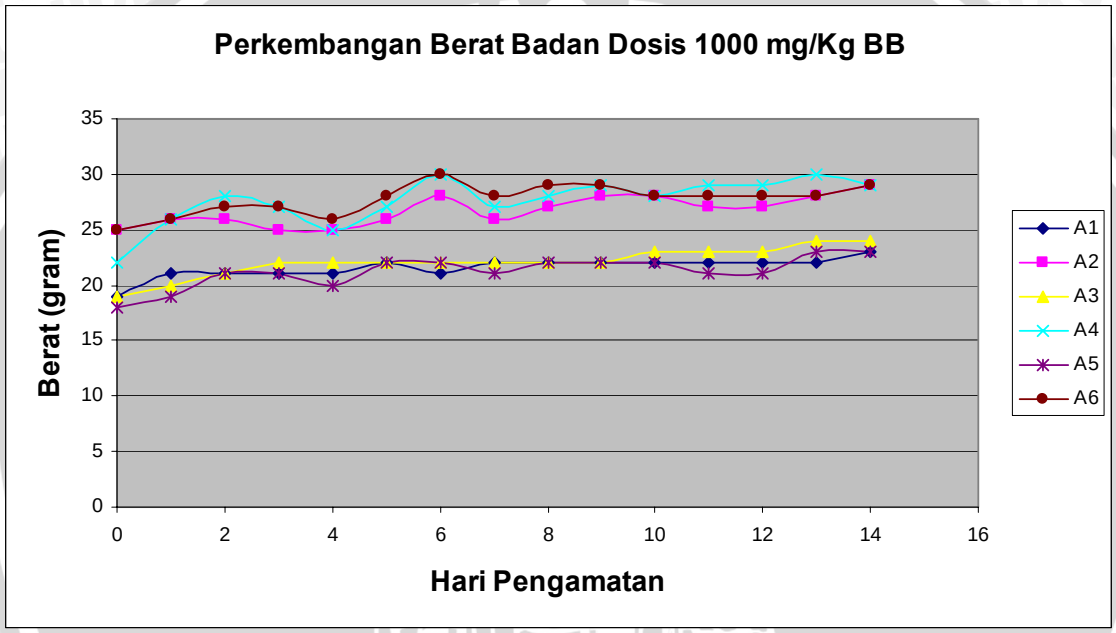
Sumber : Ghosh (1971), dalam Kusumawati (2004).

Berdasarkan tabel konversi dosis di atas, maka hasil konversi dosis LD_{50} ikan nila berformalin 10% dengan menggunakan hewan percobaan mencit ke manusia

sebesar 2115219 mg/kg berat badan, dengan asumsi berat badan manusia dewasa seberat 70 kg.

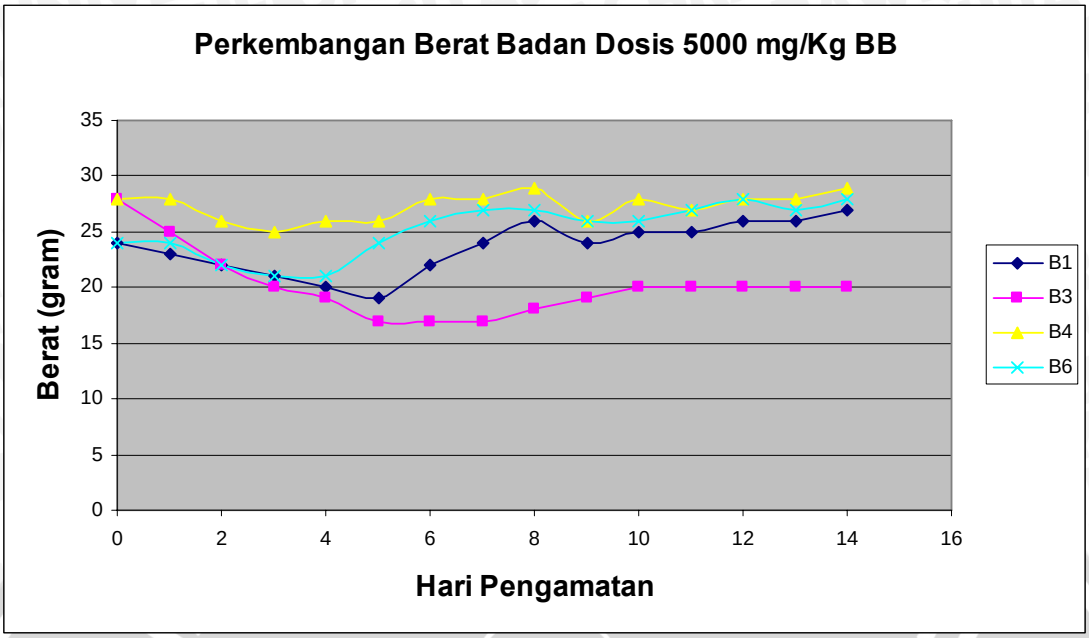
4.2 Berat Badan

Hasil pengamatan berat badan mencit selama percobaan (14 hari) dapat dilihat pada grafik dibawah :



Gambar 6. Grafik Perubahan Berat Badan Mencit Dosis1000 mg/Kg Berat Badan

Pada dosis 1000 mg/kg berat badan, mencit terbagi dua kelompok (berdasarkan berat badan). Kelompok pertama dan kedua tidak mengalami pengaruh pada proses pertumbuhanya (berat badan), kelompok ini dapat dikatakan sebagai kelompok yang tidak memberikan reaksi balik atau tidak terpengaruh dengan apa yang telah dikonsumsi. Perubahan berat badan yang terjadi masih dalam batasan normal perkembangan berat tubuh mencit. Secara umum perkembangan berat badan mencit dalam satu harinya sebesar satu gram, kecuali pada mencit yang hamil. Kestabilan berat badan merupakan indikasi stabilnya proses pencernaan (telah terjadi tranlokasi) makanan.



