

**PENGARUH PAPARAN BERULANG 0,2 ppm IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) BERFORMALIN PER ORAL SELAMA 3 BULAN
TERHADAP APOPTOSIS SEL HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

LAPORAN SKRIPSI

TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

Oleh:

ANANG TRIJAYANTO MULYO

NIM. 0410830009



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2008**

**PENGARUH PAPARAN BERULANG 0,2 ppm IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) BERFORMALIN PER ORAL SELAMA 3 BULAN
TERHADAP APOPTOSIS SEL HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

Oleh:

ANANG TRIJAYANTO MULYO

NIM. 0410830009

Dosen Penguji I

Ir. Sukoso, MSc. PhD
NIP. 131 857 373
Tanggal:

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

Dr.Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 131 574 867
Tanggal:

Dosen Penguji II

Ir. Dwi Setijawati, M Kes
NIP. 131 759 606
Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Ir. Hartati Kartika Ningsih, MS
NIP. 131 839 366
Tanggal:

Mengetahui
Ketua Jurusan MSP

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

RINGKASAN

ANANG TRI JAYANTO MULYO. NIM 0410830009. Skripsi tentang Pengaruh Paparan Berulang 0,2 ppm Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Per Oral Selama 3 Bulan Terhadap Apoptosis Sel Hati Mencit (*Mus Musculus*) Betina. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS** dan **Ir. HARTATI KARTIKA NINGSIH, MS**

Pengawetan ikan biasa dilakukan menggunakan es. Namun saat ini masyarakat pengolah ikan banyak menyalahgunakan penggunaan formalin sebagai pengawet ikan. Formalin dapat menyebabkan kerusakan organ terutama hati. Efek paparan berulang ikan berformalin dengan konsentrasi yang digunakan dipasaran dalam jangka waktu tertentu menjadi hal yang menarik untuk diteliti sebagai pengetahuan bahaya penyalahgunaan formalin sebagai bahan tambahan makanan di pasaran.

Penelitian skripsi ini di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA dan Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2007 – Maret 2008. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek akibat konsumsi ikan berformalin selama 1 bulan terhadap kerusakan makroskopis dan mikroskopis hati. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen.

Formalin berikatan silang dengan protein dan membentuk jembatan metilen. Asam amino pada ikan nila yang berikatan dengan formalin antara lain asam aspartat, serin, asam glutamat, threonin, arginin, prolin, sistein, dan metionin. Asam amino yang mengalami metilasi adalah arginin dan metionin. Paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak menyebabkan kerusakan hati secara makroskopis. Pengamatan mikroskopis pada sel hati menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel apoptosis secara signifikan ($p < 0,05$). Jika kita mengkonsumsi ikan yang ada

dipasaran sebanyak 71g setiap hari selama tiga bulan, maka hal ini akan berpotensi menyebabkan kerusakan hati. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang efek paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral pada jangka waktu yang lebih lama.



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan YME yang dengan rahmat dan hidayahnya penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

- Dr.Ir Happy Nursyam, MS dan Ir. Hartati Kartika Ningsih, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberi masukan dan bimbingan serta pengarahan.
- Ayah tercinta, Mas Edi, dan Almarhum ibu yang selalu memberi berjuta-juta kasih sayang, dorongan, semangat dan terutama doa yang selalu menyertaiku dan menguatkanku serta memberiku bimbingan moril dan material.
- Seseorang yang selalu memberi semangat dan sumber inspirasi.
- Serta semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya laporan ini.

Penulis menyadari adanya keterbatasan dan kekurangan dalam penyusunan laporan ini. Oleh sebab itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Penulis tetap berharap semoga laporan ini dapat memberikan manfaat, informasi dan pengetahuan bagi semua pihak yang membutuhkannya. "Amin".

Malang, Mei 2008

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	2
Hipotesa	2
Kegunaan Penelitian	2
Tempat dan Waktu	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	
Ikan Nila	3
Formalin	3
Paparan Ikan Berformalin	4
Efek Formaldehid Terhadap Tubuh	6
Formalin Dalam Tubuh	7
Apoptosis Sel	9
Mencit (<i>Mus Musculus</i>)	11

3. METODE PENELITIAN

Materi Penelitian	13
Alat Penelitian	13
Bahan Penelitian	13
Metode Penelitian	13
Variabel Penelitian.....	14
Rancangan Percobaan	14
Analisis Data	15
Prosedur Penelitian	15
..... Persiapan Bahan Percobaan	15
..... Penyediaan Formalin 0,2 ppm	15
..... Penyediaan Ikan 0,2 ppm	16
..... Penyediaan Ikan Berformalin 0,2 ppm.....	17
..... PENCEKOKAN	18
..... Penyediaan Serum Mencit	19
Parameter Uji	20
..... Analisa SGOT (Transaminase Asam Glutamat Oksaloasetat) Metode Kolorimetri Reitmen dan Frankel (Girindra, 1998).....	20
..... Analisa SGPT (Transaminase Asam Glutamat Piruvat) Metode Kolorimetri Reitmen dan Frankel (Girindra, 1998).....	20
..... Berat Organ Hati	20
..... Cara Pembuatan jaringan Hepar dan Pengamatan Sel Apoptosis.....	20

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian	21
SGOT (<i>Serum Glutamic Oxaloacetat Transaminase</i>)	21
SGPT (<i>Serum Glutamic Piruvat Transaminase</i>).....	21
Berat Organ Hati	22
Apoptosis Sel Hati	23
Pembahasan.....	23
SGOT (<i>Serum Glutamic Oxaloacetat Transaminase</i>)	23

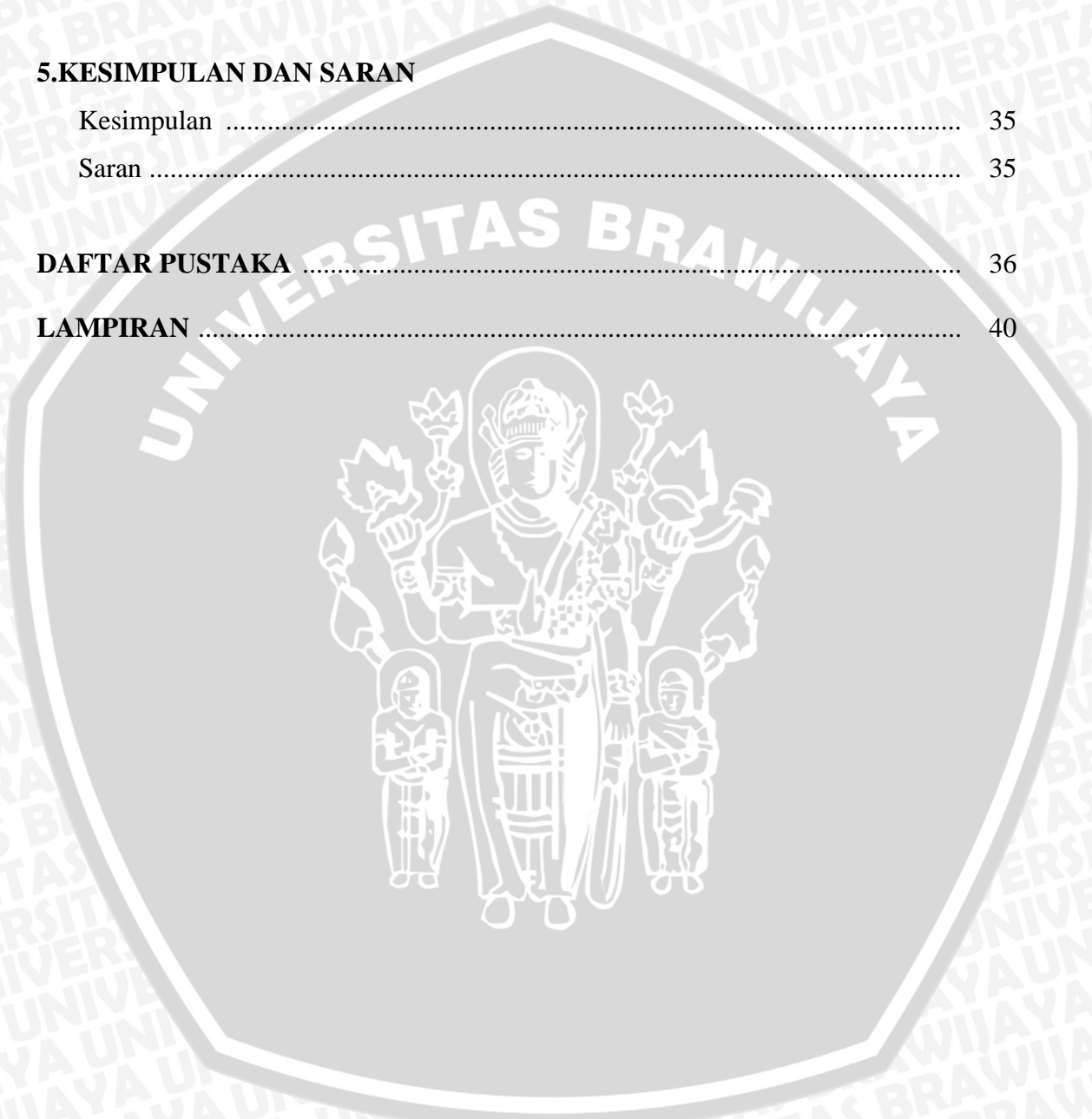
SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transaminase*)..... 26
Berat Organ Hati 28
Apoptosis Sel Hati 30

5.KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan 35
Saran 35

DAFTAR PUSTAKA 36

LAMPIRAN 40

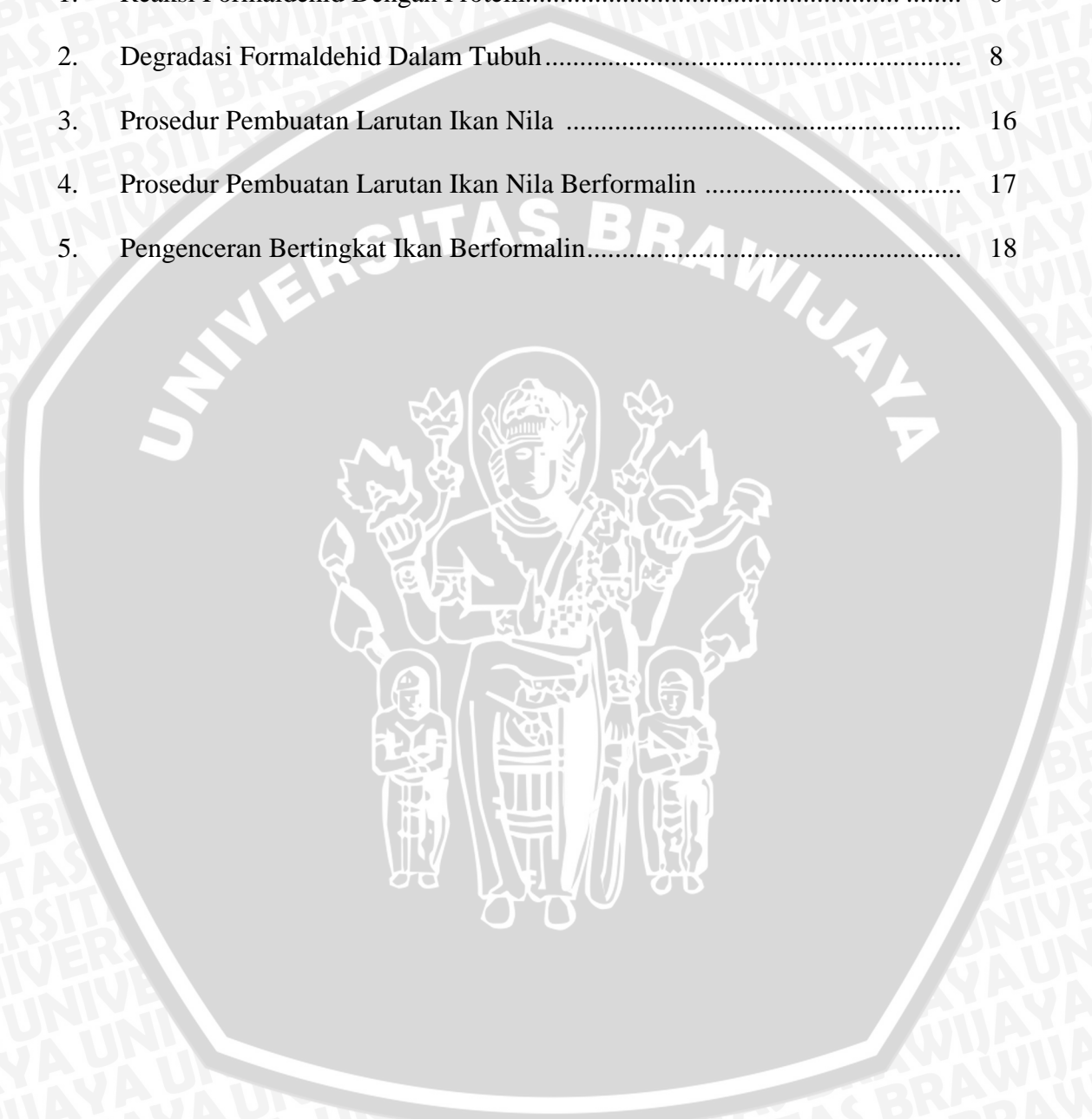


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Ikan Nila	3
2. Data Hematologi Mencit	12
3. Bentuk Rancangan Penelitian	14
4. Rerata Kadar SGOT Dalam Darah	21
5. Rerata Kadar SGPT Dalam Darah	22
6. Rerata Berat Organ Hati Mencit Selama Perlakuan	22
7. Rerata Apoptosis Sel Hati Mencit Selama Perlakuan	23
8. Kadar SGOT Dalam Darah Mencit Tiap Perlakuan	24
9. Kadar SGOT Dalam Darah Mencit Selama Selama 3 Bulan	24
10. Kadar SGPT Dalam Darah Mencit Tiap Perlakuan	26
11. Kadar SGPT Dalam Darah Mencit Selama Selama 3 Bulan	26
12. Berat Organ Mencit Tiap Perlakuan	28
13. Berat Organ Hati Mencit Selama Selama 3 Bulan	28
14. Apoptosis Sel Hati Mencit Tiap Perlakuan.....	30
15. Apoptosis Sel Hati Mencit Selama Selama 3 Bulan	30
16. Penurunan kadar asam amino ikan nila setelah direndam dalam formalin.....	32
17. Kurva Kalibrasi Analisa SGOT	41
18. Kurva Kalibrasi Analisa SGPT	43

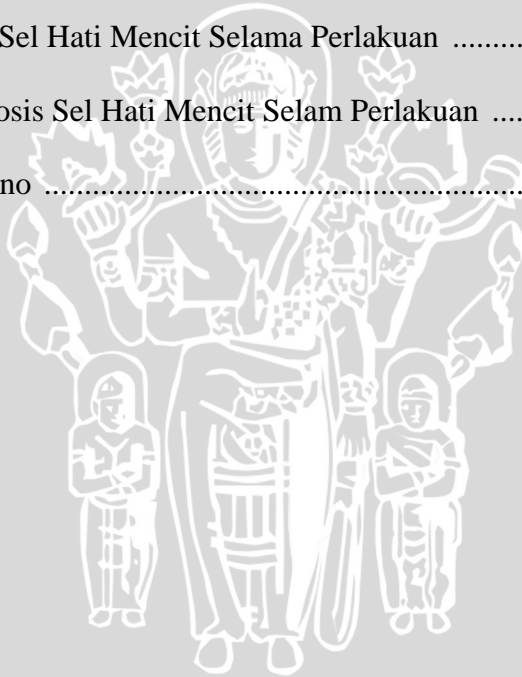
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Reaksi Formaldehid Dengan Protein.....	6
2. Degradasi Formaldehid Dalam Tubuh.....	8
3. Prosedur Pembuatan Larutan Ikan Nila	16
4. Prosedur Pembuatan Larutan Ikan Nila Berformalin	17
5. Pengenceran Bertingkat Ikan Berformalin.....	18



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara Pengujian SGOT	40
2. Cara Pengujian SGPT	42
3. Cara Pembuatan Jaringan Hepar dan Pengamatan Sel Apoptosis	44
4. Analisa Kadar SGOT Dalam Darah Mencit Selama Perlakuan.....	46
5. Analisa Kadar SGPT Dalam Darah Mencit Selama Perlakuan	49
6. Analisa Berat Organ Hati Mencit Selama Perlakuan.....	52
7. Analisa Apoptosis Sel Hati Mencit Selama Perlakuan	55
8. Gambar Sel Apoptosis Sel Hati Mencit Selam Perlakuan	58
9. Analisa Asam Amino	59



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penanganan pasca panen ikan nila biasa dilakukan menggunakan es sebagai bahan pengawet. Namun saat ini masyarakat pengolah ikan telah menyalahgunakan penggunaan formalin sebagai bahan pengawet ikan. Menurut Jahujuri (2007), hasil penelitian di lapang yang telah dilakukan menunjukkan kandungan formalin dalam daging ikan dan olahannya sebesar 100 *ppm* hingga 10.000 *ppm*. Padahal formalin dilarang untuk digunakan sebagai bahan tambahan makanan sejak Oktober 1988 melalui Permenkes nomor 1168/Menkes/Per/X/1988.

