

**PENGARUH PAPARAN BERULANG
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) BERFORMALIN 0.5 ppm SECARA ORAL
TERHADAP PERUBAHAN FISILOGIS F1 MENCIT (*Mus musculus*) BETINA
DARI INDUK YANG TERPAPAR 2 BULAN**

**SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
NURDIANI FAIZAH
NIM. 0310830072



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN
MALANG
2007**

RINGKASAN

NURDIANI FAIZAH. Skripsi Tentang Pengaruh Paparan Berulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin 0.5 ppm Secara Oral Terhadap Perubahan Fisiologi F1 Mencit (*Mus musculus*) Betina Dari Induk Yang Terpapar 2 Bulan (di bawah bimbingan **Ir. Hartati Kartikaningsih, MS dan Ir. Dwi Setijawati, M. Kes**).

Formalin adalah larutan yang tidak berwarna dan baunya sangat menusuk. Formalin mengandung sekitar 37 persen formaldehid dalam air, dan biasanya ditambahkan metanol hingga 15 persen sebagai pengawet. Dalam konsentrasi yang sangat kecil (di bawah satu persen), digunakan sebagai pengawet untuk berbagai barang konsumen seperti pembersih rumah tangga, cairan pencuci piring, pelembut, digunakan juga sebagai antiseptic dan anti bakteri. Formalin bagi tubuh manusia diketahui sebagai zat beracun, karsinogen yang menyebabkan kanker, mutagen yang menyebabkan perubahan sel dan jaringan tubuh, korosif serta iritatif. Formaldehid berinteraksi dengan molekul membran sel dan jaringan tubuh dan cairan (seperti protein dan DNA) dan merusak fungsi sel. Berdasarkan hal tersebut perlu dibuktikan apakah efek toksik dari formalin yang dipaparkan ke induk akan menurun ke anaknya. Paparan berulang ikan nila berformalin 0,5 ppm pada F1 mencit dari induk yang terpapar selama dua bulan digunakan sebagai pendekatan untuk mengetahui pengaruh tersebut.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2006 – Januari 2007 di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh paparan berulang ikan berformalin 0.5 ppm secara oral terhadap perubahan fisiologi F1 mencit betina dari induk yang terpapar selama 2 bulan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental menggunakan rancangan percobaan uji t berpasangan (Uji Nyata Terkecil/UNT) dengan bantuan program minitab 13. Untuk analisa Non Parametrik digunakan analisa *Mann-Whitney*. Unit perlakuan yang dicobakan adalah kontrol (hanya diberi pakan pellet) dan ikan berformalin 0,5 ppm masing-masing dengan 6 kali ulangan. Parameter uji dalam penelitian ini adalah kimia darah F1 mencit yang meliputi tes fungsi hati (kadar SGOT, SGPT, albumin, globulin), tes fungsi ginjal (kreatinin), serta kadar formaldehid dalam serum darah. Parameter uji yang lain adalah berat organ F1 mencit (hati, ginjal, lambung, dan usus), persentase kematian F1 mencit, dan kondisi makroskopis organ dari F1 mencit yang mengalami kematian. Selain itu juga dilakukan observasi klinis terhadap F1 mencit setiap hari.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan berulang ikan nila berformalin 0.5 ppm menimbulkan berbagai efek pada F1 mencit betina, di antaranya terhadap kimia darah, berat organ, perubahan klinis, serta kondisi organ. Dari hasil analisa data dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol dan 0.5 ppm ikan berformalin berbeda nyata ($P < 0.05$) terhadap

kadar albumin, kreatinin, formaldehid dalam serum darah, berat hati, ginjal, dan usus. Sedangkan untuk kadar SGOT, SGPT, globulin dan berat lambung tidak berbeda nyata ($P>0.05$). Perubahan klinis yang terjadi pada F1 mencit adalah rambut berdiri (11.11%), dan tumor (16.67%). Persentase F1 mencit yang mengalami kematian adalah 22.22%, jumlah ini meningkat dibandingkan dengan kematian induk mencit yaitu 11.43%. Kondisi organ pada F1 mencit yang mengalami kematian adalah usus dan lambung membesar, serta hati pucat menghitam, sedangkan kondisi makroskopis ginjal normal.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