Gambar 7. Grafik Perubahan Berat Badan Mencit Dosis 5000 mg/Kg Berat Badan

Di dalam lambung zat kimia bersentuhan dengan isi lambung yang sebelumnya telah ada (seperti partikel makanan dan musin lambung) dan sekresi (seperti pepsin, rennin, dan lipase lambung) di samping asam hidroklorat. Kalaupun zat kimia itu harus diabsorbsi, bereaksi dengan atau bereaksi sebagai substrat bagi salah satu komponen isi lambung ini, maka jumlah zat kimia bentuk bebas akan menjadi berubah olehnya, menjurus terjadinya perubahan laju kecepatan absorbsi zat ini. Produk reaksi yang terjadi di dalam lambung, mungkin menjadi lebih atau kurang cepat ditranslokasi atau menjadi lebih atau kurang toksik kalau dibandingkan dengan senyawa induknya (Loomis, 1978).

Setiap organisme memiliki tingkat respon atau imunitas terhadap suatu zat kimia yang berbeda-beda. Melihat pada grafik diatas (dosis 1000 mg/kg berat badan), kita dapat mengatakan bahwa perubahan (kestabilan) berat badan merupakan sebuah nilai toleransi dari mencit ketika menerima ikan nila berformalin 10%. Setiap mencit

memiliki kadar toleransi sendiri-sendiri, ini yang mengakibatkan berbedanya perubahan berat badan antara mencit satu dengan mencit yang lainnya.

Dosis 5000 mg/kg berat badan ikan Nila berformalin 10% yang diberikan pada mencit secara oral akan memberikan efek terhadap perubahan (penurunan) berat badan seperti pada grafik diatas (gambar 6). Semua mencit mengalami penurunan berat badan sejak atau mulai hari ke 0 hingga hari ke 3-5 . Perubahan atau penurunan ini dapat dianggap sebagai reaksi yang diberikan oleh mencit terhadap apa yang telah dimakan atau dicerna. Penurunan yang terjadi merupakan indikasi terjadinya masalah (efek toksik) pada sistem metabolisme tubuh mencit. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), kecepatan tumbuh (perubahan berat badan) mencit dalam setiap harinya sebesar 1 gram. Berat mencit dewasa (umur 35 hari) 20-40 gram untuk jantan, 18-35 gram untuk betina.

Berdasarkan kondisi tersebut dapat dikatakan, bahwa pada dosis 5000 mg/Kg berat badan, ikan berformalin 10% memberikan pengaruh secara langsung terhadap sistim pencernaan (metabolisme) dari mencit selama beberapa hari (sementara) terhadap berat badannya. Dari empat mencit yang hidup, pada hari ke-2 semuanya mengalami penurunan berat badan sampai pada hari ke-4, mencit mengalami penurunan berat badan hingga mencapai (dibawah) berat badan mencit normal (sehat) ukuran (umur) dewasa. Sebagian mencit (kecuali mencit no 2) baru mengalami kenaikan berat badan pada hari ke-5 (menuju hari ke-6).

Secara umum didapatkan, bahwa mencit masih bisa memetabolisme (mentranslokasikan atau membiotransformasikan) ikan nila berformalin 10% dengan dosis 1000 mg/kg berat badan. Kondisi yang serupa terjadi pada dosis 5000 mg/kg berat badan ikan nila berformalin 10%, tetapi reaksi (perubahan berat badan) pada dosis ini

lebih mudah terlihat dan memiliki resiko untuk terjadinya kematian (letalitas). Dosis ini mendekati dosis LD_{50} ikan nila berformalin 10% yang diperoleh dari hasil percobaan, maka peluang terjadinya letalitas akan sangat tinggi.

4.3 Berat Organ (Hati dan Ginjal)

Pemberian zat kimia melalui oral yang secara cepat diabsorbsi dari saluran cerna, menurut teori akan memejani hati dengan kadar zat itu, suatu hal yang tidak akan terjadi dengan pemberian jalur lainnya. Bila suatu senyawa masuk ke dalam daur *enterohepati,* maka sekurang-kurangnya sebagian dari senyawa tersebut akan dilokalisir di dalam organ yang terlibat dalam daur tersebut (Loomis, 1978).

Autopsi kasar harus dilakukan pada semua hewan yang mati dan pada beberapa hewan yang hidup, terutama hewan yang tampak sakit pada akhir percobaan. Autopsi dapat memberikan informasi yang berharga tentang organ sasaran, terutama bila kematian tidak terjadi segera setelah pemberian zat kimia. Mungkin juga diperlukan pemeriksaan histopatologik organ tubuh dan jaringan tertentu. Warna dan penampilan sering dapat menunjukkan sifat toksisitas, seperti perlemakan hati atau sirosis. Biasanya berat organ merupakan penunjuk yang sangat peka dari efek pada hati. Meski suatu efek tidak selalu menunjukkan toksisitas, dalam kasus tertentu peningkatan berat hati merupakan kriteria paling peka untuk toksisitas. Berat ginjal itu sendiri atau berat badan hewan, biasanya, secara rutin ditentukan pada akhir penelitian toksisitas jangka pendek dan jangka panjang. Perubahan berat organ, bila dibandingkan dengan hewan pembanding, sering menunjukkan lesi ginjal. Beberapa lesi patologik lain juga dapat dideteksi pada pemeriksaan makroskopik (Lu, 1995).

Setelah 14 hari, dari tiga dosis yang digunakan, mencit yang masih hidup sebanyak 10 ekor, 6 ekor dosis 1000 mg/kg berat badan dan 4 ekor dosis 5000 mg/kg berat badan. Dilakukan autopsi kasar (pembedahan) pada 10 mencit yang masih hidup setelah 14 hari masa percobaan, autopsi dilakukan untuk memperoleh atau mengetahui kondisi organ dalam mencit terutama berat organ. Hasil yang diperoleh (berat organ hati dan ginjal) pada autopsi ini dapat dilihat pada tabel dibawah :

Tabel 11. Berat Organ (hati dan ginjal) mencit

Mencit	Berat Badan (gram)	Hati (gram)	Ginjal (gram)	% Hati	% Ginjal
A1	22	1.03	0.24	4.68	1.09
A2	28	1.2	0.31	4.29	1.11
A3	25	1.04	0.26	4.16	1.04
A4	29	1.26	0.31	4.35	1.07
A5	22	0.88	0.22	4	1
A6	29	1.16	0.29	4	1
B1	27	1.56	0.39	5.78	1.44
B3	20	0.91	0.28	4.55	1.4
B4	29	1.29	0.31	4.45	1.07
B6	28	1.41	0.34	5.04	1.21
Kontrol	27.33	1.01	0.26	3.71	0.97

Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Jenis zat yang belakangan ini biasanya dapat mengalami detoksifikasi, tetapi banyak toksikan dapat dibioaktifkan dan menjadi lebih toksik (Lu, 1995).