Formalin merupakan bahan toksik yang sangat berbahaya bagi tubuh, terutama organ hati. Paparan kronis menyebabkan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna (Fatimah, 2007). Menurut Kusumaningtyas (2007), dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa konsumsi ransum yang mengandung formalin dengan konsentrasi setara dengan produk perikanan di pasaran berpengaruh terhadap pertumbuhan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus. Hati sering menjadi organ sasaran toksikan karena beberapa hal, sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui system gastrointestinal, dan setelah diserap toksikan dibawa oleh vena porta ke hati (Lu, 1995). Sel hati yang terkena pengaruh toksikan menjadi lebih besar (hipertrofi sel hati) dan berat hati secara keseluruhan menjadi lebih besar (Koeman, 1987). Adanya efek berbahaya formalin terhadap kerusakan hati menjadi hal menarik untuk diteliti sebagai pengetahuan efek konsumsi ikan berformalin yang ada di pasaran setiap hari.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah konsumsi ikan berformalin yang ada di pasaran setiap hari selama 3 bulan dapat menyebabkan kerusakan makroskopis dan mikroskopis organ hati?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan efek akibat konsumsi ikan berformalin yang ada di pasaran setiap hari selama 3 bulan terhadap apoptosis sel hati.

1.4 Hipotesa

Diduga paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama tiga bulan menyebabkan peningkatan jumlah apoptosis sel hati mencit (*Mus musculus*).

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah (1) Sebagai dasar pertimbangan kepada masyarakat pengolah ikan untuk memilih bahan pengawet ikan yang aman bagi kesehatan, (2) Sebagai informasi kepada masyarakat, lembaga, dan instansi lain mengenai efek toksikologi ikan berformalin, (3) Sebagai dasar pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA dan Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2007 – Maret 2008.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila memiliki bentuk tubuh agak memanjang dan pipih ke samping, warnanya putih kehitam-hitaman, dan makin ke bagian perut makin terang. Pada bagian perut terdapat sepuluh buah garis vertikal berwarna hijau kebiru-biruan sedangkan pada sirip ekor terdapat delapan buah garis melintang yang ujungnya berwarna kemerah-merahan. Mata ikan nila tampak menonjol agak besar dan dipinggirnya berwarna kebiru-biruan. Mulut terminal, linea lateralis terputus menjadi dua bagian dan bentuk sirip stenoit. Dari kebiasaan makannya, ikan nila termasuk ikan omnivora yaitu pemakan segala (Murtidjo, 2001).

Ikan nila adalah salah satu komoditas budidaya yang memiliki 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 (DKP, 2005). Komposisi kimia ikan nila dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Nila

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

Sumber: Dolaria (2003)

2.2 Formalin

2.2.1 Penyalahgunaan Formalin

Formalin adalah nama dagang dari larutan formaldehid dalam air dengan kadar 36-40%. Formalin biasanya juga mengandung alkohol (methanol) sebanyak 10-15% yang

berfungsi sebagai stabilisator supaya formaldehid tidak mengalami polimerisasi. (Hadiwiyoto, 1983). Formalin mempunyai banyak nama kimia antara lain Formol, Methylene aldehyde, Paraforin, Morbucid, Oxomethane, Polyoxymethylene glycols, Methanal, Formoform, Superlysoform, Formic aldehyde, Formalith, Tetraoxymethylene, Methyl oxide, Karsan, Trioxane, Oxymethylene dan Methylene glycol (Judarwanto, 2006). 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).

Penggunaan formalin yang salah adalah hal yang sangat disesalkan. Melalui sejumlah survey dan pemeriksaan laboratorium, ditemukan sejumlah produk pangan yang menggunakan formalin sebagai pengawet. Beberapa contoh produk yang sering mengandung formalin misalnya ikan segar, ayam potong, mie basah dan tahu yang beredar di pasaran. (POM, 2005). Dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Men.Kes/Per/IX/88 formalin dilarang untuk digunakan dalam makanan maupun minuman (Widianarko *et al*, 2000). Pemakaian formalin pada ikan segar dimaksudkan untuk mengganti es balok sebagai pengawet yang harganya jauh lebih mahal (Fatimah, 2006).

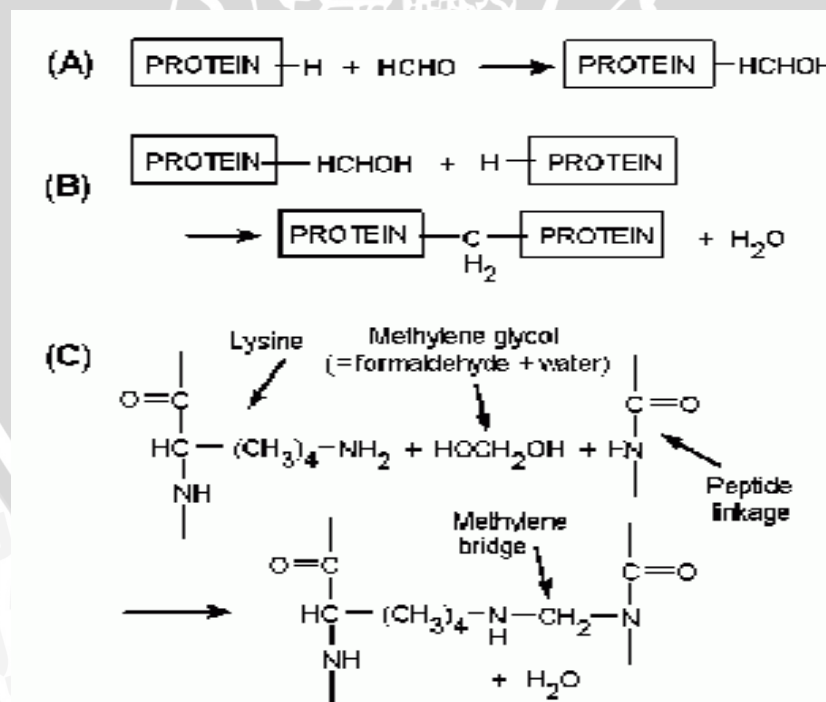
2.2.2 Formalin dan Daging Ikan

Protein daging ikan terdiri dari protein yang larut air sebesar 20-30% dan sebagian besar protein myofibril (Instalasi Penelitian Perikanan Laut, 1982). Protein myofibril tersusun dari myomer. Myomer akan mudah terlihat saat kulit ikan dikupas (Migdalski dan Fitcher, 1983). Selama ikan direndam dalam formalin, maka formalin

akan masuk kedalam daging ikan, yaitu pada bagian miomer dari daging ikan karena miomer adalah segmen-segmen yang merupakan penyusun dari jaringan pengikat yang terlihat pada permukaan luar badan ikan. Pada bagian miomer dari daging ikan terdapat protein yang dinamakan stroma, protein inilah yang akan berikatan dengan formalin sehingga membentuk ikatan methylene (Hadiwiyoto, 1993).

2.2.3 Ikatan Silang Formaldehid

Kiernan (2000) mengatakan bahwa kelompok aldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom lain dari protein yang akan membentuk ikatan silang $-CH_2-$ yang disebut sebagai jembatan methylene. Menurut Skrzydlewska et al., (1999), formaldehid sangat mudah bereaksi dengan sistein, metionin, lisin, arginin, tirosin sampai kadar terkecil dari residu asam amino lain. Ikatan silang pada protein dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi formaldehid dengan protein (Kiernan, 2000).

Formaldehid bebas berinteraksi dengan molekul membran sel dan jaringan tubuh dan cairan (seperti protein dan DNA) dan merusak fungsi sel. Konsentrasi tinggi dapat menyebabkan presipitasi protein, yang menyebabkan kematian sel (Amiruddin, 2006). Paparan formaldehid menyebabkan terbentuknya ikatan silang DNA-protein sebagai bentuk utama dari kerusakan DNA (Quievryn dan Zhitkovich, 2000). Paparan formaldehid terhadap sel menyebabkan terbentuknya ikatan silang DNA-protein (DPC) dan pemecahan untaian tunggal DNA pada berbagai tipe sel (Grafstrom *et al*, 1984).

Pembentukan jembatan methylene menyebabkan terjadinya efek pengerasan pada protein oleh formaldehid. Adanya ikatan silang menyebabkan formalin berikatan kuat dengan protein sehingga formaldehid pada daging ikan tidak dapat dihilangkan. Protein yang berikatan dengan formaldehid menyebabkan kualitas protein menurun dan bila dikonsumsi, ada sebagian kecil formaldehid bebas yang terikat dalam metabolisme tubuh (Nurachman, 2005).

2.3 Hati

Setelah pemberian suatu senyawa pada hewan lewat jalur oral, maka absorpsi zat dari usus perlu melibatkan transformasi zat ke sistem limfa atau ke sirkulasi portal. Zat yang muncul dalam sirkulasi portal akan dibawa langsung ke hati (Loomis, 1978). Hati memegang peranan yang besar dalam proses detoksifikasi (Budiono dan Kamal, 2007). Hati merupakan organ yang sangat penting dan memiliki aneka fungsi dalam proses metabolisme sehingga organ ini sering terpajan zat kimia. Zat kimia tersebut akan mengalami detoksikasi dan inaktivasi sehingga menjadi tidak berbahaya bagi tubuh. (Wibowo *et al*, 2005). Menurut Lu (1995), hati sering menjadi organ sasaran toksikan karena beberapa hal, sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui system

gastrointestinal, dan setelah diserap toksikan dibawa oleh vena porta ke hati. Hati mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik dalam hati juga tinggi, hal ini membuat toksikan menjadi kurang toksik dan mudah larut dalam air dan karenanya lebih mudah diekskresikan.

Dalam jumlah sedikit, formalin akan larut dalam air, serta akan dibuang ke luar bersama cairan tubuh. Sehingga formalin sulit dideteksi keberadaannya di dalam darah (Judarwanto, 2006). Pada dasarnya, formaldehid dalam jaringan tubuh sebagian besar akan dimetabolisir oleh enzim formaldehid dehidrogenase menjadi asam format yang kemudian diekskresikan tubuh melalui urin dan sebagian dirubah menjadi CO₂ yang dibuang melalui nafas (Wikipedia, 2007). Formaldehid dehidrogenase adalah enzim yang berperan dalam degradasi formaldehid (IARC, 2005).

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). Keadaan ini biasa disebut iskemia. Iskemia-reperfusi pada sel merupakan sebuah fenomena, dimana episode iskemia yang biasanya bersifat sementara, segera diikuti oleh episode reperfusi. Episode iskemia-reperfusi memberikan efek yang berbeda terhadap kematian sel. Fenomena iskemia-reperfusi bisa berlangsung sesaat dan bersifat akut, bisa pula berkepanjangan dan bersifat kronik. Episode iskemia-reperfusi yang berlangsung sesaat bersifat akut menyebabkan kerusakan sel yang ringan atau sedang dan memicu terjadinya kematian sel secara terprogram (apoptosis) (Baraas, 2000).

2.4 Apoptosis Sel

Ada 2 mekanisme kematian sel, yaitu secara apoptosis dan nekrosis. Kedua mekanisme ini sesungguhnya merupakan fenomena morfologik. Kedua fenomena ini bisa disebabkan oleh stres oksidatif sebagai pemicu awalnya, tapi proses kematian selanjutnya sangat berbeda. Kematian sel karena nekrosis ditandai dengan terjadinya edema sel (swelling) dan perubahan mitokondria yang semula masih reversibel, lalu menjadi ireversibel dan selanjutnya terjadi pemecahan membran sel, sehingga seluruh isi sel berhamburan keluar dari sel. Berbeda dengan nekrosis, secara morfologik kematian sel karena apoptosis diawali dengan terjadinya penciutan sel (shrinkage), benjolan-benjolan membran (blebbing) dan kondensasi isi sel, kemudian diikuti dengan fenomena fragmentasi kromatin dan isi sel lainnya menjadi badan-badan apoptotik yang kecil-kecil, tanpa disertai dengan pecahnya membran sel. Kerusakan membran sel baru terjadi pada fase-fase akhir apoptosis, ketika sel-sel fagosit mulai menelan dan memfagositosis sisa-sisa badan apoptotik itu (Baraas, 2006).