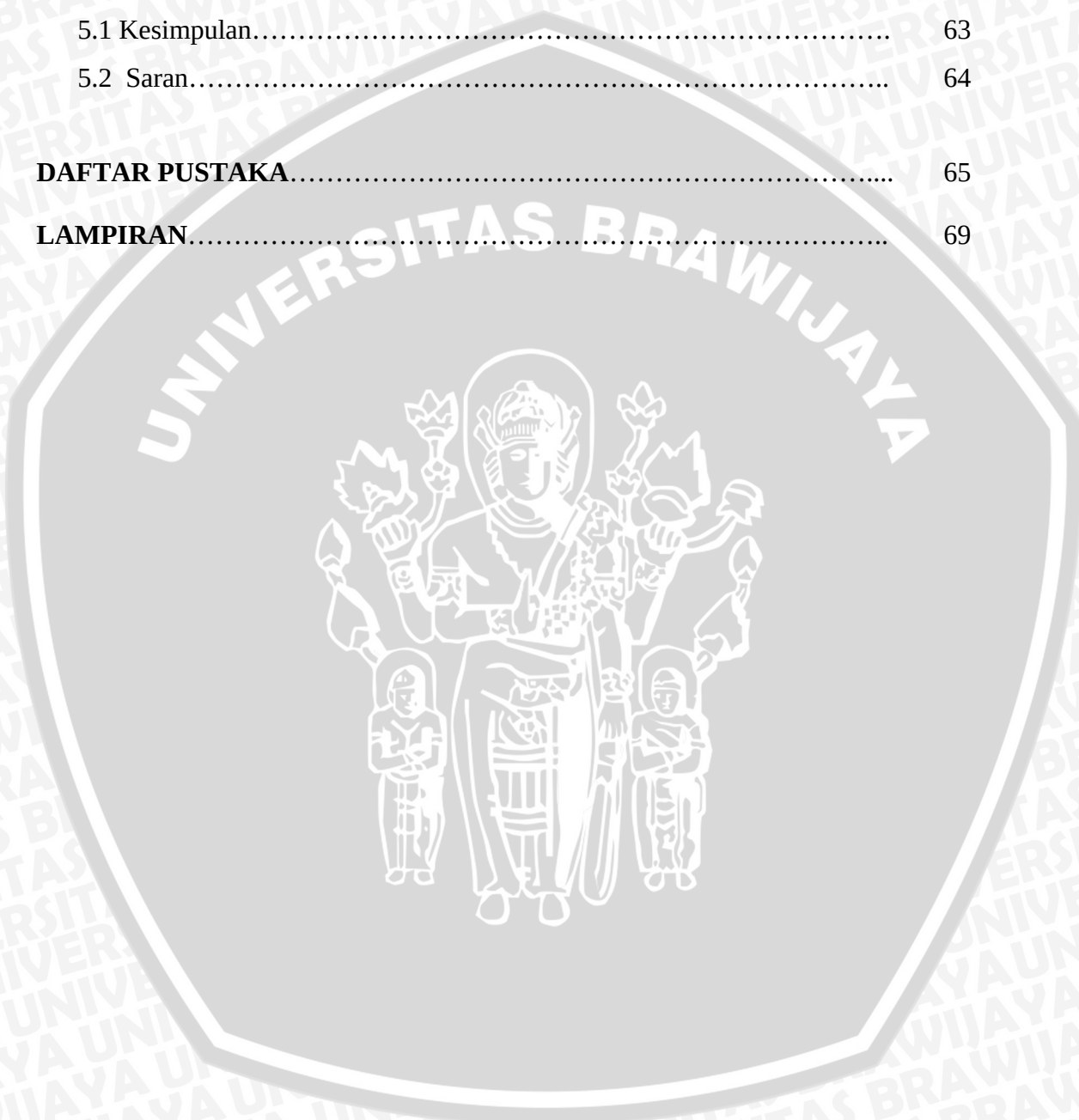


DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesa.....	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	4
 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Formalin.....	5
2.1.1 Karakteristik Formalin.....	5
2.1.2 Kegunaan Formalin.....	7
2.1.3 Metabolisme Formaldehid Dalam Tubuh.....	9
2.1.4 Reaksi Formaldehid Dengan Protein.....	11
2.1.5 Ikatan Silang DNA – Formaldehid – Protein.....	13
2.1.6 Efek Toksik Formalin.....	14
2.2 Penurunan Toksikan Dari Induk Ke Anak.....	16
2.3 Organ Sasaran Toksikan.....	17
2.3.1 Toksikologi Hati.....	18
2.3.2 Toksikologi Ginjal.....	19
2.3.3 Protein Plasma.....	20