Data autopsi kasar menunjukkan adanya kenaikkan berat hati mencit. Kondisi ini menandakan terjadinya sesuatu yang tidak wajar telah dialami oleh hati. Indikasi awal penyakit yang dapat menaikkan berat hati mencit adalah perlemakan hati. Pembuktian

lebih lanjut tentang apa yang terjadi pada hati, sebaiknya dilakukan analisa terhadap jaringan atau sel organ.

Fungsi hati bersangkutan dengan metabolisme tubuh, khususnya mengenai pengaruhnya atas makanan dan darah. Hati merupakan pabrik kimia terbesar dalam tubuh dalam hal bahwa ia menjadi "*perantara metabolisme*", artinya ia mengubah zat makanan yang diabsorbsi dari usus dan yang disimpan di suatu tempat di dalam tubuh guna dibuat sesuai untuk pemakaiannya di dalam jaringan. Hati juga mengubah zat buangan dan bahan racun untuk dibuat mudah untuk diekskresikan ke dalam empedu dan urine (Pearce, 1991).

Setelah pemberian suatu senyawa pada hewan lewat jalur oral, maka absorbsi zat tersebut dari usus perlu melibatkan translokasi zat ke sistem limpa atau sirkulasi portal. Zat yang muncul di dalam sirkulasi portal akan dibawa secara langsung ke hati. Sejumlah besar senyawa asing yang muncul di dalam darah setelah absorbsi mereka dari usus, telah diketahui akan diekskresi oleh hati ke dalam empedu. Jadi akan terjadi suatu daur yang melibatkan translokasi zat kimia dari usus ke hati dan selanjutnya ke empedu serta kembali lagi ke usus. Daur ini disebut sebagai *sirkulasi enterohepatik* (Loomis, 1978).

Secara intrasel, paparan akut formalin pada hewan percobaan menyebabkan perlemakan hati dan degenerasi sel. Sedangkan paparan kronis menyebabkan menurunnya kadar elektrolit intra dan ekstrasel, disintegrasi sel, meningkatnya kekentalan darah, dan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna. Bila zat ini termakan dapat menyebabkan rasa terbakar di mulut dan tenggorokan, mual, muntah, sakit perut hebat, diare, vertigo, tidak bisa buang air kecil / buang air kecil berdarah, penurunan kesadaran,

kegagalan fungsi hati yang menyebabkan kuning pada kulit, kegagalan fungsi ginjal menyebabkan turunnya kadar protein albumin, keasaman darah meningkat, dan kejang (Fatimah, 2006).

Ginjal merupakan organ penting yang memiliki nilai toleransi yang sangat ringgi, ini terjadi karena fungsi ginjal sebagai penyaring akhir bagi metabolit tubuh. Autopsi ginjal yang diperoleh menunjukkan perbedaan antara ginjal mencit kontrol dengan ginjal mencit yang telah diberi larutan ikan nila berformalin 10%. Tetapi untuk membuktikan apakah larutan ikan nila berformalin 10% (formaldehid) sampai ke (merusak) ginjal, sebaiknya dilakukan analisa jaringan atau sel ginjal. Urin adalah jalur utama ekskresi sebagian besar toksikan. Akibatnya, ginjal mempunyai volume darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu. Karenanya, ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik. Fungsi utama ginjal adalah menyingkirkan buangan metabolisme normal dan mengekskresi xenobiotik dan metabolitnya. Hal ini dipengaruhi oleh produksi urin, suatu proses yang juga berperan dalam pemeliharaan status homeostatis tubuh. Selain itu ginjal mempunyai beberapa fungsi non-ekskretori (Lu, 1995).

Pemberian ikan nila berformalin 10% dengan dosis 1000 mg/kg berat badan hanya mengakibatkan sedikit kenaikkan berat ginjal (secara rata-rata). Kondisi berbeda dialami pada hewan percobaan dengan dosis 5000 mg/kg berat badan, dari 4 mencit yang hidup semua mengalami kenaikkan berat ginjal. Menurut sistem kerja ginjal sebagai penyaring akhir dari metabolisme tubuh, dengan kenaikkan berat ginjal ini, dapat dikatakan terjadi akumulasi bahan lain, selain bahan dari metabolisme secara normal. Kenaikkan berat ginjal ini dapat dianggap sebagai akibat dari pemberian ikan nila berformalin 10%. Menurut Ariens, Mutschler dan Simonis (1986), pada keracunan

metanol ada beberapa keistemewaan khas yang perlu diperhatikan. Keracunan ini tidak disebabkan oleh kerja toksik metanol sendiri melainkan oleh metabolitnya. Kebutaan akibat degenerasi saraf optik (*nervus opticus*) mungkin disebabkan oleh formaldehida. Gejala keracunan umum dan mematikan disebabkan oleh asidosis dan akibat pembentukkan asam formiat dalam jumlah besar.

4.4 SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase) dan SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase)

Pengamatan dapat memberikan bukti empiris mengenai pengaruh terhadap fungsi-fungsi fisiologis, seperti pertumbuhan dan perkembangbiakan, atau perubahan dalam pola-pola perilaku yang mempengaruhi kesempatan untuk selamat. Pilihan lain, pengaruh terhadap sistim spesifik seperti kegiatan enzim, jaringan, dan bagian tubuh memerlukan pemeriksaan laboratorium (Connell dan Miller, 1995).