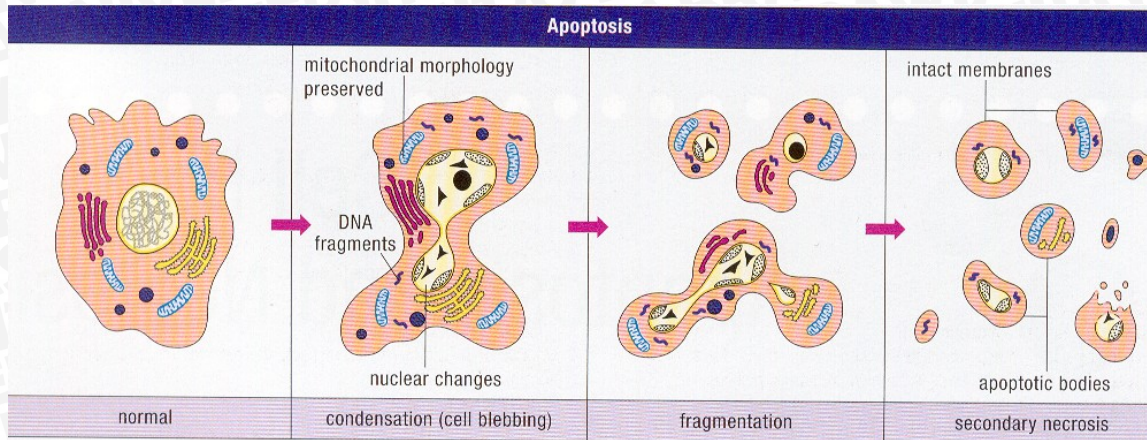
Sel bisa mati karena terpapar suatu zat toksik atau mati karena kerusakan mekanis, sel dapat pula mati dengan program bunuh diri yang disebut apoptosis (Kimball Biology, 2005). Apoptosis berasal dari kata Yunani 'apo' yang berarti dari dan 'ptosis' yang artinya jatuh (Irawan, 2007). Apoptosis adalah mekanisme biologi yang merupakan salah satu jenis kematian sel terprogram. Apoptosis digunakan oleh organisme multisel untuk membuang sel yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh (Wikipedia, 2007). Menurut Ramachandra dan Studinzky (1995), saat aktivitas gen pertumbuhan c-myc dalam sel tinggi, namun jika lingkungan sel tidak memiliki cukup

bahan nutrisi, atau bila ada suatu bahan zenobiotik, sel akan mengaktifkan program kematian sel.

Pada kondisi normal, apoptosis akan aktif apabila ada serangan virus atau terkena zat toksik atau yang bersifat racun, yang pastinya sangat membahayakan kesehatan. Dalam rangka penyelamatan sel yang lebih banyak, maka sel yang terinfeksi virus atau yang terkena zat toksik tersebut memilih untuk mengakhiri hidupnya sebab apabila ia bertahan tentunya akan membawa dampak yang lebih buruk. Selain itu, apoptosis terjadi karena ada komunikasi antar sel (Nurlaila dan Hadi, 2007).

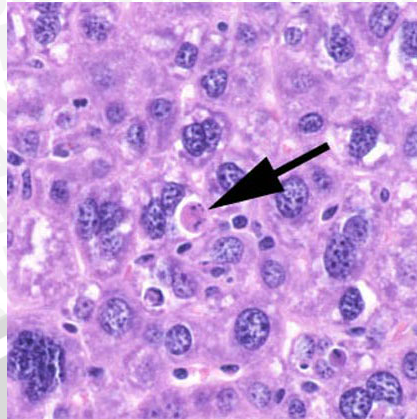
Fungsi apoptosis antara lain sebagai respon stress atau kerusakan DNA, sebagai upaya menjaga kestabilan jumlah sel, sebagai bagian dari pertumbuhan, dan regulasi sistem imun (Wikipedia, 2007). Selain sebagai sarana tumbuh kembang jaringan, apoptosis juga merupakan bagian penting dari regulasi sistem imun manusia. Limfosit T merupakan salah satu bagian dari sel-sel pada sistem imun yang berperan dalam menghancurkan sel-sel tubuh yang rusak (Irawan, 2007).

Apoptosis ditandai dengan sel mengkerut, terbentuk seperti gelembung pada permukaan sel, kromatin pada nukleus terdegradasi, pecahnya mitokondria dengan melepaskan sitokrom c terfragmentasi dalam bentuk kecil-kecil yang bermembran, fosfolipid fosfstidil serin ada di permukaan, padahal biasanya tersembunyi pada plasma membran, sel difagosit oleh makrofag dan sel fagosit melepaskan cytokyne yang menghambat inflamasi (Kimball Biology, 2005). Secara umum, urutan peristiwa apoptosis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Urutan peristiwa apoptosis sel (Yau, 2004).

Proses apoptosis secara morfologi di bawah pengamatan mikroskop adalah sebagai berikut : (1) Sel terlihat membulat. Hal itu terjadi karena struktur protein yang menyusun cytoskeleton mengalami pemotongan oleh peptidase yang dikenal sebagai caspase. Caspase diaktivasi oleh mekanisme sel itu sendiri, (2) Kromatin mengalami degradasi awal dan kondensasi., (3) Kromatin mengalami kondensasi lebih lanjut dan membentuk potongan-potongan padat pada membran inti, (4) Membran inti terbelah-belah dan DNA yang berada didalamnya terpotong-potong, (5) Sel mengalami fagositosis, atau, (6) Sel pecah menjadi beberapa bagian yang disebut badan apoptosis, yang kemudian difagositosis (Wikipedia, 2007). Gambar sel hati yang mengalami apoptosis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Apoptosis sel hati mencit (Wikimedia, 2008).

2.5 Mencit (*Mus Musculus*)

Beberapa penelitian membutuhkan hewan coba yang khusus. Mencit sering dipakai sebagai hewan model pertama untuk uji toksisitas atau untuk menentukan manfaat suatu bahan atau obat kelompok primata biasanya merupakan hewan coba terakhir yang ideal bila bahan atau obat yang bersangkutan akan digunakan untuk kepentingan manusia (Kusumawati, 2004). Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencitlah yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004). Sedangkan menurut Lu (1995), hewan ini digunakan karena mudah didapat, ukurannya kecil, mudah ditangani, dan data toksikologinya relatif lebih banyak. Selain itu penetapan toksisitas pada hati sering merupakan penelitian jangka pendek dan jangka panjang yang biasanya dilakukan pada mencit. Adapun data hematologi mencit terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data hematologi menciit

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

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

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat untuk menganalisis serum darah dengan menggunakan automatic analyzer Hitachi 902. Alat yang lainnya adalah pinset, gunting, sonde, vortex, endorf steril, sentrifuse dingin, mikropipet, spuit, pipet pastur, botol film dan mikroskop.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila, formalin, aquadest, hewan percobaan mencit (*Mus musculus*) betina diperoleh dari Laboratorium PUSVERMA Surabaya. Pemeliharaan dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Pakan butiran (PT Charoen Pokphand Indonesia) dan air minum berupa air ledeng diberikan secara *ad libitum*. Untuk uji SGPT dan SGOT menggunakan kit dari Roche.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryasubrata, 1989). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimental lebih mudah dilakukan di laboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel merupakan segala sesuatu yang akan menjadi obyek penelitian. Variabel dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang dipilih sebagai variabel yang sengaja dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang menjadi pusat persoalan (Suryasubrata, 1989).

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,2 ppm ikan berformalin. Sedangkan variabel terikatnya adalah kadar SOGT, SGPT, berat organ hati, dan jumlah sel apoptosis.

3.4 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bentuk rancangan penelitian terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bentuk rancangan penelitian

Perlakuan	Bulan	Ulangan		
		1	2	3
kontrol nol	1			
0,2 ikan				
0,2 formalin				
0,2 ikan berformalin				
kontrol nol	2			
0,2 ikan				
0,2 formalin				
0,2 ikan berformalin				
kontrol nol	3			
0,2 ikan				
0,2 formalin				
0,2 ikan berformalin				

3.5 Analisis Data

Analisis data dapat memberikan jawaban apakah gugus data mempunyai atau mengikuti sebaran tertentu atau bisa mempunyai dua atau lebih contoh, maka dapat menunjukkan apakah data tersebut berasal dari populasi yang sama atau tidak (Yitnosumarno, 1993). Pengolahan data statistik hasil penelitian menggunakan program SPSS.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Percobaan

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina dewasa umur 2 bulan (8 minggu). Sebelum percobaan, mencit dipastikan dalam kondisi sehat. Selanjutnya mencit diadaptasikan (aklimatisasi) dan diberi pakan secara ruti selama 1 minggu.

3.6.2 Penyediaan Formalin 0,2 ppm

Pembuatan formalin 0,2 ppm menggunakan rumus pengenceran untuk mengetahui volume formalin yang dibutuhkan dalam 100 ml aquadest. Rumus pengencerannya sebagai berikut :

$$\text{Rumus pengenceran : } V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

V_1 : volume formalin yang dibutuhkan

N_1 : konsentrasi formalin

V_2 : volume aquadest

N_2 : konsentrasi formalin yang dibutuhkan

Perhitungan volume formalin yang dibutuhkan adalah sebagai berikut.

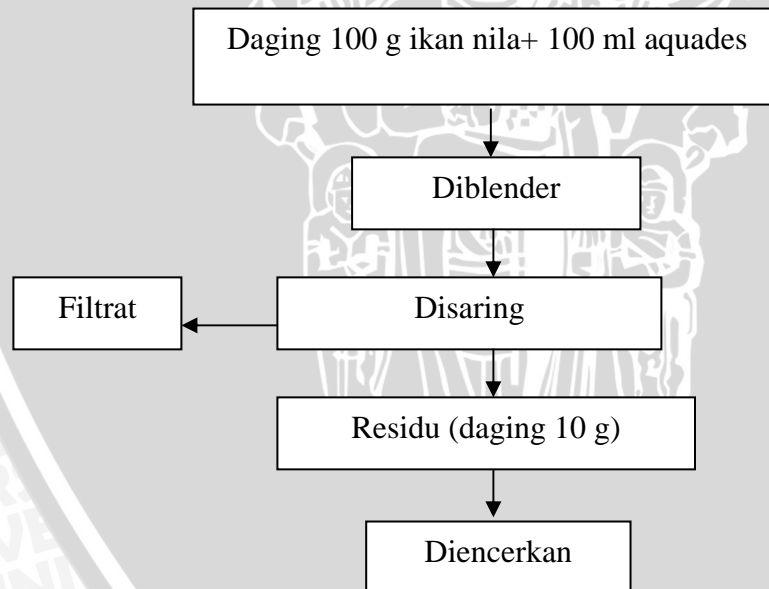
$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 0,2 \text{ ppm}}{37 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,541 \text{ ml}$$

Jadi volume formalin yang dibutuhkan untuk membuat 100 ml formalin 0,2 ppm yaitu sebesar 0,541ml.

3.6.3 Penyediaan Ikan 0,2 ppm

Ikan nila dicuci bersih dan filet. Daging ikan nila diambil sebanyak 100 g ditambah dengan 100 ml aquades dan kemudian diblender sampai halus. Daging yang telah halus disaring dan filtratnya dibuang. Residu dilakukan pengenceran bertingkat sampai menjadi larutan ikan 37 ppm. Prosedur pembuatan larutan ikan nila dapat dilihat pada Gambar 4.

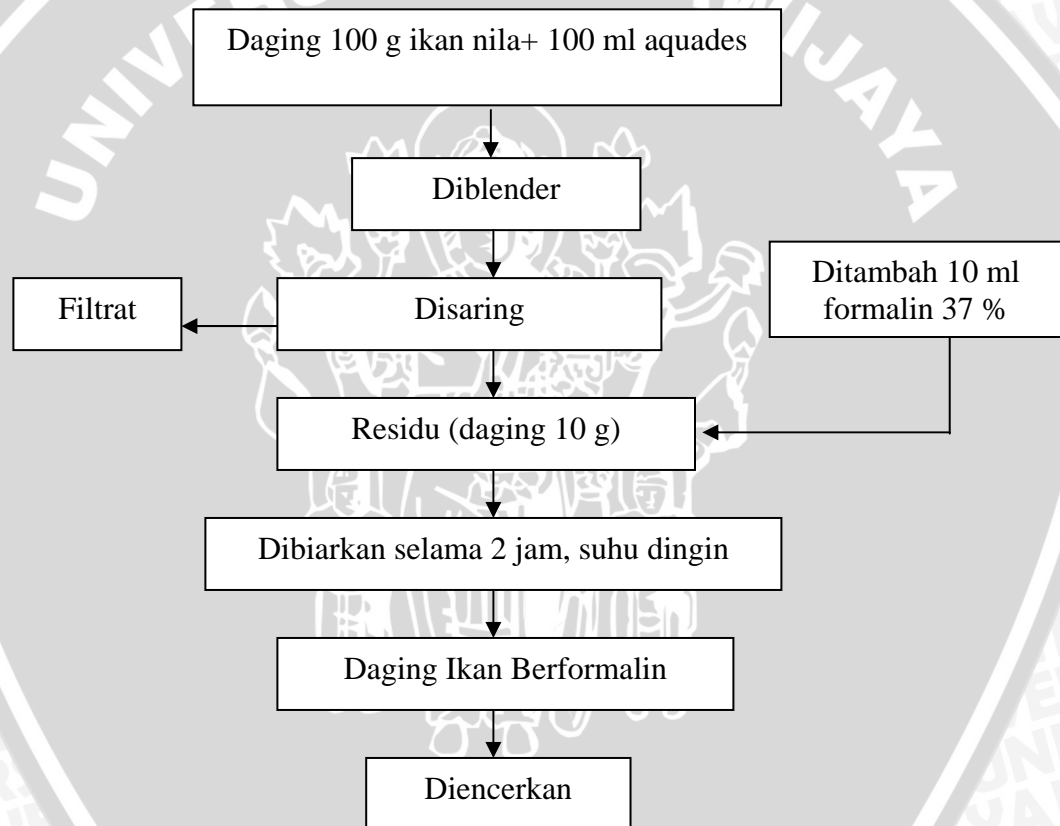


Gambar 4. Prosedur pembuatan larutan ikan.

Selanjutnya diencerkan sampai terbentuk 0,2 ppm ikan. Proses pengenceran ikan dapat dilihat pada Gambar 5.

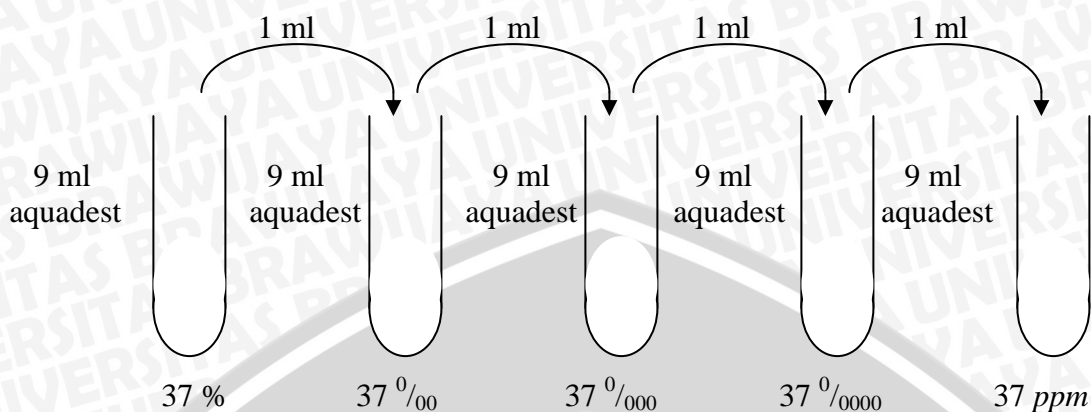
3.6.4 Penyediaan Ikan Berformalin 0,2 ppm

Ikan nila dicuci bersih dan difilet. Daging ikan nila diambil sebanyak 100 g ditambah dengan 100 ml aquades dan kemudian diblender sampai halus. Daging yang telah halus disaring dan filtratnya dibuang. Residu sebanyak 10 g ditambah dengan 10 ml formalin 37% dan dibiarkan selama 2 jam. Dilakukan pengenceran bertingkat sampai menjadi larutan ikan berformalin 37 ppm. Prosedur pembuatan larutan ikan nila berformalin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Prosedur pembuatan larutan ikan nila berformalin.