2.3.4 Darah.....	21
2.4 Pengamatan dan Pemeriksaan Efek Toksikan.....	22
2.5 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	23
2.6 Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sebagai Hewan Uji.....	24
3. MATERI DAN METODOLOGI	
3.1 Materi Penelitian.....	28
3.1.1 Bahan Penelitian.....	28
3.1.2 Peralatan Penelitian.....	28
3.2 Metode Penelitian.....	29
3.2.1 Variabel.....	30
3.2.2 Prosedur Penelitian.....	31
3.2.2.1 Penyediaan 0.5 ppm Ikan Berformalin.....	31
3.2.2.2 Perlakuan Pemberian 0.5 ppm Ikan Berformalin.....	33
3.2.2.3 Pembedahan Mencit.....	35
3.2.2.4 Preparasi Serum Mencit.....	35
3.2.3 Pengumpulan Data.....	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kondisi Umum Induk Mencit.....	45
4.2 Tes Fungsi Hati.....	45
4.2.1 SGOT (<i>Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase</i>) F1 Mencit..	45
4.2.2 SGPT (<i>Serum Glutamat Piruvat Transaminase</i>) F1 Mencit.....	46
4.2.3 Albumin F1 Mencit.....	47
4.2.4 Globulin F1 Mencit.....	48
4.3 Tes Fungsi Ginjal.....	49
4.3.1 Kreatinin F1 Mencit.....	49
4.4 Kadar Formaldehid Dalam Serum Darah F1 Mencit.....	51
4.5 Berat Organ F1 Mencit.....	52
4.5.1 Hati.....	52
4.5.2 Ginjal.....	53
4.5.3 Lambung.....	54
4.5.4 Usus.....	55

4.6 Observasi Klinis F1 Mencit.....	56
4.7 Kematian F1 Mencit.....	58
4.8 Pemeriksaan F1 Mencit Pascamati.....	59
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	63
5.2 Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN.....	69



DAFTAR TABEL

NO	Tabel	Halaman
1.	Sifat-sifat Fisika dan Kimia Formalin.....	7
2.	Komposisi Kimia Ikan Nila.....	24
3.	Data Biologi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	26
4.	Data Hematologi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	27
5.	Rancangan Penelitian Paparan Ikan Berformalin 0.5 ppm.....	29
6.	Volume Cekok Berdasarkan Berat Badan Mencit.....	34
7.	Gambaran Umum Kondisi Induk Mencit.....	45
8.	Perbandingan Kadar SGOT Mencit Sehat – F1 Mencit.....	46
9.	Perbandingan Kadar SGPT Mencit Sehat – F1 Mencit....	46
10.	Perbandingan Kadar Albumin Mencit Sehat – F1 Mencit.....	47
11.	Kadar Globulin F1 Mencit.....	48
12.	Perbandingan Kadar Kreatinin Mencit Sehat – F1 Mencit.....	50
13.	Kadar Rata-rata Formaldehid Dalam Serum Darah F1 Mencit.....	51
14.	Berat Rata-rata Hati F1 Mencit.....	52
15.	Berat Rata-rata Ginjal F1 Mencit.....	53
16.	Berat Rata-rata Lambung F1 Mencit.....	54
17.	Berat Rata-rata Usus F1 Mencit.....	55
18.	Observasi Klinis F1 Mencit.....	56
19.	Persentase Kematian F1 Mencit.....	58
20.	Pengamatan Makroskopis Organ F1 Mencit Yang Mati.....	59

DAFTAR GAMBAR

NO	Gambar	Halaman
1.	Struktur Bangun Formaldehid.....	5
2.	Jalur Metabolisme Formaldehid.....	9
3.	Ikatan Silang Lisin.....	12
4.	Ikatan Silang Formaldehid – DNA - Protein.....	14
5.	Pengenceran Bertingkat Ikan Nila Berformalin.....	31
6.	Skema Pembuatan Ikan Nila Berformalin.....	32
7.	<i>Automatic Analyzer</i> Hitachi 902 Untuk Pengujian Kualitas Serum Mencit.....	36
8.	Shimatsu Spectronic SPD 6A Untuk Pengujian Kadar Formaldehid Dalam Serum dan Urin Mencit.....	36
9.	Skema Kerja Penelitian.....	37
10.	F1 Mencit Dengan Rambut Berdiri.....	57
11.	Tumor Pada F1 Mencit.....	58
12.	Kondisi Usus F1 Mencit Betina.....	61
12.	Kondisi Lambung F1 Mencit Betina.....	62
13.	Kondisi Hati F1 Mencit Betina.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

NO	Lampiran	Halaman
1.	Hasil Analisa Uji Kimia Darah F1 Mencit Betina.....	68
2.	Hasil Analisa Uji Berat Organ F1 Mencit Betina.....	71
3.	Data Klinis F1 Mencit Betina.....	73
4.	Data Kematian F1 Mencit Betina.....	74

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Formalin merupakan suatu senyawa yang mengandung sebuah gugus karbonil yang terikat pada sebuah atau 2 buah atom H, cairan tidak berwarna dengan karakteristik bau menyengat, iritan dan menghasilkan aroma terbakar. Formalin dapat dicampur dengan alkohol dan air, namun tidak dapat dicampur dengan kloroform dan eter. Formalin merupakan nama dagang larutan formaldehida dalam air dengan kadar 36-40% dan mengandung alkohol sebanyak 10-15% yang berfungsi sebagai stabilisator agar formaldehidnya tidak mengalami polimerisasi. (Winarno, 1992).