Dalam pekerjaannya, hati kita membuat beberapa produk, termasuk jenis protein yang disebut sebagai enzim. Produk ini dapat keluar dari hati dan masuk ke aliran darah. Tingkat produk tersebut dapat diukur dalam darah. Kerusakan pada hati yang disebabkan oleh penyakit dapat memungkinkan produk tersebut masuk ke aliran darah dalam tingkat yang lebih tinggi. Jadi, tes yang mengukur tingkat produk ini, yang disebut sebagai tes fungsi hati (*liver function test*/LFT), dapat menujukkan tingkat kerusakan pada hati. Produk yang berikut biasanya diukur sebagai bagian dari tes fungsi hati:SGPT (serum glutamic piruvik transaminase) juga dikenal sebagai ALT (alanin aminotransferase), SGOT (serum glutamic oksaloasetik transaminase), juga dikenal sebagai AST (aspartat aminotransferase), Alkalin fosfatase, GGT (gamma-glutamil transpeptidase, atau gamma GT), Bilirubin, Albumin (Yayasan Spiritia, 2005).

Sebagai penunjang atau penguat untuk diagnosis atau pendugaan yang diberikan, maka dilakukan analisa laboratorium (di Laboratorium Patimura) pada sampel serum darah yang diperoleh dari mencit yang masih hidup setelah 14 hari. Analisa serum darah yang dilakukan meliputi analisa SGOT dan SGPT, dimana hasil analisa ini digunakan sebagai indikasi tingkat kesehatan atau kerusakan yang dialami hati. Hasil analisa laboratorium (SGOT, SGPT) dapat dilihat pada tabel dibawah :

Tabel 12. Hasil analisa SGOT dan SGPT

Mencit	**SGOT (U/L)**	**SGPT (U/L)**
A1	137	89
A2	113	78
A6	97	84
B1	192	61
B2	622	97
Kontrol	199.67	53.67

SGPT adalah lebih spesifik untuk kerusakan hati. SGPT merupakan enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), jadi lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Biasanya peningkatan SGOT terjadi bila ada kerusakan pada selaput sel hati. 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. SGOT adalah enzim mitokondria yang juga ditemukan dalam jantung, ginjal dan otak. Jadi tes ini kurang spesifik untuk penyakit hati. Dalam beberapa kasus peradangan hati, peningkatan SGPT dan SGOT akan serupa (Yayasan Spiritia, 2005).

Hasil analisa SGPT yang diperoleh menunjukkan terjadi peningkatan SGPT dibandingkan dengan rata-rata kadar SGPT kontrol. Kenaikkan terjadi pada dosis 1000 dan 5000 mg/kg berat badan. Kenaikkan yang terjadi, mengindikasikan hati mencit mengalami kerusakan (*hepatotoksik*). Pada tahap autopsi, berat hati mengalami kenaikkan yang kemudian ditunjang dengan adanya kenaikkan kadar SGPT, sebagai penguat bahwa terjadi kerusakan pada hati.

Kondisi sebaliknya terjadi pada kadar SGOT, dimana pada dosis 1000 mg/kg berat badan mengalami penurunan SGOT. Penurunan dapat terjadi ketikan hati tidak dapat melakukan fungsinya untuk membentuk enzim, dikarenakan hati telah mengalami kerusakan. Tanda terbaik adanya hepatotoksisitas adalah peningkatan pada enzim hati dalam darah. Yang paling penting adalah SGPT, SGOT, bilirubin, dan alkalin fosfatase (Yayasan Spiritia, 2005). Tetapi dikarenakan jumlah serum yang diperoleh terbatas maka pengujian hanya dilakukan untuk SGOT dan SGPT, dimana dua analisa ini dianggap sebagai indikasi awal kerusakan hati berdasarkan kualitas darah. Pendugaan awal terjadinya penurunan kadar SGOT adalah terjadinya pengentalan darah, serta terbentuknya sel darah merah yang prematur.

4.5 Kreatinin

Kadar kreatinin darah lebih tepat dalam penilaian *Glomerular Filtration Rate* (GFR), hal ini mempunyai alasan yaitu : 1. Sedikit sekali dipengaruhi oleh diet dan keadaan metabolik, 2. Terutama dipengaruhi oleh tebalnya otot-otot dan keadaan fungsi ginjal (Effendi dkk, 1981).

Sebagai penunjang atau penguat untuk diagnosis atau pendugaan yang diberikan, maka dilakukan analisa kreatinin (di Laboratorium Patimura) pada sampel serum darah

yang diperoleh dari mencit yang masih hidup setelah 14 hari. Analisa kreatinin yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui apakah larutan ikan nila berformalin 10% terdistribusi dan apakah terjadi kerusakan pada sistem filterisasi oleh ginjal akibat pemberian larutan. Hasil analisa kreatinin yang diperoleh dapat dilihat seperti pada Tabel 11 dibawah.

Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), data biologis mencit laboratorium (normal) khususnya untuk kreatinin sebesar 0,30-1,00 mg/dl.

Tabel 13. Hasil analisa kadar kreatinin dalam serum darah

Mencit	**Faal ginjal (creatinin) (mg/dl)**
A1	0.22
A2	0.16
A6	0.29
B1	0.34
B2	0.55
Kontrol	0.31

Kreatinin adalah produk endogenous akhir dari metabolisme keratin fosfat yang terjadi di dalam otot. Kreatinin dengan bebas melintas membrane glomerulus, tidak diserap kembali dalam filtrate, dan hanya sebagian kecil saja yang disekresi ke dalam tubulus nefron. Konsentrasinya di dalam plasma dan ekskresi total harianya tetap konstant meskipun ada perubahan-perubahan dalam makanannya. Oleh karena itu cukup mudah dan memadai untuk kebanyakan keperluan yang bersifat klinis. Secara patologis, pada saat penyakit-penyakit ginjal menurunkan sejumlah fungsi nefron, clearance kreatinin menurun dan kandungannya di dalam plasma menaik (Srigandono dan Praseno, 1992).

Hasil analisa kreatinin dalam darah yang diperoleh dari mencit yang masih hidup menunjukkan terjadi penurunan kadar kreatinin pada pemberian ikan nila berformalin 10% dengan dosis 1000 mg/kg berat badan. Sedangkan pada dosis 5000 mg/kg berat badan tidak terjadi penurunan kadar kreatinin. Penurunan kadar kreatinin dalam darah menunjukkan terjadinya sebuah kelainan pada sistem kerja ginjal, dengan hasil ini dapat dikatakan bahwa ginjal terpengaruh oleh pemberian ikan nila berformalin 10% dengan dosis sebesar 1000 mg/kg berat badan. Tetapi tidak terjadi pengaruh pada ginjal dengan dosis 5000 mg/kg berat badan berdasarkan hasil analisa kreatinin yang diperoleh.