Selanjutnya diencerkan sampai terbentuk 0,2 ppm ikan berformalin. Proses pengenceran ikan berformalin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Pengenceran bertingkat ikan berformalin.

3.6.5 Pencekakan

Induksi toksikan dilakukan dengan pemberian peroral setiap hari pada pagi hari selama 1 bulan. Bahan toksik diinduksikan langsung ke lambung dengan metode sonde. Dosis induksi tiap perlakuan 0,2 *ppm* ikan, 0,2 *ppm* formalin, 0,2 *ppm* ikan berformalin dan kontrol nol (tanpa perlakuan). Tiap perlakuan terdapat 9 ekor mencit. Besarnya volume cekok yang diberikan berdasarkan berat mencit setiap harinya. Penentuan volume cekok adalah sebagai berikut.

- Jika stok formalin sebesar 100 ml
- Jika berat badan mencit 20 g, maka:

$$\begin{aligned} \text{Dosis yang masuk} &= \frac{20 \text{ g}}{50000 \text{ g}} \times 0,2 \text{ ppm} \\ &= 8 \times 10^{-5} \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Volume cekok yang diberikan untuk berat mencit 20 g

$$\begin{aligned} &= \frac{8 \times 10^{-5}}{0,2 \text{ ppm}} \times 100 \text{ ml} \\ &= 0,04 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Volume cekok yang diberikan untuk berat mencit 21 g adalah :

$$= \frac{\text{berat badan mencit}}{\text{berat rata-rata mencit (20 g)}} \times 0,04 \text{ ml}$$

$$= \frac{21 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,04 \text{ ml}$$

$$= 0,042 \text{ ml}$$

- Jika asumsi dampak negatif formalin yang masuk melalui oral secara terus menerus dengan konsentrasi 150 (*ppm*) mg/kg/berat badan per hari, sedangkan konsumsi ikan 26 kg/tahun atau 71 g/hr dan berat badan manusia 50 kg, maka penentuan dosis 0,2 *ppm* dapat diperoleh dari:

$$= \frac{150 \text{ mg} \times 71 \text{ g}}{50 \text{ kg}}$$

$$= \frac{150 \text{ mg} \times 71000 \text{ mg}}{50000000 \text{ mg}}$$

$$= 0,21 \text{ ppm}$$

3.6.6 Penyediaan Serum Mencit

Serum diambil setelah 1 bulan setelah pemberian toksikan. Mencit dibunuh dengan cara dekapitasi. Dada mencit dibuka dengan gunting dan pinset. Darah mencit diambil dari jantung dengan menggunakan alat injeksi disposable steril. Darah yang telah diambil ditampung dalam eppendorf stereril. Selanjutnya darah disentrifuse selama 20 menit pada kecepatan 10000 rpm dan suhu 4 °C untuk memisahkan serumnya. Serum diambil dengan menggunakan pipet pastur kecil dan dimasukkan dalam eppendorf steril sebagai sampel yang siap untuk dianalisa selanjutnya.

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Analisa SGOT (Transaminase Asam Glutamat Oksaloasetat) Metode Kolorimetri Reitmen dan Frankel (Girindra, 1998)

Uji SGOT merupakan tes fungsi hati yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan sel hati (nekrosis) sehingga enzim dalam sel keluar. Cara pengujian SGOT dengan metode Kolorimetri dan Frankel dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.7.2 Analisa SGPT (Transaminase Asam Glutamat Piruvat) Metode Kolorimetri Reitmen dan Frankel (Girindra, 1998)

Uji SGPT merupakan tes fungsi hati yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan sel hati (nekrosis) sehingga enzim dalam sel keluar. Cara pengujian SGPT menggunakan metode Kolorimetri dan Frankel dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.7.3 Berat Organ Hati

Prosedur analisa berat organ adalah dengan menimbang berat organ mencit yaitu hati menggunakan timbangan digital yang dilakukan setelah perlakuan paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan.

3.7.4 Cara Pembuatan Jaringan Hepar Dan Pengamatan Sel Apoptosis

Pengamatan sel apoptosis dilakukan dibawah mikroskop. Cara pembuatan jaringan hepar dan pengamatan sel apoptosis dapat dilihat pada Lampiran 3.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 SGOT Dalam Darah

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar SGOT dalam darah (U/L) seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar SGOT dalam darah (U/L)

Perlakuan	Bulan	Ulangan		
		1	2	3
kontrol nol	1	181	154	183
0,2 ikan		208	194	201
0,2 formalin		298	266	250
0,2 ikan berformalin		278	159	147
kontrol nol	2	100	164	127
0,2 ikan		173	166	184
0,2 formalin		285	228	383
0,2 ikan berformalin		224	168	178
kontrol nol	3	121	114	109
0,2 ikan		180	178	161
0,2 formalin		305	235	252
0,2 ikan berformalin		269	220	215

4.1.2 SGPT Dalam Darah

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh rerata kadar SGPT dalam darah (U/L) seperti pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar SGPT dalam darah (U/L)

Perlakuan	Bulan	Ulangan		
		1	2	3
kontrol nol	1	37	57	64
0,2 ikan		72	80	74
0,2 formalin		81	83	77
0,2 ikan berformalin		80	74	61
kontrol nol	2	42	31	59
0,2 ikan		73	61	77
0,2 formalin		64	52	58
0,2 ikan berformalin		81	49	96
kontrol nol	3	53	47	45
0,2 ikan		63	62	48
0,2 formalin		65	70	98
0,2 ikan berformalin		85	59	57

4.1.3 Berat Organ Hati

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh rerata berat organ hati mencit selama perlakuan seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Berat organ hati mencit selama perlakuan

Perlakuan	Bulan	Ulangan		
		1	2	3
kontrol nol	1	0.045	0.037	0.026
0,2 ikan		0.046	0.055	0.041
0,2 formalin		0.055	0.046	0.048
0,2 ikan berformalin		0.05	0.055	0.043
kontrol nol	2	0.039	0.037	0.045
0,2 ikan		0.05	0.044	0.089
0,2 formalin		0.063	0.043	0.053
0,2 ikan berformalin		0.04	0.042	0.056
kontrol nol	3	0.057	0.059	0.043
0,2 ikan		0.064	0.069	0.043
0,2 formalin		0.049	0.057	0.043
0,2 ikan berformalin		0.072	0.056	0.053

4.1.4 Apoptosis Sel Hati

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh rerata sel hati yang mengalami apoptosis seperti pada Tabel 7.

Tabel 7. Persentase apoptosis sel hati mencit selama perlakuan

Perlakuan	Bulan	Pengamatan I			Pengamatan II		
		1	2	3	1	2	3
kontrol nol	1	2.96	5.98	7.03	3.02	8.02	6.04
0,2 ikan		10.99	17.02	13.01	13.98	15.99	17.02
0,2 formalin		27.02	20.98	20.04	22	19.98	23
0,2 ikan berformalin		11.98	18.98	13.02	16.99	20.97	16
kontrol nol	2	3.02	5.98	8.98	8	4.97	6.97
0,2 ikan		10.96	9.9	18.98	11.98	15	15.99
0,2 formalin		20.96	21.01	25.05	20.99	18.97	17.02
0,2 ikan berformalin		22.98	21.03	19.04	22.03	5	4.98
kontrol nol	3	8.03	5	4.98	3.96	2.96	6.99
0,2 ikan		27.03	31	29	27.97	26	29
0,2 formalin		40.97	41.99	39.03	44	42	38.99
0,2 ikan berformalin		32.97	27.01	27	21.98	27.01	28.96

*hasil ini didapatkan berdasarkan perhitungan pada Lampiran 10.

4.2 Pembahasan

4.2.1 SGOT Dalam Darah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar SGOT dalam darah semua kontrol kecuali kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Kadar SGOT dalam darah mencit tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 8. Lama paparan ikan berformalin tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,005$) terhadap kadar SGOT dalam darah mencit selama 3 bulan. Kadar SGOT dalam darah mencit yang dipapar 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 8. SGOT dalam darah mencit tiap perlakuan

Perlakuan	Rerata (U/l)	Notasi
Kontrol nol	139,22	a
0,2 ppm ikan (kontrol negatif)	182,78	ab
0,2 ppm ikan berformalin	206,44	b
0,2 ppm formalin (kontrol positif)	278,00	c

Tabel 9. Kadar SGOT dalam darah mencit selama 3 bulan

Lama paparan	Rerata(U/l)	Notasi
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	194,67	ab
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	190,00	ab
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	234,67	b

Pada perlakuan kontrol nol ditemukan kadar SGOT dalam darah sebesar 139,22 U/l. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan (kontrol negatif) ditemukan kadar SGOT dalam darah sebesar 182,78 U/l. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan berformalin ditemukan kadar SGOT dalam darah sebesar 206,44 U/l. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm formalin (kontrol positif) ditemukan kadar SGOT dalam darah sebesar 278,00 U/l. Analisa kadar SGOT dalam darah mencit selama perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Paparan 0,2 ppm ikan berformalin menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar SGOT dalam darah mencit kontrol nol (tanpa perlakuan) namun tidak menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap kontrol negatif (0,2 ppm ikan), hal ini diduga secara tidak sengaja terdapat bahan toksikan lain pada ikan yang digunakan. Paparan 0,2 ppm ikan berformalin menyebabkan peningkatan kadar SGOT dalam darah mencit meskipun masih dibawah kontrol positif (paparan 0,2 ppm formalin). Hal ini mengindikasikan bahwa paparan 0,2 ppm ikan berformalin dan paparan 0,2 ppm

formalin per oral selama 3 bulan berpotensi menyebabkan kerusakan hati. Formalin merupakan toksikan yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel. Akibatnya enzim yang terdapat dalam sel akan keluar. SGOT merupakan enzim yang dikeluarkan secara intraseluler kedalam darah yang disebabkan adanya kerusakan hati. Menurut Spirita (2005), biasanya peningkatan SGOT terjadi bila ada kerusakan sel hati. Widmann (1989) menambahkan, kadar enzim dalam darah yang meningkat adalah akibat kerusakan sel yang mengandung enzim itu atau mungkin juga akibat perubahan yang yang tidak mematikan sel tetapi sudah melemahkan permeabilitas dinding sel sehingga makromolekul-makromolekul dapat menembusnya dan terlepas ke dalam cairan ekstrasel. Perlakuan paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan tidak menyebabkan kerusakan hati. Hal ini ditandai dengan tidak adanya peningkatan kadar SGOT yang sangat signifikan terhadap semua kontrol. Perubahan biokimiawi karena kerusakan hati diwujudkan dengan adanya kenaikan aktivitas glutamat oksaloasetat transaminase (GOT) sebesar 10-150 kali harga normal (Bergmeyer dan Bernt, 1971).

Rerata kadar SGOT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 1 bulan adalah 194,67 U/l. Rerata kadar SGOT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 2 bulan adalah 190,00 U/l. Rerata kadar SGOT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan adalah 234,67 U/l. Pada bulan pertama hingga bulan kedua terjadi penurunan kadar SGOT dalam darah, namun tidak signifikan. Pada bulan ketiga terjadi peningkatan kadar SGOT dalam darah yang signifikan terhadap kadar SGOT bulan pertama. Hal ini menunjukkan bahwa pada bulan ketiga terjadi kerusakan hati yang mengakibatkan enzim dalam sel hati keluar ke dalam darah.

4.2.2 SGPT Dalam Darah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar SGPT dalam darah semua kontrol kecuali kontrol nol (tanpa perlakuan).

Kadar SGPT dalam darah mencit tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10. Lama paparan ikan berformalin tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,005$) terhadap kadar SGPT dalam darah mencit selama 3 bulan. Kadar SGPT dalam darah mencit yang dipapar 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 10. SGPT dalam darah mencit tiap perlakuan

Perlakuan	Rerata (U/l)	Notasi
Kontrol nol	48,33	a
0,2 ppm ikan (kontrol negatif)	67,78	b
0,2 ppm ikan berformalin	71,33	b
0,2 ppm formalin (kontrol positif)	72,00	b

Tabel 11. Kadar SGPT dalam darah mencit selama 3 bulan

Lama paparan	Rerata(U/l)	Notasi
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	64,00	a
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	75,33	a
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	74,67	a

Pada perlakuan kontrol nol ditemukan kadar SGPT dalam darah sebesar 43,88 U/l.

Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan (kontrol negatif) ditemukan kadar SGPT dalam darah sebesar 67,78 U/l. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan berformalin ditemukan kadar SGPT dalam darah sebesar 71,33 U/l. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm formalin (kontrol positif) ditemukan kadar SGPT dalam darah sebesar 72,00 U/l. Analisa kadar SGOT dalam darah mencit selama perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 5.

Paparan 0,2 ppm ikan berformalin menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar SGPT dalam darah mencit kontrol nol (tanpa perlakuan) namun tidak menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar SGPT dalam darah mencit kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Hal ini diduga terjadi karena adanya bahan toksikan lain yang secara tidak sengaja terdapat pada ikan sehingga berpotensi menyebabkan kerusakan sel hati yang diikuti dengan keluarnya enzim-enzim yang terdapat dalam sel hati. Paparan 0,2 ppm formalin tidak menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar SGPT dalam darah mencit yang terpapar 0,2 ppm ikan berformalin. Hal ini mengindikasikan bahwa paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan memberikan efek yang sama terhadap kerusakan hati mencit yang terpapar 0,2 ppm formalin. Formalin merupakan toksikan yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel. Akibatnya enzim yang terdapat dalam sel akan keluar. SGPT merupakan enzim yang dikeluarkan secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan adanya kerusakan hati. Peningkatan kadar SGPT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan nekrosis sel-sel hati atau adanya kerusakan hati secara akut misalnya nekrosis hepatoselular atau infark miokardial (Wibowo *et al*, 2005). Perlakuan ini tidak menyebabkan kerusakan hati. Hal ini ditandai dengan tidak adanya peningkatan kadar SGPT yang signifikan terhadap semua kontrol. Perubahan biokimiawi karena kerusakan hati diwujudkan dengan adanya kenaikan aktivitas glutamat piruvat transaminase (GPT) sebesar 20-200 kali harga normal (Bergmeyer dan Bernt, 1971).

Rerata kadar SGPT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 1 bulan adalah 64,00 U/l. Rerata kadar SGPT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 2 bulan adalah 75,33

U/l. Rerata kadar SGPT dalam darah mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan adalah 74,67 U/l. Pada bulan pertama hingga bulan kedua terjadi peningkatan kadar SGPT dalam darah yang tidak signifikan dan pada bulan ketiga terjadi penurunan kadar SGOT dalam darah yang tidak signifikan terhadap kadar SGPT bulan kedua. Hal ini menunjukkan bahwa pada paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak menyebabkan kerusakan hati.