Ikan merupakan salah satu sumber protein hewani yang kandungan proteinnya mencapai 20% dengan komposisi asam amino esensial yang lengkap. Selain itu ikan mengandung omega-3 yang penting bagi perkembangan jaringan otak, dan mencegah terjadinya penyakit jantung, stroke, dan darah tinggi. Sebagai sumber protein hewani, ikan harus memiliki tingkat kesegaran yang maksimal, yang ditandai dengan sifat-sifatnya yang masih sama dengan keadaan ikan hidup baik bau, rupa, cita rasa maupun teksturnya (Murniyati dan Sunarman, 2000). Namun dengan adanya protein dan kandungan air yang tinggi, antara 70-80%, menyebabkan ikan mudah mengalami kemunduran mutu karena kondisi tersebut merupakan sumber nutrisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk. Semakin menurunnya tingkat kesegaran ikan maka harga jualnya juga akan semakin menurun, kondisi ini sangat merugikan nelayan dan pedagang ikan. Oleh karena itu tingkat kesegaran ikan harus dipertahankan sampai ke tangan konsumen.

Formalin yang banyak digunakan sebagai bahan pengawet mayat ternyata juga banyak digunakan dalam berbagai produk makanan sebagai bahan pengawet. Penggunaan formalin

dalam proses pengawetan makanan merupakan cara untuk mengurangi biaya produksi. Pemerintah melalui peraturan Menteri Kesehatan RI No 722/MenKes/Per/IX/88 melarang formalin digunakan dalam makanan maupun minuman (Amiruddin, 2006).

Di dalam tubuh, formaldehid terakumulasi dalam sel, bereaksi dengan protein selular (kebanyakan enzim) dan DNA (mitokondria dan nuklear), serta merusak fungsi sel. Konsentrasi tinggi dapat menyebabkan presipitasi protein, yang menyebabkan kematian sel. Binatang percobaan yang menghisap formaldehida secara terus menerus akan terserang kanker dalam hidung dan tenggorokannya (Amiruddin, 2006).

Penelitian yang telah dilakukan Atmaningsih (2007), menunjukkan bahwa paparan berulang ikan berformalin 0,2 ppm selama 2 bulan menyebabkan timbulnya tumor dan perubahan fisiologi lainnya pada mencit betina. Untuk membuktikan bahwa formalin yang dipaparkan secara terus menerus dapat mengganggu ekspresi genetik yang normal, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap anak mencit dari induk yang sudah terpapar formalin selama 2 bulan. Paparan berulang 0,5 ppm ikan berformalin secara oral digunakan sebagai pendekatan untuk mengetahui pengaruh tersebut.

1.2 Identifikasi Masalah

Efek toksik sangat bervariasi dalam sifat, organ sasaran, maupun mekanisme kerjanya. Semua efek toksik terjadi karena interaksi biokimiawi antara toksikan (dan/atau metabolitnya) dengan struktur reseptor tertentu dalam tubuh (Lu, 1995).

Keragaman respon tubuh terhadap ketoksikan racun, salah satunya disebabkan oleh faktor genetika. Keadaan ini mungkin terjadi karena peristiwa mutasi DNA yang mengakibatkan perubahan struktur protein pembawa, pengikat, ataupun enzim pemetabolisme xenobiotika. Akibat yang ditimbulkan mungkin berupa kekurangan atau kekurangsempurnaan protein-protein tersebut, dengan demikian dapat mempengaruhi

keaktifan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (eliminasi) serta antaraksi antar racun dan sel sasaran. Karena itu, faktor genetika juga akan mempengaruhi ketoksikan racun (Donatus, 2001).

Formalin bagi tubuh manusia diketahui sebagai zat beracun, karsinogen yang menyebabkan kanker, mutagen yang menyebabkan perubahan sel dan jaringan tubuh, korosif serta iritatif (Widaryana, 2006). Ditambahkan oleh Amiruddin (2006), bahwa formaldehid berinteraksi dengan molekul membran sel dan jaringan tubuh dan cairan (seperti protein dan DNA) serta merusak fungsi sel.