Menurut Lu (1995), Kreatinin adalah suatu metabolit kreatin dan diekskresi seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Dengan demikian, meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal. Selain itu, data kadar kreatinin dalam darah dan jumlahnya dalam urin dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus. Satu kekurangan prosedur ini adalah kenyataan bahwa sebagian kreatinin disekresi oleh tubulus.

Kreatinin merupakan parameter yang digunakan untuk menyatakan (salah satu indikasi) kinerja sistim kerja ginjal. Dari hasil analisa tersebut masih dibutuhkan penelitian atau pengujian lebih lanjut untuk mengatakan bahwa ginjal telah mengalami kerusakan akibat pemberian ikan nila berformalin 10%, analisa tambahan atau lanjutan dapat dilakukan pada darah, urin maupun pada ginjal itu sendiri.

Pendugaan yang dapat diberikan pada kejadian penurunan kadar SGOT dan kreatinin adalah terbentuknya sel darah merah yang prematur, serta meningkatnya kekentalan darah. Menurut Fatimah (2006), Secara intrasel, paparan akut formalin pada hewan percobaan menyebabkan perlemakan hati dan degenerasi sel. Sedangkan paparan kronis menyebabkan menurunnya kadar elektrolit intra dan ekstrasel, disintegrasi sel,

meningkatnya kekentalan darah, dan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna. Bila zat ini termakan dapat menyebabkan rasa terbakar di mulut dan tenggorokan, mual, muntah, sakit perut hebat, diare, vertigo, tidak bisa buang air kecil / buang air kecil berdarah, penurunan kesadaran, kegagalan fungsi hati yang menyebabkan kuning pada kulit, kegagalan fungsi ginjal menyebabkan turunnya kadar protein albumin, keasaman darah meningkat, dan kejang. Tetapi untuk membuktikan apakah benar terjadi hal tersebut sebaiknya dilakukan penelitian hematologi lebih lanjut.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian LD_{50} ikan nila berformalin 10% diperoleh beberapa kesimpulan yaitu :

- Dosis LD_{50} ikan nila berformalin 10% sebesar 5453 mg/kg berat badan.
- Ikan nila berformalin 10% termasuk golongan bahan toksik ringan atau sedang
- Lambung dapat mentolerir ikan nila berformalin 10% dalam dosis tertentu
- Hati dan ginjal merupakan organ sasaran dari ikan nila berformalin 10%

5.2 Saran

Selesai melakukan penelitian LD_{50} ikan nila berformalin ini ada beberapa saran yang dapat diberikan, antara lain :

- Perlunya melakukan penelitian toksisitas sub akut dan kronik dengan mengunakan bahan yang sama.
- Penelitian terhadap ikan lain terutama ikan laut.
- Jangan menggunakan formalin sebagai pengawet makanan

DAFTAR PUSTAKA

Amiruddin, D, M. 2006. Formalin Dalam Makanan. http://www.freelists.org. Diakses hari Jum,at tanggal 20 Januari 2006.

Astawan, M. 2006. MI, Lezat Bergizi Tetapi Rawan Formalin. http://www.indosiar.com. Diakses 6 Agustus 2006. 5 hal

Astuti, M. 1986. Uji Gizi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta

Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara. Jakarta

Connell, W, D. Miller, J, G.1995. Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Depatemen Kelautan Perikanan Republik Indonesia. 2006. Penanganan Ikan dengan Formalin. http://www.dkp.ic.id/formalin/content/php/htm. Diakses tanggal 6 Agustus 2006.

Direktorat Jenderal Perikanan. 1982. Daftar Komposisi Bahan Pangan.. Bharta Karya Aksara. Jakarta.

Effendi, H, dkk. 1981. Fisiologi dan Pathofisiologi Ginjal, Cairan Tubuh, Keseimbangan Asambasa, Pengantar Nefrologi Klinik, Dasar-dasar Pathologi Ginjal. Penerbit Alumni. Bandung.

FAO Corporate Document Repository. 2007. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp; a Training Manual 2. Fisheries Department. Diakses 15 Mei 2007 pukul 06.20 WIB.

Fatimah, N. 2006. Ada Apa Dengan Formalin. http://www.percikan-iman.com/formalin. Diakses tanggal 21 Desember 2006.

Girindra, A. 1989. Petunjuk Praktikum Biokimia Patologi. Pusat antar Universitas Ilmu Hayat. IPB Bogor. Bogor

Hadi, S. Hidup Bersama Formalin. http://www.wikipedia.org/formalin. Diakses tanggal 27 Desember 2006.

Judarwanto, W. 2006. Formalin. http://www.wrm-indonesia.org/formalin. Diakses tanggal 27 Desember 2006

Kartikaningsih, H. 2006. Proposal Penelitian Disertasi. Program Studi Pendidikan Biologi Program Pasca Sarjana. Universitas Negeri Malang. Malang

Kiernan, A, J. 2000. Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde and Glutaraldehyde: What they are and What they do. Department of Anatomy & Cell Biology, The University of Western Ontario. London, Canada N6A 5C1.

_____. 2002. Preservation and Retrieval of Antigens for Immunohistochemistry–Methods and Mechanisms. 1. Effects of Formaldehyde Fixation. Department of Anatomy & Cell Biology, The University of Western Ontario. London, Canada N6A 5C1.

Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Loomis, T, A. 1978. Toksikologi Dasar. Henry Kimpton Publishers. London.

Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar. Alih Bahasa: Edi Nugroho. Universitas Indonesia Press. Jakarta

Moeljanto, R. 1992. Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan. Penebar Swadaya. Jakarta.

Ndraha, T. 1981. Research : Teori, Metodologi, Administrasi. PT. Bina Aksara. Jakarta

Noor, I. 1991. Metodologi Penelitian Ilmu-Ilmu Sosial. PPIIS UNIBRAW dengan RUL-Social Science Project. Malang

Nurachman, Z. 2006. Formalin. http://www.Gatra.com/formalin. Diakses tanggal 21 Desember 2006.