4.2.3 Berat Organ Hati

Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$) terhadap berat organ hati semua kontrol. Berat organ hati mencit tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 12. Lama paparan ikan berformalin tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,005$) terhadap berat organ mencit selama 3 bulan. Berat organ hati mencit yang dipapar 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 12. Berat organ hati mencit tiap perlakuan

Perlakuan	Rerata (g/BB)	Notasi
Kontrol nol	0,043	a
0,2 ppm ikan (kontrol negatif)	0,056	a
0,2 ppm ikan berformalin	0,052	a
0,2 ppm formalin (kontrol positif)	0,050	a

Tabel 13. Berat organ hati mencit selama 3 bulan

Lama paparan	Rerata (g/BB)	Notasi
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	0,049	a
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	0,046	a
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	0,060	a

Pada perlakuan kontrol nol ditemukan berat organ hati mencit sebesar 0,043 g/berat badan. Rerata berat organ hati mencit dengan perlakuan paparan 0,2 ppm ikan (kontrol negatif) adalah 0,056 g/berat badan. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan berformalin diperoleh rerata sebesar 0,052 g/berat badan. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm formalin (kontrol positif) ditemukan rerata sebesar 0,050 g/berat badan. Analisa berat organ hati mencit selama perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 6.

Paparan 0,2 ppm ikan berformalin tidak menyebabkan peningkatan berat organ hati. Di dalam tubuh, semua bahan toksik mengalami absorpsi, distribusi, transformasi dan ekskresi. Setelah diabsorpsi oleh usus, toksikan didistribusikan menuju hati untuk dilakukan proses detoksifikasi. Adanya toksikan dalam suatu organ dapat diketahui dengan adanya pembengkakan atau penambahan volume/berat. Menurut Wahyuni (2002), organ hati merupakan pusat detoksifikasi, sehingga bila ada zat asing yang berbahaya masuk ke dalam tubuh maka organ hati yang lebih dahulu dipengaruhi. Pengaruh ini antara lain menyebabkan meningkatnya berat organ hati dari berat normalnya. Dengan demikian, secara makroskopis paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan tidak menyebabkan kerusakan organ hati. Berat hati antara mencit kontrol dengan mencit setelah perlakuan tidak berbeda nyata karena perubahan yang terjadi pada hati mencit perlakuan lebih ke arah mikroskopis (Laksono, 2007).

Rerata berat organ hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan adalah 0,049 g/berat badan. Rerata berat organ hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 2 bulan adalah 0,046 g/berat badan. Rerata berat organ hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan adalah 0,060 g/berat badan. Secara

keseluruhan paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak menyebabkan peningkatan berat organ hati mencit secara signifikan, hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi kerusakan secara makroskopis.

4.2.4 Apoptosis Sel Hati

Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap apoptosis sel hati mencit semua kontrol. Apoptosis sel hati mencit dapat dilihat pada Tabel 14. Lama paparan ikan berformalin memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,005$) terhadap apoptosis sel hati mencit selama 3 bulan. Apoptosis sel hati mencit yang dipapar 0,2 ppm ikan berformalin selama 3 bulan dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 14. Apoptosis sel hati mencit tiap perlakuan

Perlakuan	Rerata (%)	Notasi
Kontrol nol	5,72	a
0,2 ppm ikan (kontrol negatif)	18,94	b
0,2 ppm ikan berformalin	21,61	c
0,2 ppm formalin (kontrol positif)	28,00	d

Tabel 15. Apoptosis sel hati mencit selama 3 bulan

Lama paparan	Rerata (g/BB)	Notasi
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	16,323	a
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	21,013	ab
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	27,488	c

Pada perlakuan kontrol ditemukan rerata apoptosis sel hati mencit sebesar 5,72 %.

Rerata apoptosis sel hati mencit dengan perlakuan paparan 0,2 ppm ikan (kontrol negatif) adalah 18,94 %. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm ikan berformalin diperoleh

rerata sebesar 21,61 %. Pada perlakuan paparan 0,2 ppm formalin (kontrol positif) ditemukan rerata sebesar 28,00 %. Analisa apoptosis sel hati mencit selama perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 7. Gambar sel apoptosis sel hati mencit yang terpapar 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan dapat dilihat pada Lampiran 8.

Paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan meningkatkan rerata persentase apoptosis sel hati secara signifikan namun jumlahnya masih dibawah kontrol positif (0,2 ppm formalin). Peningkatan rerata persentase apoptosis sel hati secara signifikan mengindikasikan bahwa paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan menyebabkan kerusakan atau kematian sel hati akibat dari adanya zat toksik dalam hati. Kelompok aldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom lain dari protein yang akan membentuk ikatan silang $-CH_2-$ yang disebut sebagai jembatan methylene (Kiernan, 2000). Adanya ikatan silang ini menyebabkan formalin berikatan kuat dengan protein sehingga formaldehid pada daging ikan tidak dapat dihilangkan. Protein yang berikatan dengan formaldehid menyebabkan kualitas protein menurun dan bila dikonsumsi, ada sebagian kecil formaldehid bebas yang terikat dalam metabolisme tubuh (Nurachman, 2005). Pada penelitian lebih lanjut didapatkan penurunan asam amino pada daging ikan nila setelah direndam dalam larutan formalin. Perbandingan kadar asam amino dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Perbandingan kadar asam amino ikan nila

No	Asam Amino	Filtrat (%)		Residu (%)	
		Kontrol	Formalin	Kontrol	Formalin
1	Asp	5	4.938	4.878	0
2	Ser	4.819	4.819	4.819	0
3	Glu	4.706	4.651	4.651	0
4	Gly	2.653	0	0	0
5	Thr	4.211	0	4.082	4
6	Arg	3.949	0	3.962	3.949
7	Ala	0	0	3.949	3.949
8	Pro	0	0	3.823	0
9	Cys	0	0	3.704	0
10	Met	3.595	0	3.571	0

Adanya penurunan kadar asam amino pada ikan nila setelah direndam larutan formalin menunjukkan bahwa asam amino berikatan dengan formalin. Asam amino tersebut antara lain asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, threonin, arginin, prolin, sistein dan metionin. Menurut Skrzydlewska et al., (1999), formaldehid sangat mudah bereaksi dengan sistein, metionin, lisin, arginin, tirosin sampai kadar terkecil dari residu asam amino lain. Dari beberapa asam amino tersebut sebagian berikatan silang dengan formalin dan membentuk jembatan metilen. Jembatan metilen biasa terjadi pada kelompok amine, amide, guanidyl, phenol, imidazole atau indol (Kiernan, 2000). Diduga asam amino pada ikan nila yang berikatan silang dengan formalin adalah metionin dan arginin. Arginin termetilasi merupakan produk modifikasi post translasi, di mana terjadi penambahan 1 atau 2 gugus metil (Fattah, 2006). Hasil analisa amino ikan nila berformalin dapat dilihat pada Lampiran 9.

Formaldehid berinteraksi dengan molekul membran sel dan jaringan tubuh dan cairan (seperti protein dan DNA) dan merusak fungsi sel. Konsentrasi tinggi dapat menyebabkan presipitasi protein, yang menyebabkan kematian sel (Amiruddin, 2006). Berbagai stres pada sel yang disebabkan oleh apa pun dapat menyebabkan kematian sel, baik berupa apoptosis maupun nekrosis. Kemungkinan iskemia merupakan penyebab yang paling sering terjadi yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel dalam kehidupan sehari-hari (Baraas, 2006). Hal ini diperkuat oleh Fatimah (2007), paparan kronis formalin pada hewan percobaan 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. Keadaan ini biasa disebut iskemia. Iskemia-reperfusi pada sel merupakan sebuah fenomena, dimana episode iskemia yang biasanya bersifat sementara, segera diikuti oleh episode reperfusi. Episode iskemia-reperfusi memberikan efek yang berbeda terhadap kematian sel. Fenomena iskemia-reperfusi bisa berlangsung sesaat dan bersifat akut, bisa pula berkepanjangan dan bersifat kronik. Episode iskemia-reperfusi yang berlangsung sesaat bersifat akut menyebabkan kerusakan sel yang ringan atau sedang dan memicu terjadinya kematian sel secara terprogram (apoptosis) (Baraas, 2000). Adanya peningkatan jumlah sel hati yang mengalami apoptosis menunjukkan bahwa perlakuan ini berpotensi menyebabkan kerusakan organ hati.

Rerata apoptosis sel hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 1 bulan adalah 16,323 %. Rerata apoptosis sel hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 2 bulan adalah 21,013 %. Rerata apoptosis sel hati mencit yang terpapar secara berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan adalah 27,488 %. Rerata jumlah apoptosis sel hati

tidak ada peningkatan pada bulan pertama hingga bulan kedua, namun pada bulan kedua hingga bulan ketiga terjadi peningkatan yang signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa paparan berulang 0,2 ppm ikan nila berformalin memberikan pengaruh yang sangat nyata pada bulan ketiga. Semakin lama paparan, maka semakin banyak sel hati yang mengalami apoptosis. Jika hal ini berlangsung secara terus-menerus dapat berpotensi menyebabkan kerusakan hati.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Formalin berikatan silang dengan protein dan membentuk jembatan metilen. Asam amino pada ikan nila yang berikatan dengan formalin antara lain asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, threonin, arginin, prolin, sistein, dan metionin. Asam amino yang mengalami metilasi adalah arginin dan metionin. Paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral selama 3 bulan tidak menyebabkan kerusakan hati secara makroskopis. Hal ini ditunjukkan pada tidak adanya peningkatan kadar SGOT dan SGPT dalam serum darah dan berat organ hati secara signifikan ($p > 0,05$). Pengamatan mikroskopis pada sel hati menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel apoptosis secara signifikan ($p < 0,05$). Dengan demikian jika kita mengkonsumsi ikan yang ada dipasaran sebanyak 71g setiap hari selama tiga bulan, maka hal ini akan berpotensi menyebabkan kerusakan hati.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang efek paparan berulang 0,2 ppm ikan berformalin per oral pada jangka waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiruddin, M.D. 2006. *Formalin dalam Makanan*.
<http://www.freelists.org/archives/ppi/01-2006/msg00209.html>. 23 Maret 2008.
- Baraas, F. 2000. *Dari Programmed Cell Survival Sampai Programmed Cell Death pada Sel Otot Jantung*. www.neuro-onkologi.com/articles. 23 April 2008.
- Barker S., M Weinfeld., Jing Zeng., Liang Li., D Murray. 2005. *Identificatioan of Mamalian Protein Cross-linked to DNA by Ionizing Radiation*. The Journal of Biological Chemistry 280(40):3826-3838.
- Bergmeyer, H.U., dan Bernt, E., 1971, *Methods of Enzimatis Analysis*. Journal vol 2, 755, 760-763.
- Budiono, B dan Z. Kamal. 2007. *Gambaran Histologik Hepar dan Aktivitas SGPT serta SGOT Tikus Putih Setelah Diet Protein dan Pemberian Chlorella*. Jurnal Bioscientiae Volume 4 Nomor 6 Januari 2007.
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2005. *Dalam Rangka Program Aksi 100 Hari, DKP Panen Raya INBUDKAN Nila di Kabupaten Subang*. Ditjen Perikanan Budidaya. <http://www.dkp.go.id>. Diakses tanggal 28 November 2006 pukul 21.21 WIB.
- Departemen Kesehatan. 2007. *Mengenal Formalin Lebih Dekat*.
<http://www.depkes.co.id>. 21 Februari 2007.
- Dolaria, N. 2003. *Komposisi Kimia Beberapa Jenis Ikan Segar dan Hasil Olahannya*. Departemen Kelautan dan Perikanan RI. <http://www.dkp.go.id>. Diakses tanggal 28 November 2006.
- Donatus,I.M. 2001. *Toksikologi Dasar*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Enviromental Health Service. 2000. *Formaldehyde: Human Health Effect*.
<http://www.gasdetection.com/TECH/hcho.htm>. 4 November 2006.
- Fatimah, N. 2006 *Ada Apa Dengan Formalin*. <http://www.percikan-iman.com>. 28 Agustus 2007.
- Fattah, M. 2006. *Sindroma Metabolik Dan Penanda Baru Disfungsi Endotel: Asimetrik Dimetil Arginin (ADMA) Dan High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP)*. Jurnal Prodia Diagnostics Educational Services. ISSN 0854-7173 No. 1/2006.

- Girindra, A. 1998. *Petunjuk Praktikum Biokimia Patologi*. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 113-115, 14-124-129, 182-189.
- Grafstrom, R.C., A. Fornace., and C.C. Harris. 1984. Repair of DMA Damage Caused by Formaldehyde in Human Cells. *Cancer Research* 44. 4323-4327.
- Hadiwiyoto, S.1993. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Jilid 1. Liberty. Yogyakarta.275 hal.
- Hariono, B. 2005. *Efek Pemberian Plumbum (Timah Hitam) Anorganik Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus)*. J. Sain Vet. Vol 23 No. 2 Th. 2005.
- Halang, B. 2007. *Kandungan Cu dan Pb Pada Air dan Ikan Puyau (Puntius huguenini) di Bendungan Sungai Tabaniao Desa Bajuin Kecamatan Pelaihari Kabupaten Tanah Laut*. *Jurnal Bioscientiae* Volume 4 Nomor 1 Januari 2007 Halaman 43-52.
- IARC. 2005. *Formaldehyde*. <http://cie.iarc/ft/htdocs/announcements/vol88.htm>. 23 Januari 2008. 3 November 2007.
- Instalasi Penelitian Perikanan Laut. 1982. *Pembuatan Surimi*. Jakarta. Direktorat Jendral Perikanan. Departemen Pertanian. 12 hlm.
- Irawan, D. 2007. *Mengenal Apoptosis Dalam Kesehatan Dan Penyakit*. <http://www.waspada.co.id>. 2 Oktober 2007.
- Jahujuri, M. 2007. *Kajian LD₅₀ Ikan Nila (Tilapia niloticus) Berformalin 10% Dengan Menggunakan Hewan Percobaan Mencit (Mus musculus)*. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Judarwanto, W. 2006. *Pengaruh Formalin Bagi Sistem Tubuh*. Rumah Sakit Bunda Jakarta. www.puterakembara.com. 19 September 2006.
- Kiernan, J.A. 2000. *Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde, and Glutaraldehyde : What They Are and What They Do*. *Microcopy Today*.00(1): 8-12.
- Kimball, Biology. 2005. *Apoptosis*. <http://users.ren.com./jkimball.ma.ultranet/biology/pages/A/Apoptosis.html>. 5 September 2007.
- Koeman. J.H. 1983. *Algemene Inleiding In De Toxicologie*. PUDOC. Wageningen.
- Kusumaningtyas, A. 2007. *Pengaruh Konsumsi Ransum Berformalin Terhadap Pertumbuhan Organ Dalam Tikus Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjamada University Press. Yogyakarta.