Penelitian yang telah dilakukan Atmaningsih (2007), menunjukkan bahwa paparan berulang ikan berformalin 0,2 ppm selama 2 bulan menyebabkan timbulnya tumor dan perubahan fisiologi lainnya pada mencit betina. Selama ini belum dapat diketahui efek paparan formalin yang diturunkan dari induk kepada anaknya, terutama efek terhadap perubahan fisiologi dan kelainan genetik. Karena itu perlu dibuktikan apakah efek toksik dari formalin yang dipaparkan ke induk akan menurun ke anaknya. Paparan berulang ikan nila berformalin 0,5 ppm pada F1 mencit dari induk yang terpapar selama 2 bulan digunakan sebagai pendekatan untuk mengetahui pengaruh tersebut.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh paparan berulang ikan berformalin 0,5 ppm secara oral terhadap perubahan fisiologi F1 mencit betina dari induk yang terpapar selama 2 bulan.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dengan adanya penelitian ini akan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas dan instansi-instansi yang terkait akan bahaya formalin yang dapat berefek

pada kelainan genetik, sehingga formalin tidak lagi disalahgunakan sebagai pengawet makanan. Selain itu, hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi bahan referensi untuk penelitian lebih lanjut mengenai dampak penggunaan formalin terhadap tubuh.

1.5 Hipotesa

Paparan berulang ikan berformalin dengan konsentrasi 0,5 ppm secara oral dapat menyebabkan kerusakan/perubahan fisiologi pada F1 mencit betina dari induk yang terpapar 2 bulan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2006-Januari 2007.



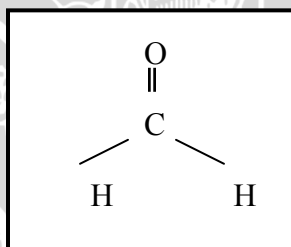
2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

2.1.1 Karakteristik Formalin

Formalin adalah larutan yang tidak berwarna dan baunya sangat menusuk. Di dalam formalin terkandung sekitar 37% formaldehid dalam air. Biasanya ditambahkan metanol hingga 15% sebagai pengawet. Formalin merupakan anggota paling sederhana dari kelompok aldehid dengan rumus kimia HCHO dan dikenal luas sebagai bahan pembunuh hama (desinfektan) dan banyak digunakan dalam industri (Anonymous, 2006a).

Struktur bangun dari formaldehid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Bangun Formaldehid (Harisson, 2005).

Menurut Nurachman (2005), formalin yang dijual di toko-toko kimia merupakan campuran 37 bagian formaldehid (atau methanol, dengan rumus kimia CH_2O) dan 63 bagian air. Formaldehid murni (kadar 100%) sangat langka di pasar, karena berwujud gas tidak berwarna dan berbau sangat tajam, dengan titik didih 21°C dan titik leleh 92°C . Formaldehid sangat beracun dan menyebabkan iritasi selaput lendir, pernapasan atas, mata, juga kulit. Dapat juga mengakibatkan reaksi alergi, kerusakan ginjal, kerusakan gen dan mutasi yang dapat diwariskan.

Meskipun dalam udara bebas formaldehida berada dalam wujud gas, tetapi dapat larut dalam air. Dalam air, formaldehida mengalami polimerisasi, sedikit sekali yang ada dalam

bentuk monomer H_2CO . Umumnya, larutan ini mengandung beberapa persen metanol untuk membatasi polimerisasinya. Walaupun formaldehida menampilkan sifat kimiawi seperti pada umumnya aldehida, senyawa ini lebih reaktif daripada aldehida lainnya. Formaldehida merupakan elektrofil, dapat digunakan dalam reaksi substitusi aromatik elektrofilik dan senyawa aromatik serta dapat mengalami reaksi adisi elektrofilik dan alkena. Formaldehida dapat membentuk trimer siklik, 1, 3, 5-trioksan atau polimer linier polioksimetilen. Formasi zat ini menjadikan tingkah laku gas formaldehida berbeda dari hukum gas ideal, terutama dalam tekanan tinggi atau udara dingin (Anonymous, 2007a).

Formalin biasanya diperdagangkan di pasaran dengan nama yang berbeda-beda antara lain: *Formol, Morbucid, Methanal, Formic aldehyde, Methyl oxide, Oxymethylene, Methylene aldehyde, Oxomethane, Formoform, Formalith, Karsan, Methylene glycol, Paraforin, Polyoxymethylene glycols, superlysoform, Tetraoxymethylene, Trioxane* (Syarifah, 2006).

Formalin masuk ke dalam tubuh manusia melalui 2 jalan yaitu mulut, dan pernapasan. Formalin sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit, dan tertelan. Jika kandungan dalam tubuh tinggi, akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat di dalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel yang mengakibatkan kerusakan pada organ tubuh. Beberapa penelitian terhadap tikus dan anjing, pemberian formalin dalam dosis tertentu dan jangka panjang secara bermakna mengakibatkan kanker saluran cerna seperti *pylorus* dan *adenocarcinoma duodenum*. (Judarwanto, 2006).