Pearce, C, E. 1991. Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Simanjuntak, J.W. 2005. Penyalahgunaan Formalin sebagai Pengawet Ikan, Mungkinkah Mencari Penggantinya. http://www.pom.go.id. Diakses 8 agustus 2006. 2 hal

Smith, J.B. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Alih Bahasa : Soesanto Mangkuwidjojo. UI Press. Jakarta

Speid, G and Schimd, O. 2006. Local Genotoxic Effects of Formaldehyde in Humans Measured by the Micronucleus Test With Exfoliated Epithelial Cells. Universita¨ t Ulm, Abteilung Humangenetik, D-89070 Ulm. Germany

Srigandono, B dan Praseno, K. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Suhardjono. 1995. Pengetahuan, Ilmu, Filsafat Ilmu dan Penelitian. Universitas Brawijaya. Malang

Surakhmad, W. 1994. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Tarsito. Bandung

U.S. Departement of Health and Human Services. 1999. Toxicological Profile for Formaldehyde. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Widaryana, D.M. 2006. Formalin yang Kontroversial. http//www.distan.pemde-diy.go.id/formalin. Diakses tanggal 20 januari 2006.

WHO. 2002. Concise International Chemocal Assessment Document 40 Formaldehyde. Geneve : World Health Organization

www.republika.co.id. Awas Formalin di Plastik Makanan. Diakses hari Jumat tanggal 20 Januari 2006.

www.wikipedia.org/wiki/Mus-musculus. House Mouse, Mus musculus. Diakses tanggal 13 Januari 2007.

www.warintek.progresio.or.id/nila. Budidaya Ikan Nila (Oreocromis niloticus). Diakses tanggal 13 Januari 2007.

www.wikipediai.org/wiki/formalin. Formaldehida. Diakses tanggal 21 Desember 2006

www.warintek.progesio.or.id/ttg/pangan/n_keamanan. Jangan Gunakan Formalin untuk Pengawetan Pangan. Diakses tanggal 21 Desember 2006.

Yayasan Spiritia. 2005. Tes Fungsi Hati. Lembaran Informasi 109. Jakarta.

Yuswanto. 2006. Formalin Tidak Berbahaya. http://www.jawapos.co.id. Diakses 20 Juli 2006. 2 hal

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN
Jl. Mayjen Haryono 161 Tlp. 551611 Pes. 216, Fax. 0341-553512 Malang 65145

LEMBAR REVISI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : M. JAHUJURI

Nim : 0210830052

Prodi : Teknologi Hasil Perikanan

Judul : KAJIAN LD_{50} IKAN NILA (*Tilapia niloticus*) BERFORMALIN 10% DENGAN MENGGUNAKAN HEWAN PERCOBAAN MENCIT (*Mus musculus*).

Pembimbing I : Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS

Pembimbing II: Ir. DWI SETIJAWATI, Mkes.

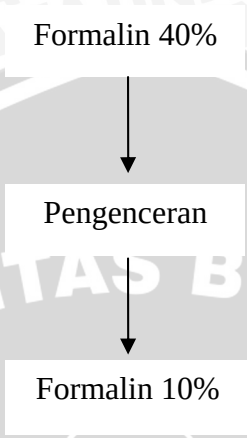
Tanggal Ujian : 22 Juni 2007.

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa dibawah ini telah melaksanakan ujian skripsi dan terdapat revisi seperti pada kolom berikut :

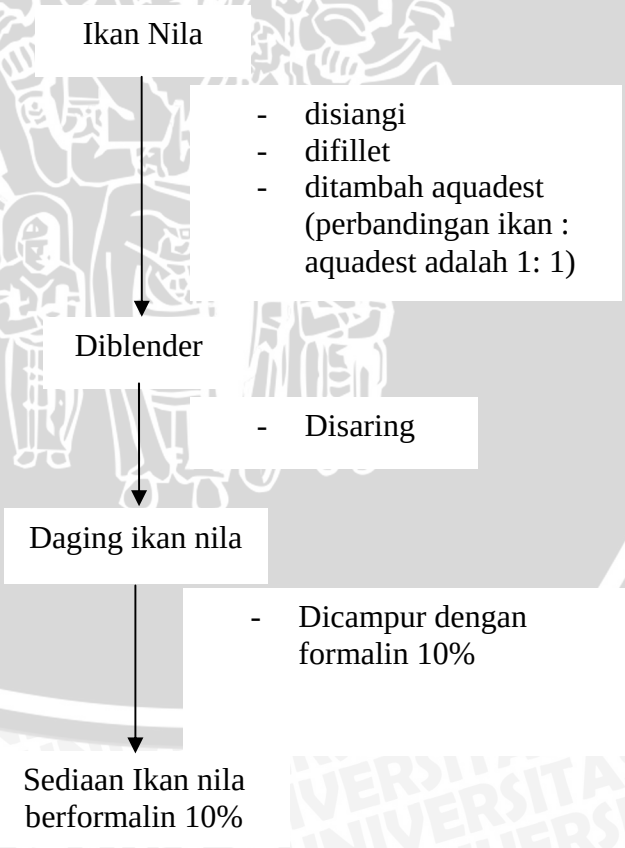
No.	Uraian	Keterangan Sebelum Revisi	Keterangan Sesudah Revisi	Hal
1	Alasan pemilihan spesies mencit sebagai hewan percobaan	Belum ada	Sudah ada	
2	Pemekatan konsentrasi formalin dari 40% menjadi 50%	Belum ada	Sudah ada	33-34
3	Dosis bahaya ikan nila berformalin 10% pada manusia	Belum ada	Sudah ada	
4	Kandungan formalin pada ikan yang terdapat dilapang	Belum ada	Sudah ada	4
5	Kegunaan penelitian LD_{50}	Kurang jelas	Sudah ada	42
6	Penulisan angka dengan 2 angka dibelakang koma	Lebih dari 2 angka	Sudah diperbaiki	41,51

Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Sediaan Larutan Formalin dan Ikan Nila Berformalin 10%