- Laksono, C.S. 2007. *Pengaruh Konsumsi Ikan Lemuru (Sardinella longiceps) Berformalin Terhadap Pertumbuhan Organ Dalam Tikus Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Loomis, T. A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Penerjemah Drs. Imono Argo Donatus, Apt., S. U. IKIP Press. Semarang. Hal 235.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Penerjemah Edi Nugroho, Zunilda S. B, dan Iwan Darmansyah. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Hal 106, 208-215.
- Migdalski E.C dan G. S Fitchter. 1983. *The Fresh and Salt Water Fishes of The World*. New York. Greenwich House. 316 hlm.
- Nazir, M. 1988. *Metode Penelitian*. PT Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Nurachman .Z. 2005. *Formalin*. <http://www.zeily@chem.itb.ac.id>. 28 Oktober 2006.
- Nurlaila, I dan M. Hadi. 2007. *Kanker :Pertumbuhan, Terapi dan Nanomedis*. <http://www.nano.lipi.go.id>. 10 Oktober 2007.
- Palar H. (1994). *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Rineka Cipta. Jakarta Pengawas Obat dan Makanan.
- Pengawas Obat dan Makanan. 2005. *Formalin*. <http://www.pom.go.id>. 13 September 2007.
- Quievryn, G and A. Zhitkovich. 2000. Loss of DNA-Protein Crosslink From Formaldehyde-exposed Cells Occurs Through Spontaneous Hidrolysis and An Active Repair Process Linked to Proteosome Function. *Journal of Carcinogenesis* Vol.21 No.8. Oxford University Press.
- Ramachandra S dan G.P Studinzki. 1995. *Morphological and Biochemical Criteria of Apoptosis Apratical Approach*. IRL Press. Oxford. New York. hlm 119-142.
- Singarimbun, M dan S. Effendi. 1983. *Metodologi Penelitian Survei*. Lembaga Penelitian Peneranga Sosial. Matahari Bhakti. Jakarta.
- Spiritia. 2005. *Tes Kimia Darah*. Yayasan Spiritia. <http://www.spiritia.or.id>. 7 Januari 2008.
- Skrzydowska1. E; A. Roszkowska1 and J. Moniuszko. 1999. A Comparison of Methanol and Ethanol Effects on The Activity and Distribution of Lysosomal Proteases. *Polish Journal of Environmental Studies* Vol. 8, No. 4 (1999), 251-257.

- Sudamadji, S. 1996. *Teknik Analisa Biokimia*. Liberty. Yogyakarta. Hal 168.
- Suryasubrata, S. 1989. *Metodologi Penelitian*. Rajawali. Jakarta.
- Toth J and M. D Biggin. 2000. *The Specificity of Protein-DNA Crosslinking by formaldehyde: In vitro and in Drosophila Embryos*. Nucleic acid Research. Vol 28 No 2 E4-c4.
- Wahyuni, S. 2002. *Pengaruh Pengolahan Tradisional Terhadap Mutu Dan Nilai Gizi*. Makalah Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Program Pasca Sarjana / S3 Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wibowo, W.A., L. Maslachah, R. Bijanti. 2005. *Pengaruh Pemberian Perasan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (Rattus norvegicus) Diet Lemak Tinggi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Widianarko, B., A.R Pratiwi, dan C. Retnaningsih. 2000. *Formalin Dalam Makanan*. Seri Iptek Pangan Volume 1: Teknologi, Produk, Nutrisi & Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Pangan - Unika Soegijapranata, Semarang.
- Widjaja, K.A. 2006. *Tahu, Makanan Favorit yang Keamanannya Perlu Diwaspadai*. <http://www.wismamas.tk>. 14 Oktober 2007.
- Widmann, F. K. 1989. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Wikipedia, 2007. *Apoptosis*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Apoptosis>. 2 Oktober 2007.
- Wikimedia, 2008. *Apoptosis Mouse Liver*. <http://commons.wikimedia.org>. 8 Desember 2007.
- Yau, P. 2004. *Apoptosis*. <http://www.bioteach.ubc.ca/quarterly>. 5 Januari 2008.
- Yitnosumarno, S. 1993. *Percobaan Analisis dan Interpretasinya*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 299 Hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Cara Pengujian SGOT

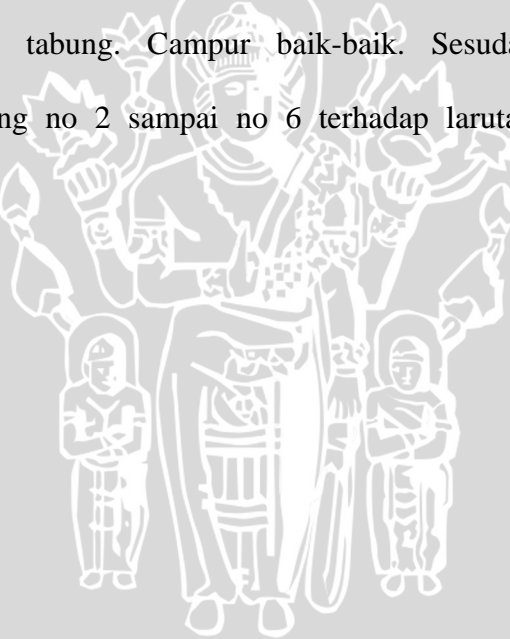
Bahan yang digunakan dalam analisa SGOT antara lain serum yang tidak hemolisis, larutan a (larutan bufer substrak 100 n mol/l bufer fosfat 7.4, 100 m mol/l L-aspartat, 2 m mol/l 2 oksoglutarat. Larutkan semuanya dalam 30 ml akuabides). Larutan b (Pereaksi warna, 1.5 m mol/l 2,4 dinitrofenil hidrazin). Larutan c (larutan sodiom hidroksid, 0,4 mol/l sodiom hidroksid. Larutkan dalam 1000 ml akuades dalam tempat gelas). Larutan d (Larutan standar (2 m mol/l sodiom piruvat) Semua pereaksi sudah disediakan secara siap pakai dari merk). Prosedur kerja analisa SGOT adalah sebagai berikut, untuk setiap contoh harus disediakan satu blanko. Dua buah tabung reaksi diisi 0,5 ml bufer substrat. Tabung pertama untuk contoh, tabung kedua untuk blanko. Inkubasikan pada penangas air suhu 37° C selama 5 menit. Tambahkan ke dalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 0,2 ml. Campur lagi dan inkubasikan selama 30 menit suhu 37° C. Tambahkan ke masing-masing tabung 0,5 ml pereaksi warna. Pada blanko tambahkan 0,2 ml serum. Campurkan dan biarkan pada suhu 15-25° C selama 20 menit tepat. Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 5,0 ml larutan c. Campurkan. Setelah 5-30 menit diukur absorbansinya lebih dari 86 µ/l, encerkan 0,2 ml serum dengan 0,8 ml larutan garam fisiogis. Ulangi analisis dengan 0,2 ml larutan yang sudah diencerkan dan dikalikan hasilnya dengan 5. Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran perti pada Tabel 17.

Tabel 17. Kurva kalibrasi analisa SGOT

No tabung	Lart standar (ml)	Lart bufer (ml)	Metod UV μ /l
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

Campurkan dan tambahkan pereaksi warna kedalam setiap tabung sebanyak 1 ml.

Biarkan selama 20 menit pada suhu 15-25° C. Tambahkan larutan c 0,4 mol/l sebanyak 10 ml kedalam setiap tabung. Campur baik-baik. Sesudah 5-20 menit, ukur absorbansinya dari tabung no 2 sampai no 6 terhadap larutan no 1 pada panjang gelombang 500-560 nm.



Lampiran 2. Cara Pengujian SGPT

Bahan yang digunakan dalam analisa SGPT antara lain serum yang tidak hemolisis, larutan a (larutan bufer substrat m mol/L bufer fosfat 7.4, 100 m mol/L D-L alanin, 2 m mol/L 2 oksoglutarat). Larutan b (Pereaksi warna, 1,5 m mol/L 2,4 dinitrofenil hidrazin). Larutan d (Larutan standar (2 m mol/L sodium piruvat). Semua pereaksi sudah disediakan secara siap pakai dari Merck.

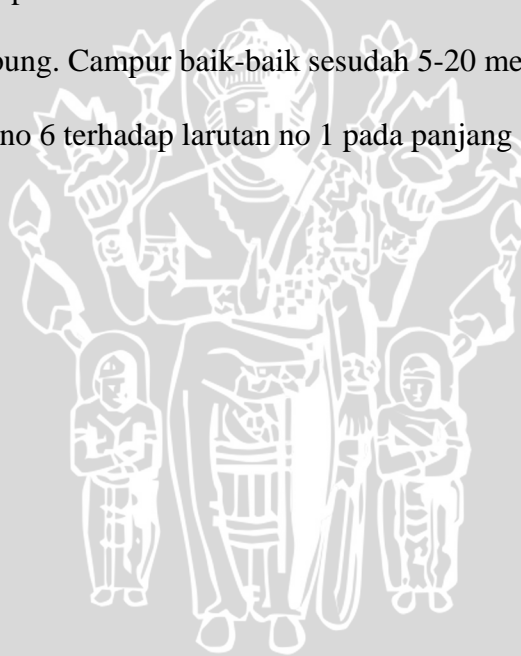
Prosedur kerja analisa SGPT adalah sebagai berikut, larutan dalam botol dilarutkan dengan 30 ml akuabides. Larutan c dilarutkan dalam 1000 ml akuabides di tempat dari gelas. Untuk setiap contoh harus disediakan 1 blanko. Dua tabung reaksi diisi 0,5 ml bufer. Tabung pertama untuk contoh, tabung kedua untuk blanko. Inkubasikan pada penangas air suhu 37°C selama 5 menit. Tambahkan ke dalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 0,1 ml. Campur lagi dan inkubasikan selama 30 menit suhu 37° C. Tambahkan ke masing-masing tabung 0,5 ml pereaksi warna. Pada blanko tambahkan 0,1 ml serum. Campurkan dan biarkan pada suhu 15-25° C 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 90 μ /l, encerkan 0,2 ml serum dengan 0,8 ml larutan garam fisiogis. Ulangi analisis dengan 0,2 ml larutan yang sudah diencerkan dan kalikan hasilnya dengan 5. Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran seperti pada Tabel 18.

Tabel 18. Kurva kalibrasi analisa SGPT

No tabung	Lart standar	Lart bufer(ml)	Metod UV μ /l
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

Campur dan tambahkan pereaksi warna kedalam setiap tabung sebanyak 0,1 ml.

Biarkan selama 20 menit pada suhu 15-25°C. Tambahkan larutan c 0,4 mol/l sebanyak 10 ml kedalam setiap tabung. Campur baik-baik sesudah 5-20 menit, ukur absorbansinya dari tabung no 2 sampai no 6 terhadap larutan no 1 pada panjang gelombang 500-560 nm.



Lampiran 3. Cara Pembuatan Jaringan Hepar dan Pengamatan Sel Apoptosis

Pembuatan Parafin Blok Jaringan

Jaringan hepar di cuci dengan PBS 3-5 x untuk membersihkan dari kontaminan. Kemudian difiksasi pada formalin 10%. Setelah itu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit. Dilakukan clearing menggunakan xilol 2 kali masing-masing 60 menit. Kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C. Kemudian dilakukan block dalam parafin keras pada cetakan dan didiamkan selama sehari. Keesokan harinya ditempelkan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-6 μ m dengan rotary microtome. Dilakukan mounting pada gelas objek dengan gelatin 5%.

Proses Deparafinasi

Gelas obyek hasil parafin block direndam dalam xilol 2 kali masing-masing selama 5 menit. Setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolut, 96%, 80%, 70%, 50% dan 30%) masing-masing selama 5 menit. Kemudian dibilas dalam dH₂O selama 5 menit.

Proses Pewarnaan Hematoxilen-Eosin

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit. Kemudian diwarnai dengan hematoxilen selama 10 menit. Setelah itu, direndam dalam tap water selama 10 menit. Kemudian dibilas dengan dH₂O. Dilakukan dehidrasi dengan alkohol berseri 30% dan 50% masing-masing selama 5 menit. Kemudian diwarnai dengan larutan Eosin selama 3 menit. Setelah itu dibilas dengan alkohol 30%. Dicuci dengan dH₂O selama 5 menit dan dikering anginkan. Kemudian dilakukan mounting dengan entelan dan tutup dengan cover glass.

Pengamatan Sel Apoptosis Sel Hepat Dengan Teknik DNA Terfragmentasi

Slide dicuci menggunakan PBS pH 7,4 dan inkubasi menggunakan 20ug/ml proteinase-K selama 15 menit pada 37°C. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, masing-masing selama 5 menit. Inkubasi pada 3% H₂O₂ selama 15 menit dan selanjutnya cuci dengan PBS pH 7,4 tiga kali, masing-masing selama 5 menit. Inkubasi dengan Tunel fragmented DNA labelling selama 60 menit pada 37°C. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, masing-masing selama 5 menit. Inkubasi dengan Peroksidase solution selama 40 menit pada 37°C. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, masing-masing selama 5 menit. Tetesi menggunakan substrat untuk Peroksidase (DAB – Diamino Benzidine) selama 20 menit pada suhu ruang. Cuci dengan PBS pH 7,4 dan Counterstain dengan Mayer hematoxilen selama 10 menit, bilas dengan air kran dan cuci dengan dH₂O. Keringkan dan tutup coverglass. Kemudian amati dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x, sel-sel apoptosis ditunjukkan dengan warna coklat pada inti sel.

Lampiran 4. Analisa Kadar SGOT Dalam Darah Mencit Selama Perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
PERLAKUAN	1	kontrol nol	9
	2	0,2 ppm ikan	9
	3	0,2 ppm formalin	9
	4	0,2 ppm ikan berformalin	9
BULAN	1	1 bulan	12
	2	2 bulan	12
	3	3 bulan	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SGOT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	103469.222(a)	11	9406.293	6.769	.000
Intercept	1463293.444	1	1463293.444	1053.066	.000
PERLAKUAN	90951.222	3	30317.074	21.818	.000
BULAN	1260.056	2	630.028	.453	.641
PERLAKUAN * BULAN	11257.944	6	1876.324	1.350	.274
Error	33349.333	24	1389.556		
Total	1600112.000	36			
Corrected Total	136818.556	35			

a R Squared = .756 (Adjusted R Squared = .645)

Homogenous Subsets

SGOT

Tukey HSD

PERLAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
kontrol nol	9	139.22		
0,2 ppm ikan	9	182.78	182.78	
0,2 ppm ikan berformalin	9		206.44	
0,2 ppm formalin	9			278.00
Sig.		.089	.543	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1389.556.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b Alpha = .05.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGOT

Tukey HSD

(I) BULAN	(J) BULAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 bulan	2 bulan	11.58	15.218	.730	-26.42	49.59
	3 bulan	13.33	15.218	.660	-24.67	51.34
2 bulan	1 bulan	-11.58	15.218	.730	-49.59	26.42
	3 bulan	1.75	15.218	.993	-36.25	39.75
3 bulan	1 bulan	-13.33	15.218	.660	-51.34	24.67
	2 bulan	-1.75	15.218	.993	-39.75	36.25

Based on observed means.