Formaldehida bisa dihasilkan dari membakar bahan yang mengandung karbon. Dikandung dalam asap dari kebakaran hutan, knalpot mobil, dan asap tembakau. Dalam atmosfer bumi, formaldehida dihasilkan dari aksi cahaya matahari dan oksigen terhadap

metana dan hidrokarbon lain yang ada di atmosfer. Formaldehida dalam kadar yang kecil sekali juga dihasilkan sebagai metabolit kebanyakan organisme, termasuk manusia (Anonymous, 2007a). Sifat-sifat fisik dan kimia formalin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat-sifat Fisik dan Kimia Formalin

No	Sifat	Keterangan
1	Nama sistematis	Metanal
2	Nama Lain	Formalin, formol, metil aldehida, metilen oksida
3	Rumus molekul	CH ₂ O
4	Massa molar	30,03 g/mol
5	Penampilan	Gas tidak berwarna
6	Densitas dan fase	1 g/m ³ dan gas
7	Kelarutan dalam air	>100 gr/100 ml (20°C)
8	Dalam eter, benzena, pelarut organik	Larut
9	Dalam kloroform	Tidak larut
10	Titik leleh	-117°C (156°K)
11	Titik didih	-19,3°C (253,9°K)
12	Bentuk molekul	Trigonal planar
13	Bahaya utama	Toksik, mudah terbakar
14	Aldehida yang berkaitan	Asetaldehida, benzaldehida
15	Senyawa yang berkaitan	Keton, asam karboksilat

Sumber: Anonymous (2007a).

2.1.2 Kegunaan Formalin

Larutan Formalin merupakan desinfektan yang efektif melawan bakteri vegetatif, jamur dan beberapa virus, tapi hanya bekerja efektif secara perlahan terhadap spora bakteri dan bakteri tahan asam. Formalin bereaksi terhadap protein yang kemudian dapat mengurangi kemampuannya melawan mikroorganisme. Efek sporisidal yang dimiliki formalin meningkat signifikan seiring dengan peningkatan temperatur. Formalin juga memiliki kemampuan penetrasi, polimerisasi cepat serta pengendapan di permukaan. Jika dipakai

pada kulit yang tidak luka, formalin dapat mengeraskan kulit, merusak kekuatannya dan memutihkan serta menghasilkan efek anastesi local (Anonymous, 2006b).

Formaldehida di dalam industri sebagian besar digunakan untuk produksi polimer dan berbagai macam bahan kimia. Jika digabungkan dengan fenol, urea, atau melamin, formaldehida menghasilkan resin termoset yang keras. Resin ini dipakai untuk lem permanent, misalnya untuk kayu lapis/tripleks atau karpet. Juga dalam bentuk busanya sebagai insulasi. Produksi resin formaldehida menghabiskan lebih dari setengahnya dari produksi formaldehida (Judarwanto, 2006).

Menurut Syarifah (2006), secara umum formalin digunakan untuk pembalsam atau pengawet mayat, pengawetan hewan-hewan, baik yang dilakukan para pemburu maupun para siswa dan mahasiswa di laboratorium, dalam dunia fotografi biasanya digunakan untuk pengeras lapisan gelatin dan kertas, bahan pembuatan pupuk dalam bentuk urea, bahan untuk pembuatan produk parfum, dan pencegah korosi untuk sumur minyak.