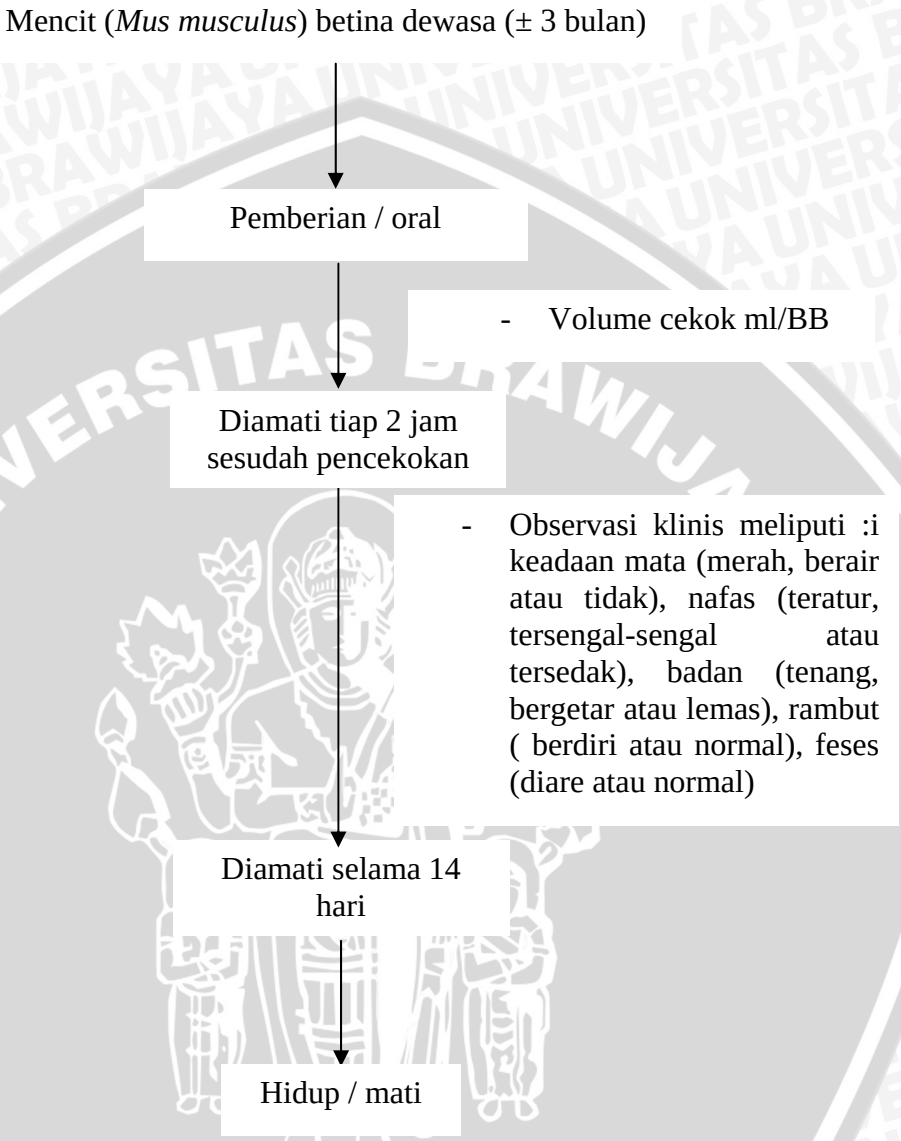
1. Sediaan Larutan Formalin 10%



2. Sediaan Larutan Ikan Nila Berformalin 10%



Lampiran 2. Prosedur Pemberian Ikan Nila Berformalin 10%



Lampiran 3. Prosedur Pembedahan, Pengambilan Darah dan Organ

Lampiran 4. Prosedur Pengujian SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase) dan SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase) Metode Kolorimetri Reitman dan Frankel

1. Pengujian SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase)

Pembuatan Larutan :

a. Larutan a (larutan buffer substrat), terdiri dari 100 m mol/lt buffer fosfat 7,4; 100 m mol/ lt D-L alanin, 2 m mol/lt 2 oksoglutarat
b. Larutan b (pereaksi warna), terdiri dari 1,5 m mol/l 2,4 dinitrofenil hidrazin
c. Larutan c (larutan sodium hidroksida), terdiri dari 0,4 mol/lt sodium hidroksida
d. Larutan d (larutan standar), terdiri dari 2 m mol/lt sodium piruvat

Prosedur Pengujian :

a. Larutan a dalam botol dilarutkan dengan 30 ml aquabides, larutan c dilarutkan dalam 1000 ml aquabides ditempat dari gelas. Untuk setiap contoh harus disediakan satu blanko.
b. Dua tabung reaksi diisi 0,5 ml buffer. Tabung pertama untuk contoh,tabung kedua untuk blanko. Inkubasikan pada penangas air suhu 37^0C selama 5 menit. Tambahkan kedalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 0,1 ml. campur lagi dan inkubasikan selam 30 menit suhu 37^0C.
c. Tambahkan kemasing-masing tabung 0,5 ml pereaksi warna. Pada blanko tambahkan 0,1 ml serum. Campurkan dan biarkan pada suhu 15-25^0C selama 20 menit tepat. Tambahkan kedalam masing-masing tabung 5,0 ml larutan c. Campurkan. Setelah 5-30 menit diukur absorbansinya

dengan panjang gelombang 500-560 nm. Bila nilai absorbansinya lebih dari 90 µ/lt, enceerkan 0,2 ml serum dengan 0,8 ml larutan garam fisiologis. Ulangi analisis dengan 0,2 ml larutan yang sudah diencerkan dan kalikan hasilnya dengan 5.

d. Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran sebagai berikut :

No. Tabung	Lar. Standar (ml)	Lar. Buffer (ml)	Metod UV µ/lt
1.	0.0	1.00	0
2.	0.10	0.90	14
3.	0.20	0.80	32
4.	0.30	0.70	51
5.	0.40	0.60	69
6.	0.50	0.50	92

e. Campurkan dan tambahkan pereaksi warna kedalam setiap tabung sebanyak 0,1 ml. biarkan selama 20 menit pada suhu 15-25^{0}C. Tambahkan larutan c 0,4 mol/lt sebanyak 10 ml kedalam setiap tabung. Campur baik-baik. Sesudah 5-20 menit, ukur absorbansinya dari tabung 2-6 terhadap larutan nomor satu pada panjang gelombang 500-560 nm.