Homogenous Subsets

Tukey HSD

BULAN	N	Subset
		1
3 bulan	12	196.58
2 bulan	12	198.33
1 bulan	12	209.92
Sig.		.660

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1389.556.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b Alpha = .05.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
INTERAKSI	11	kontrol bulan 1	3
	12	kontrol bulan 2	3
	13	kontrol bulan 3	3
	21	0,2 ppm ikan bulan 1	3
	22	0,2 ppm ikan bulan 2	3
	23	0,2 ppm ikan bulan 3	3
	31	0,2 ppm formalin bulan 1	3
	32	0,2 ppm formalin bulan 2	3
	33	0,2 ppm formalin bulan 3	3
	41	0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3
	42	0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3
	43	0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SGOT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	103469.222(a)	11	9406.293	6.769	.000
Intercept	1463293.444	1	1463293.444	1053.066	.000
INTERAKSI	103469.222	11	9406.293	6.769	.000
Error	33349.333	24	1389.556		
Total	1600112.000	36			
Corrected Total	136818.556	35			

a R Squared = .756 (Adjusted R Squared = .645)

Homogenous Subsets

SGOT

Tukey HSD

INTERAKSI	N	Subset			
		1	2	3	4
kontrol bulan 3	3	114.67			
kontrol bulan 2	3	130.33	130.33		
kontrol bulan 1	3	172.67	172.67	172.67	
0,2 ppm ikan bulan 3	3	173.00	173.00	173.00	
0,2 ppm ikan bulan 2	3	174.33	174.33	174.33	
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3	190.00	190.00	190.00	190.00
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3	194.67	194.67	194.67	194.67
0,2 ppm ikan bulan 1	3	201.00	201.00	201.00	201.00
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3		234.67	234.67	234.67
0,2 ppm formalin bulan 3	3			264.00	264.00
0,2 ppm formalin bulan 1	3			271.33	271.33
0,2 ppm formalin bulan 2	3				298.67
Sig.		.226	.073	.106	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1389.556.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Lampiran 5. Analisa Kadar SGPT Dalam Darah Mencit Selama Perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
PERLAKUAN	1	kontrol nol	9
	2	0,2 ppm ikan	9
	3	0,2 ppm formalin	9
	4	0,2 ppm ikan berformalin	9
BULAN	1	1 bulan	12
	2	2 bulan	12
	3	3 bulan	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SGPT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5047.639(a)	11	458.876	3.040	.011
Intercept	151450.694	1	151450.694	1003.354	.000
PERLAKUAN	3370.750	3	1123.583	7.444	.001
BULAN	236.722	2	118.361	.784	.468
PERLAKUAN * BULAN	1440.167	6	240.028	1.590	.193
Error	3622.667	24	150.944		
Total	160121.000	36			
Corrected Total	8670.306	35			

a R Squared = .582 (Adjusted R Squared = .391)

Homogenous Subsets

SGPT

Tukey HSD

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
kontrol nol	9	48.33	
0,2 ppm ikan	9		67.78
0,2 ppm ikan berformalin	9		71.33
0,2 ppm formalin	9		72.00
Sig.		1.000	.884

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 150.944.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b Alpha = .05.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGPT

Tukey HSD

(I) BULAN	(J) BULAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 bulan	2 bulan	6.25	5.016	.439	-6.28	18.78
	3 bulan	3.67	5.016	.748	-8.86	16.19
2 bulan	1 bulan	-6.25	5.016	.439	-18.78	6.28
	3 bulan	-2.58	5.016	.865	-15.11	9.94
3 bulan	1 bulan	-3.67	5.016	.748	-16.19	8.86
	2 bulan	2.58	5.016	.865	-9.94	15.11

Based on observed means.

Homogenous Subsets

SGPT

Tukey HSD

BULAN	N	Subset 1
2 bulan	12	61.92
3 bulan	12	64.50
1 bulan	12	68.17
Sig.		.439

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 150.944.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b Alpha = .05.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
INTERAKSI	11	kontrol bulan 1	3
	12	kontrol bulan 2	3
	13	kontrol bulan 3	3
	21	0,2 ppm ikan bulan 1	3
	22	0,2 ppm ikan bulan 2	3
	23	0,2 ppm ikan bulan 3	3
	31	0,2 ppm formalin bulan 1	3
	32	0,2 ppm formalin bulan 2	3
	33	0,2 ppm formalin bulan 3	3
	41	0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3
	42	0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3
	43	0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SGPT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5047.639(a)	11	458.876	3.040	.011
Intercept	151450.694	1	151450.694	1003.354	.000
INTERAKSI	5047.639	11	458.876	3.040	.011
Error	3622.667	24	150.944		
Total	160121.000	36			
Corrected Total	8670.306	35			

a R Squared = .582 (Adjusted R Squared = .391)

Homogenous Subsets

SGPT

Tukey HSD

INTERAKSI	N	Subset	
		1	2
kontrol bulan 2	3	44.00	
kontrol bulan 3	3	45.67	
kontrol bulan 1	3	55.33	55.33
0,2 ppm formalin bulan 2	3	58.00	58.00
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3	64.00	64.00
0,2 ppm ikan bulan 3	3	65.67	65.67
0,2 ppm ikan bulan 1	3	67.33	67.33
0,2 ppm ikan bulan 2	3	70.33	70.33
0,2 ppm formalin bulan 3	3	72.00	72.00
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3	74.67	74.67
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3	75.33	75.33
0,2 ppm formalin bulan 1	3		86.00
Sig.		.134	.152

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 150.944.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Lampiran 6. Analisa Berat Organ Hati Mencit Selama Perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
PERLAKUAN	1	kontrol nol	9
	2	0,2 ppm ikan	9
	3	0,2 ppm formalin	9
	4	0,2 ppm ikan berformalin	9
BULAN	1	1 bulan	12
	2	2 bulan	12
	3	3 bulan	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HATI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.002(a)	11	.000	1.468	.208
Intercept	.091	1	.091	776.878	.000
PERLAKUAN	.001	3	.000	2.124	.124
BULAN	.001	2	.000	2.474	.105
PERLAKUAN * BULAN	.001	6	9.452E-05	.804	.576
Error	.003	24	.000		
Total	.096	36			
Corrected Total	.005	35			

a R Squared = .402 (Adjusted R Squared = .128)

Homogenous Subsets

HATI

Tukey HSD

PERLAKUAN	N	Subset
		1
kontrol nol	9	.04311
0,2 ppm formalin	9	.05078
0,2 ppm ikan berformalin	9	.05189
0,2 ppm ikan	9	.05567
Sig.		.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = .000.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b Alpha = .05.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HATI

Tukey HSD

(I) BULAN	(J) BULAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 bulan	2 bulan	-.00450	.004426	.574	-.01555	.00655
	3 bulan	-.00983	.004426	.088	-.02089	.00122
2 bulan	1 bulan	.00450	.004426	.574	-.00655	.01555
	3 bulan	-.00533	.004426	.462	-.01639	.00572
3 bulan	1 bulan	.00983	.004426	.088	-.00122	.02089
	2 bulan	.00533	.004426	.462	-.00572	.01639

Based on observed means.

Homogenous Subsets

HATI

Tukey HSD

BULAN	N	Subset
		1
1 bulan	12	.04558
2 bulan	12	.05008
3 bulan	12	.05542
Sig.		.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = .000.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b Alpha = .05.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
INTERAKSI	11	kontrol bulan 1	3
	12	kontrol bulan 2	3
	13	kontrol bulan 3	3
	21	0,2 ppm ikan bulan 1	3
	22	0,2 ppm ikan bulan 2	3
	23	0,2 ppm ikan bulan 3	3
	31	0,2 ppm formalin bulan 1	3
	32	0,2 ppm formalin bulan 2	3
	33	0,2 ppm formalin bulan 3	3
	41	0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3
	42	0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3
	43	0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HATI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.002(a)	11	.000	1.468	.208
Intercept	.091	1	.091	776.878	.000
INTERAKSI	.002	11	.000	1.468	.208
Error	.003	24	.000		
Total	.096	36			
Corrected Total	.005	35			

a R Squared = .402 (Adjusted R Squared = .128)

Homogenous Subsets

HATI

Tukey HSD

INTERAKSI	N	Subset
		1
kontrol bulan 1	3	.03600
kontrol bulan 2	3	.04033
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	3	.04600
0,2 ppm ikan bulan 1	3	.04733
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	3	.04933
0,2 ppm formalin bulan 1	3	.04967
0,2 ppm formalin bulan 3	3	.04967
kontrol bulan 3	3	.05300
0,2 ppm formalin bulan 2	3	.05300
0,2 ppm ikan bulan 3	3	.05867
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	3	.06033
0,2 ppm ikan bulan 2	3	.06100
Sig.		.231

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = .000.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Lampiran 7. Analisa Apoptosis Sel Hati Mencit Selama Perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
PERLAKUAN	1	kontrol nol	18
	2	0,2 ppm ikan	18
	3	0,2 ppm formalin	18
	4	0,2 ppm ikan berformalin	18
BULAN	1	1 bulan	24
	2	2 bulan	24
	3	3 bulan	24

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: APOPTOSIS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7486.187(a)	11	680.562	105.205	.000
Intercept	24817.111	1	24817.111	3836.368	.000
PERLAKUA	4742.579	3	1580.860	244.378	.000
BULAN	1776.750	2	888.375	137.330	.000
PERLAKUAN * BULAN	966.859	6	161.143	24.910	.000
Error	388.134	60	6.469		
Total	32691.432	72			
Corrected Total	7874.322	71			

a R Squared = .951 (Adjusted R Squared = .942)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: APOPTOSIS

Tukey HSD

(I) BULAN	(J) BULAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 bulan	2 bulan	-.78720	.734218	.535	-2.55168	.97729
	3 bulan	-10.90940(*)	.734218	.000	-12.67388	-9.14492
2 bulan	1 bulan	.78720	.734218	.535	-.97729	2.55168
	3 bulan	-10.12220(*)	.734218	.000	-11.88669	-8.35772
3 bulan	1 bulan	10.90940(*)	.734218	.000	9.14492	12.67388
	2 bulan	10.12220(*)	.734218	.000	8.35772	11.88669

Based on observed means.

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

Homogenous Subsets

APOPTOSIS

Tukey HSD

PERLAKUAN	N	Subset			
		1	2	3	4
kontrol nol	18	5.71641			
0,2 ppm ikan	18		18.93948		
0,2 ppm ikan berformalin	18			21.60816	
0,2 ppm formalin	18				27.99841
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 6.458.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

b Alpha = .05.

Homogenous Subsets

Tukey HSD

BULAN	N	Subset	
		1	2
1 bulan	24	14.66675	
2 bulan	24	15.45395	
3 bulan	24		25.57615
Sig.		.535	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 6.458.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000.

b Alpha = .05.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
INTERAKSI	11	kontrol bulan 1	6
	12	kontrol bulan 2	6
	13	kontrol bulan 3	6
	21	0,2 ppm ikan bulan 1	6
	22	0,2 ppm ikan bulan 2	6
	23	0,2 ppm ikan bulan 3	6
	31	0,2 ppm formalin bulan 1	6
	32	0,2 ppm formalin bulan 2	6
	33	0,2 ppm formalin bulan 3	6
	41	0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	6
	42	0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	6
	43	0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: APOPTOSIS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7486.187(a)	11	680.562	105.205	.000
Intercept	24817.111	1	24817.111	3836.368	.000
INTERAKSI	7486.187	11	680.562	105.205	.000
Error	388.134	60	6.469		
Total	32691.432	72			
Corrected Total	7874.322	71			

a R Squared = .951 (Adjusted R Squared = .942)

Homogenous Subsets

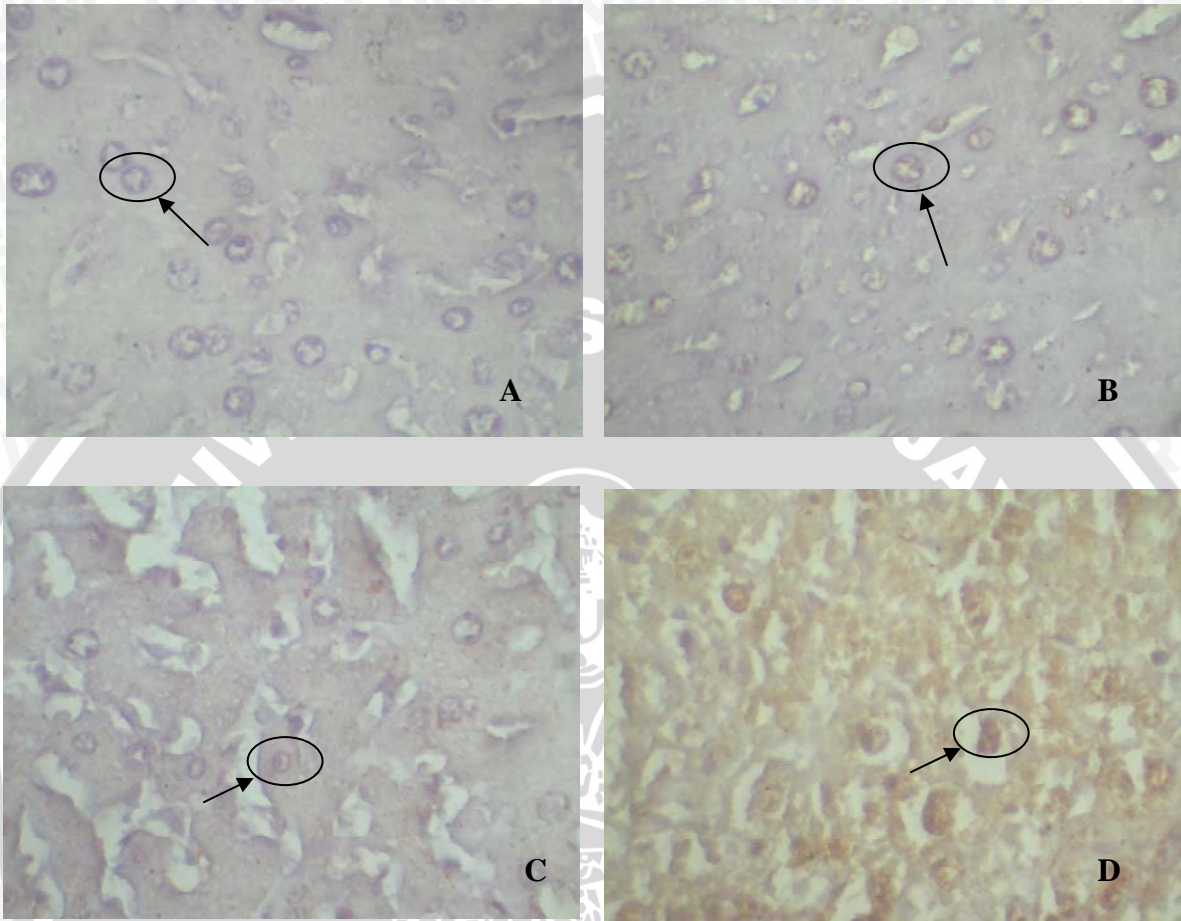
APOPTOSI

INTERAKSI	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
kontrol bulan 3	6	5.318					
kontrol bulan 1	6	5.507					
kontrol bulan 2	6	6.322					
0,2 ppm ikan bulan 2	6		13.815				
0,2 ppm ikan bulan 1	6		14.668				
0,2 ppm ikan berformalin bulan 1	6		16.323	16.323			
0,2 ppm formalin bulan 2	6			20.665	20.665		
0,2 ppm ikan berformalin bulan 2	6			21.012	21.012		
0,2 ppm formalin bulan 1	6				22.168		
0,2 ppm ikan berformalin bulan 3	6					27.488	
0,2 ppm ikan bulan 3	6					28.335	
0,2 ppm formalin bulan 3	6						41.162
Sig.		1.000	.857	.085	.997	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 6.458.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b Alpha = .05.

Lampiran 8. Gambar Apoptosis Sel Hati Selama Perlakuan

Gambar sel hati menciut selama perlakuan, sel apoptosis tampak pada gambar yang dilingkari dan berwarna coklat (Perbesaran 1000x). Keterangan gambar: (A) Perlakuan kontrol nol, (B) Perlakuan 0,2 ppm ikan, (C) Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin, dan (D) Perlakuan 0,2 ppm formalin.