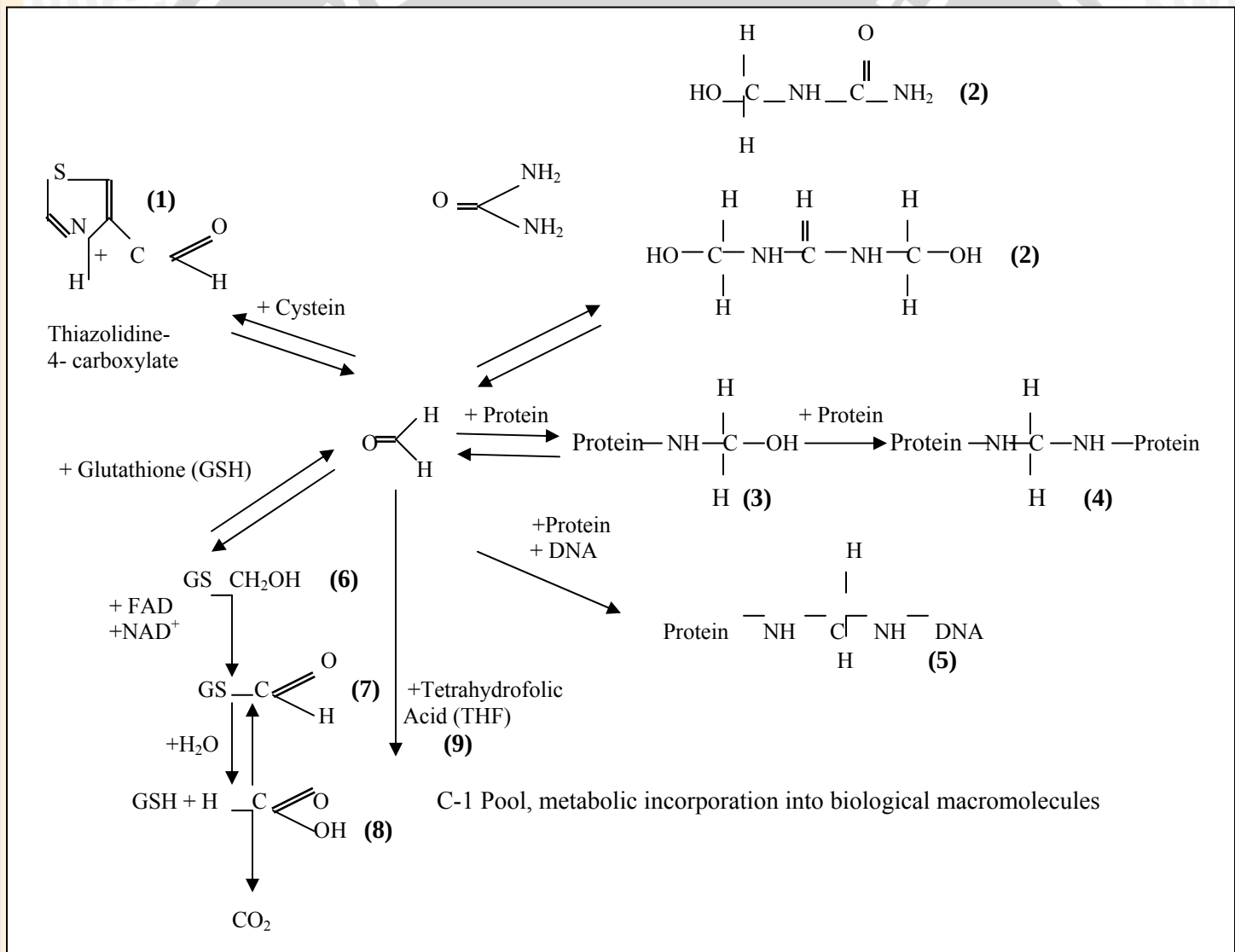
Kasus penggunaan formalin sebagai pengawet makanan muncul ke permukaan dan menjadi isu yang sangat menghebohkan masyarakat setelah Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) merilis hasil pemeriksaannya terhadap berbagai jenis makanan yang beredar di masyarakat beberapa waktu ini (Anonymous, 2007b).

Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet pada ikan akan menimbulkan dampak negatif bagi tubuh. Saat formalin digunakan untuk 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. Namun sisa formaldehid bebas (yang tidak bereaksi) hampir selalu ada dan sulit dikendalikan. Itulah sebabnya, formalin untuk pengawet makanan tidak dianjurkan karena sangat beresiko (Nurachman, 2005).

Penggunaan formalin yang salah adalah hal yang sangat disesalkan. Praktek yang salah ini dilakukan oleh produsen yang tidak bertanggung jawab. Penggunaan formalin sebagai pengawet akan menghasilkan daya awet produk menjadi lama sebagaimana fungsi sebenarnya yaitu untuk mengawetkan mayat. Beberapa contoh produk yang sering diketahui mengandung formalin misalnya ikan segar, ayam potong, mie basah, dan tahu (Anonymous, 2007c).

2.1.3 Metabolisme Formaldehid Dalam Tubuh

Metabolisme formaldehid dalam tubuh dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Jalur Metabolisme Formaldehid (Coneway., *et al*, 1996)

Reaksi metabolisme formaldehid di dalam tubuh, dapat dijelaskan sebagai berikut: formaldehid dapat berikatan bolak-balik dengan *cysteine* membentuk *thiazolidine-4-carboxylate* (1), atau dengan urea untuk membentuk *hydroxymethyladducts* (2), atau dengan protein (contohnya protein dalam darah seperti serum, albumin atau protein mukosa di dalam kelenjar mukosa) untuk membentuk protein adducts (3), reaksi yang tidak dapat balik hasil dari reaksi dengan 2 protein (ikatan silang protein-protein) (4), atau dari reaksi formaldehid dengan protein dan DNA (ikatan silang DNA-Protein) (5). Di dalam sel, formaldehid bereaksi secara spontan dan dapat balik dengan *glutathione* (GSH) membentuk *S-hydroxymethylglutathione* (6). Dengan bantuan NAD^+ , *S-hydroxymethylglutathione* dapat diubah secara enzimatik oleh *formaldehyddehydrogenase* (FAD) menjadi *formylglutathione* (7). Dengan adanya air, *formylglutathione* dapat dipecah oleh *S-formylglutathione hydrolase* menjadi *glutathione* dan asam format (8). Asam format dapat diekskresi dalam bentuk urin dan garam sodium. Asam format juga dapat dipecah menjadi CO_2 yang dapat dihirup (9).