2. Pengujian SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase)

Pembuatan Larutan :

a. Larutan a (larutan buffer substrat), terdiri dari 100 m mol/lt buffer fosfat 7,4; 100 m mol/ lt L-aspartat, 2 m mol/lt 2 oksoglutarat. Larutkan semuanya dalam 30 ml aquabides

b. Larutan b (pereaksi warna), terdiri dari 1,5 m mol/l 2,4 dinitrofenil hidrazin

c. Larutan c (larutan sodium hidroksida), terdiri dari 0,4 mol/lt sodium hidroksida. Larutkan dalam 1000 ml aquades dalam tempat gelas.

d. Larutan d (larutan standar), terdiri dari 2 m mol/lt sodium piruvat

Prosedur Pengujian :

a. Dua tabung reaksi diisi 0,5 ml buffer substrat.. Tabung pertama untuk contoh, tabung kedua untuk blanko. Inkubasikan pada penangas air suhu 37^0C selama 5 menit. Tambahkan kedalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 0,1 ml. campur lagi dan inkubasikan selam 30 menit suhu 37^0C.

b. Tambahkan kemasing-masing tabung 0,5 ml pereaksi warna. Pada blanko tambahkan 0,2 ml serum. Campurkan dan biarkan pada suhu 15-25^0C selama 20 menit tepat. Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 5,0 ml larutan c. Campurkan. Setelah 5-30 menit diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 500-560 nm. Bila nilai absorbansinya lebih dari 86 µ/lt, enceerkan 0,2 ml serum dengan 0,8 ml larutan garam fisiologis. Ulangi analisis dengan 0,2 ml larutan yang sudah diencerkan dan kalikan hasilnya dengan 5.

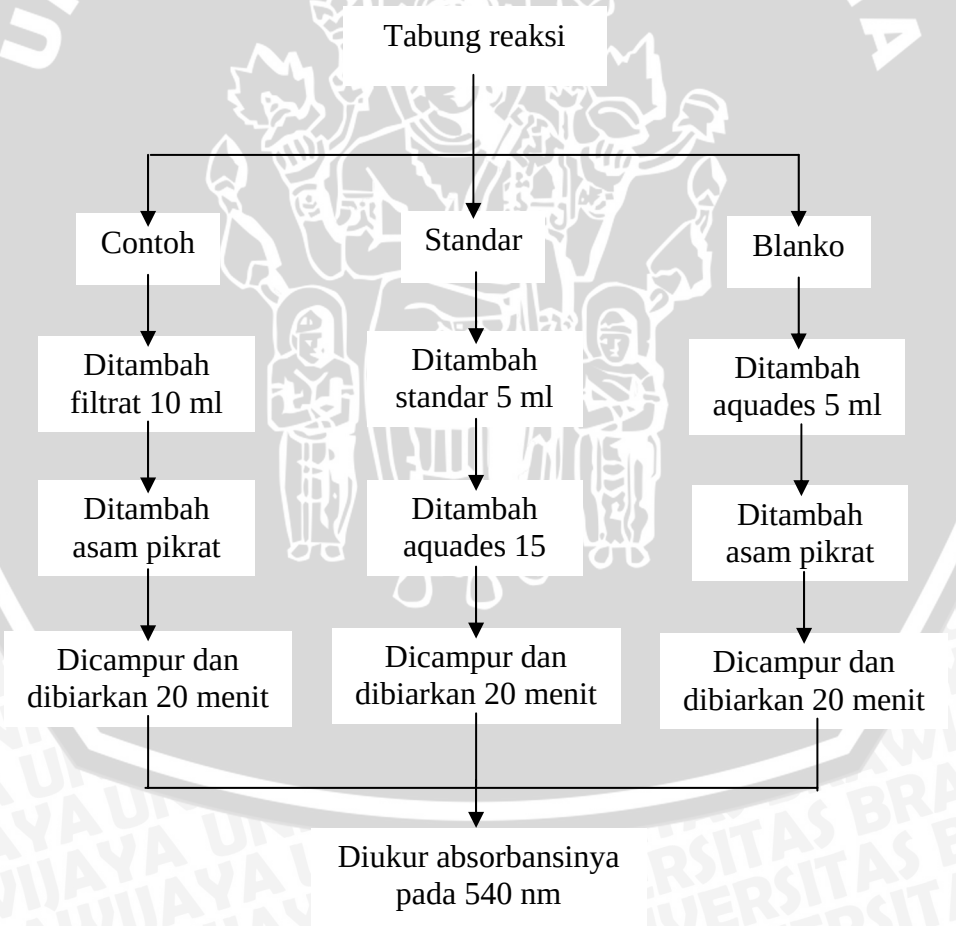
c. Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran sebagai berikut :

No. Tabung	Lar. Standar (ml)	Lar. Buffer (ml)	Metod UV µ/lt
1.	0.0	1.00	0
2.	0.05	0.95	9
3.	0.10	0.90	21
4.	0.15	0.85	36
5.	0.20	0.80	60
6.	0.25	0.75	95

d. Campurkan dan tambahkan pereaksi warna kedalam setiap tabung sebanyak 1 ml. biarkan selama 20 menit pada suhu 15-25^{0}C. Tambahkan larutan c 0,4 mol/lt sebanyak 10 ml kedalam setiap tabung. Campur baik-baik. Sesudah 5-20 menit, ukur absorbansinya dari tabung 2-6 terhadap larutan nomor satu pada panjang gelombang 500-560 nm.

Lampiran 5. Prosedur Pengujian Kreatinin dalam Darah Metode Jaffe

Pereaksi :

- asam pikrat jenuh, NaOH 10%, standar kreatinin 0,005 mg/ml
- campur 15 ml asam pikrat jenuh dengan 3 ml NaOH 10% untuk membuat asam pikrat basa, dibuat 15 menit sebelum dipakai
- Filtrat Folin WU (H_2O 14 ml, H_2SO_4 2/3 N 2 ml, Na-woframat 10% 2 ml, darah 2 ml, semuanya dicampur kemudian disaring)

Prosedur Pengujian :