Lampiran 9. Analisa Asam Amino

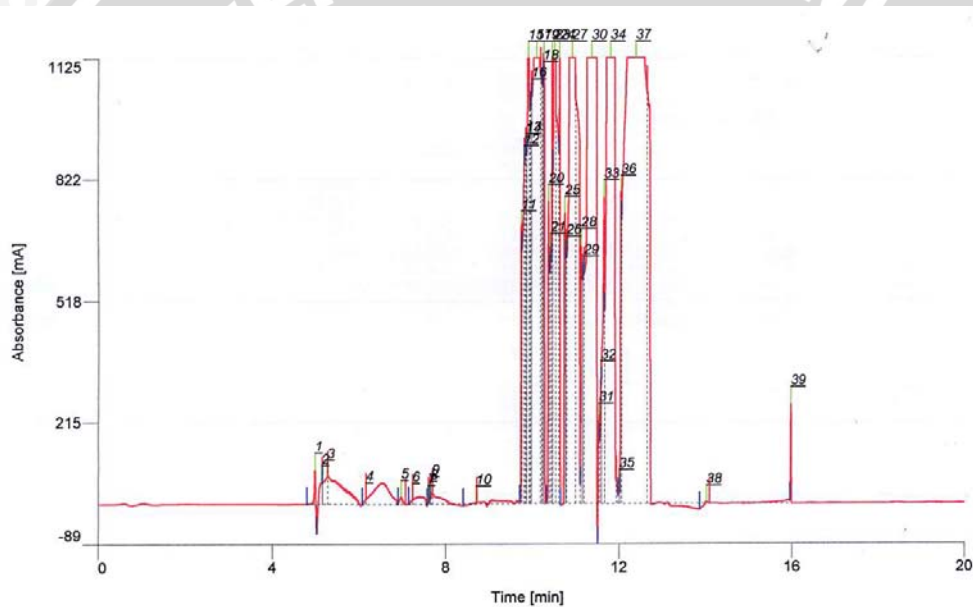
Rumus Perhitungan

Area Standar = Area Sampel x 100%

Konsentrasi sampel = $\frac{\text{Area Sampel}}{\text{Area Standar}} \times \text{Konsentrasi Standar}$

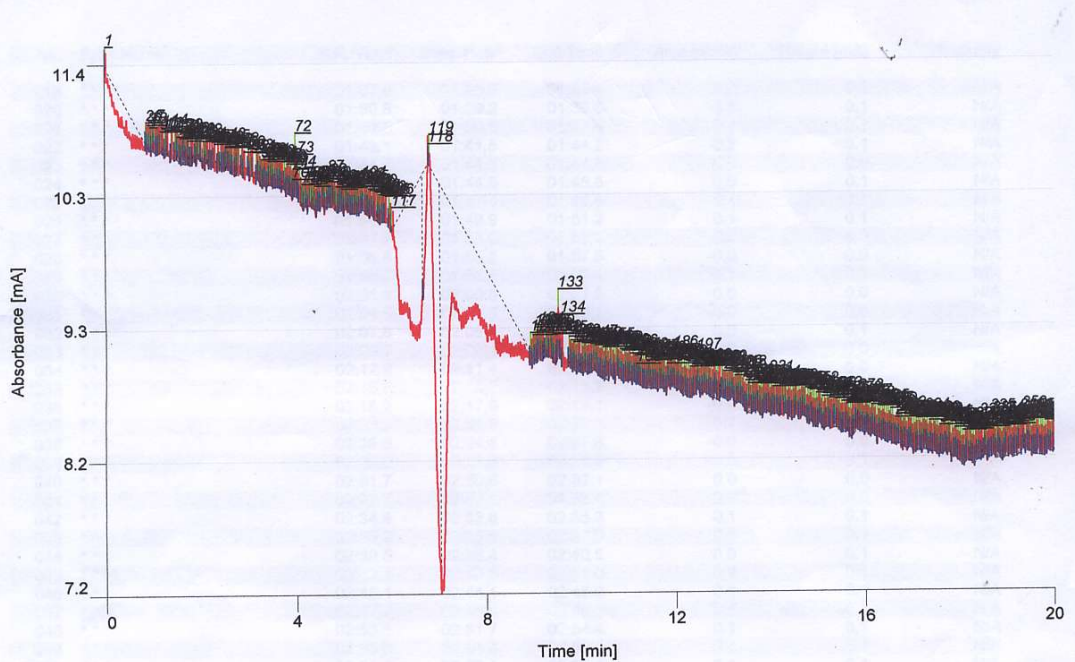
% Asam Amino = $\frac{\text{Konsentrasi Sampel} \times \text{Volume Total}}{\text{Volume Cuplikan}} \times 100\%$

Residu Ikan Nila Tanpa Perlakuan



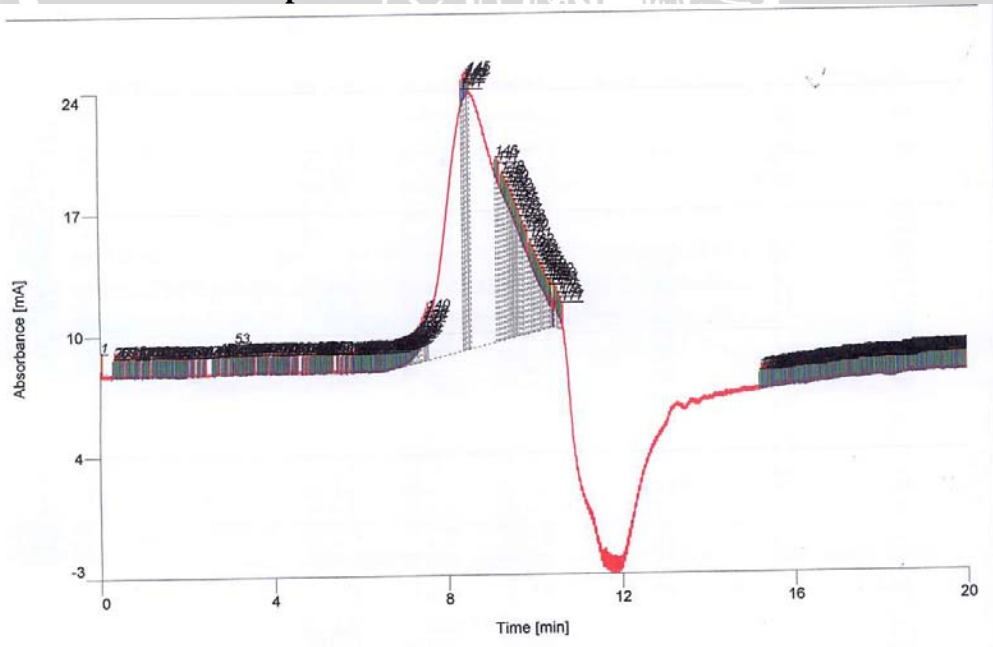
No	AA	RT	A.Sp	A.St	K.St	K.Sp (ppm)	K.Sp (mg/ml)	V.Tot	V.C	%AA
1	Asp	6.58	91.3	18.717	1	4.878	0.0049	10	1	4.878
2	Ser	7.13	36.5	7.574	1	4.819	0.0048	10	1	4.819
3	Glu	7.4	68.3	14.685	1	4.651	0.0047	10	1	4.651
4	Thr	9.44	695.2	170.324	1	4.082	0.0041	10	1	4.082
5	Arg	10.3	4580.2	1156.042	1	3.962	0.0040	10	1	3.962
6	Ala	10.44	1371.7	347.314	1	3.949	0.0039	10	1	3.949
7	Pro	12.23	37759.8	9877.964	1	3.823	0.0038	10	1	3.823
8	Cys	14.01	-62.1	-16.767	1	3.704	0.0037	10	1	3.704
9	Met	15.58	243	68.040	1	3.571	0.0036	10	1	3.571

Residu Ikan Nila Diredam Larutan Formalin



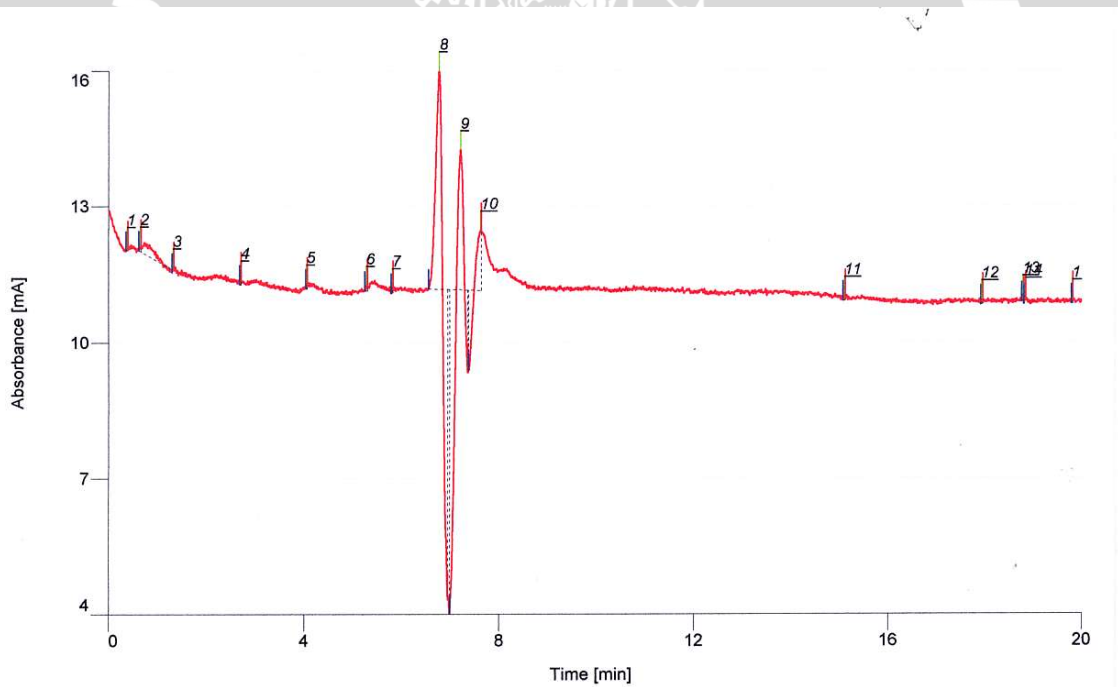
No	AA	RT	A.Sp	A.St	K.St	K.Sp (ppm)	K.Sp (mg/ml)	V.Tot	V.C	%AA
1	Thr	9.53	0.2	0.050	1	4.000	0.0040	10	1	4.000
2	Arg	10.36	0.2	0.051	1	3.949	0.0039	10	1	3.949
3	Ala	10.44	0.1	0.025	1	3.949	0.0039	10	1	3.949

Filtrat Ikan Nila Tanpa Perlakuan



No	AA	RT	A.Sp	%B	A.St	K.St	K.Sp (ppm)	K.Sp (mg/ml)	V.Tot	V.C	%AA
1	Asp	6.43	0.3	20	0.060	1	5.000	0.0050	10	1	5.000
2	Ser	7.13	1.2	20.8	0.249	1	4.819	0.0048	10	1	4.819
3	Glu	7.32	4.3	21.3	0.914	1	4.706	0.0047	10	1	4.706
4	Gly	8.32	22.8	37.7	8.577	1	2.653	0.0027	10	1	2.653
5	Thr	9.12	22.8	23.8	5.415	1	4.211	0.0042	10	1	4.211
6	Arg	10.4	1	25.3	0.253	1	3.949	0.0039	10	1	3.949
7	Met	15.4	0.3	27.8	0.083	1	3.595	0.0036	10	1	3.595
8	Val	16.2	0.2	28.2	0.056	1	3.551	0.0036	10	1	3.551
9	Phe	18.3	0.2	29.2	0.058	1	3.420	0.0034	10	1	3.420
10	Ile	19.2	0.2	29.7	0.059	1	3.372	0.0034	10	1	3.372
11	Leu	19.5	0.3	29.9	0.090	1	3.344	0.0033	10	1	3.344

Filtrat Ikan Nila Direndam Larutan Formalin



No	AA	RT	A.Sp	%B	A.St	K.St	K.Sp (ppm)	K.Sp (mg/ml)	V.Tot	V.C	%AA
1	Thr	9.53	0.2	25	0.050	1	4.000	0.0040	10	1	4.000
2	Arg	10.4	0.2	25.3	0.051	1	3.949	0.0039	10	1	3.949
3	Ala	10.4	0.1	25.3	0.025	1	3.949	0.0039	10	1	3.949

Lampiran 10. Perhitungan Persentase Jumlah Sel Apoptosis

Paparan 1 bulan

Lama Paparan	Jenis Paparan	Jumlah Sel Pengamatan	Jumlah Sel Apoptosis	% Sel Apoptosis
1 Bulan	0	1082	32	2.957486
		1020	61	5.980392
		1124	79	7.02847
		1193	36	3.017603
		1035	83	8.019324
		1026	62	6.042885
	0.2 I	1156	127	10.98616
		1128	192	17.02128
		1038	135	13.00578
		1130	158	13.9823
		1138	182	15.99297
		1228	209	17.01954
	0.2 F	1140	308	27.01754
		1163	244	20.98022
		1053	211	20.03799
		1182	260	21.99662
		1031	206	19.9806
		1035	238	22.99517
	0.2 IF	1102	132	11.97822
		1122	213	18.98396
		1068	139	13.01498
1242		211	16.98873	
1068		224	20.97378	
1125		180	16	

Paparan 2 Bulan

Lama Paparan	Jenis Paparan	Jumlah Sel Pengamatan	Jumlah Sel Apoptosis	% Sel Apoptosis
2 Bulan	0	1286	39	3.033
		1036	62	5.985
		1080	97	8.981
		1287	103	8.003
		1288	64	4.969
		1206	84	6.965
	0.2 I	1268	139	10.962
		1132	113	9.982
		1080	205	18.981
		1152	138	11.979
		1240	186	15.000
		1076	172	15.985
	0.2 F	1088	228	20.956
		1090	229	21.009
		1058	265	25.047
		1153	242	20.989
		1028	195	18.969
		1128	192	17.021
	0.2 IF	1149	264	22.977
		1103	232	21.034
		1108	211	19.043
1003		221	22.034	
1010		212	20.990	
950		190	20.000	

Paparan 3 Bulan

Lama Paparan	Jenis Paparan	Jumlah Sel Pengamatan	Jumlah Sel Apoptosis	% Sel Apoptosis
3 Bulan	0	984	79	8.028
		1160	58	5.000
		1085	54	4.977
		1036	41	3.958
		1048	31	2.958
		1044	73	6.992
	0.2 I	1184	320	27.027
		1116	346	31.004
		1110	322	29.009
		1044	292	27.969
		1196	311	26.003
		1100	319	29.000
	0.2 F	1130	463	40.973
		1098	461	41.985
		1158	452	39.033
		1209	532	44.003
		1212	509	41.997
		1275	497	38.980
	0.2 IF	1095	361	32.968
		1096	296	27.007
		1185	320	27.004
1101		242	21.980	
1107		299	27.010	
1212		351	28.960	