Metabolisme xenobiotik dapat diartikan sebagai perubahan hayati (biotransformasi) zat kimia toksik menjadi suatu metabolit yang secara kimia berbeda dengan zat kimia induknya, dalam diri makhluk hidup. Berlangsungnya metabolisme senyawa asing di dalam tubuh dapat terjadi di dalam hati, ginjal, usus, kulit, kelenjar lelainin, dan mungkin plasenta. Meskipun demikian, hati merupakan tempat metabolisme yang utama. Karena hati berfungsi mengelola sistem pembuluh dan sistem parenkim hepatis (Donatus, 2001).

Pada umumnya metabolisme xenobiotik digolongkan menjadi 2 jenis, yaitu metabolisme fase I atau reaksi fungsionalisasi dan metabolisme fase II atau reaksi konjugasi. Fase I mencakup reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrolisis. Fungsi utama reaksi metabolisme fase I adalah mengubah struktur senyawa asing melalui proses oksidasi, reduksi, atau hidrolisis guna memasukkan gugus fungsional yang sesuai bagi reaksi

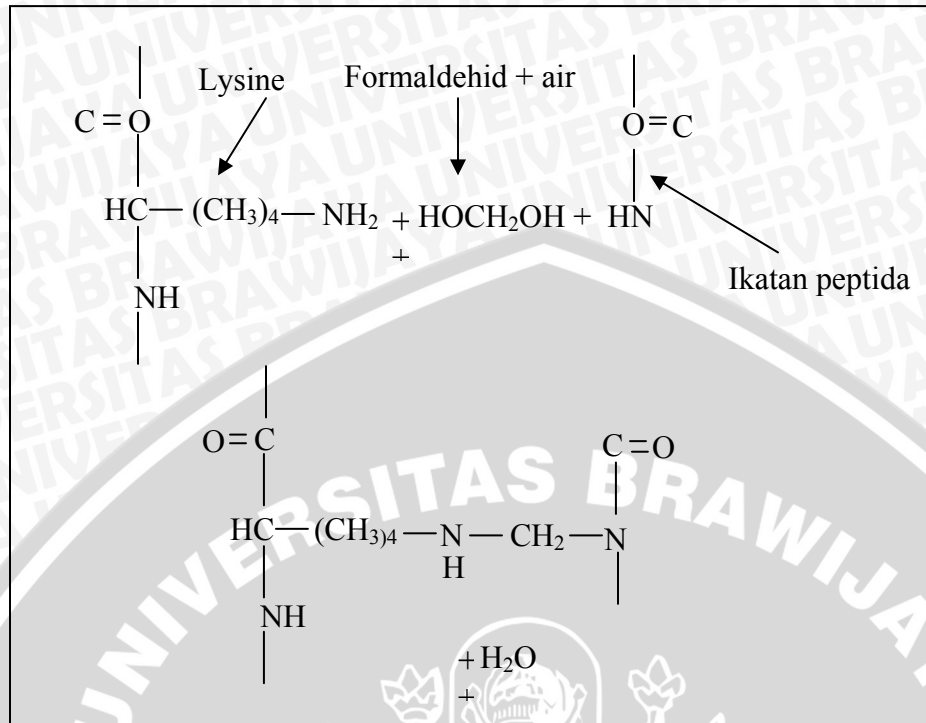
konjugasi fase II, agar keseluruhan molekul menjadi lebih mudah larut air. Sistem enzim yang paling penting dalam fase ini adalah sitokrom P-450 mikrosomal (Donatus, 2001).

Reaksi metabolisme fase II mencakup reaksi konjugasi glukoronidasi, sulfatasi, dan glutathione. Reaksi ini melibatkan berbagai macam enzim yang umumnya merupakan enzim sitosolik kecuali glukuronil transferase yang merupakan enzim mikrosomal. Reaksi fase ini merupakan reaksi biosintetik, yaitu senyawa asing atau metabolit yang terbentuk dari reaksi fase I secara kovalen berikatan dengan molekul endogen tertentu yang umumnya polar, menghasilkan suatu konjugat yang lebih polar dan kurang larut lipid atau mudah terionkan dalam pH fisiologi. Jalur metabolisme fase II disebut jalur pengawaracunan yang sebenarnya, karena metabolit bentukannya hampir selalu mudah diekskresi (Gibson dan Skett, 1986).

Metabolisme formaldehid menjadi asam format terjadi pada semua jaringan tubuh. Formaldehid akan dioksidasi menjadi asam format, asam format dioksidasi lebih lanjut menjadi CO_2 dan H_2O . Asam format juga dikeluarkan melalui urin. (Crowther, 2004).

2.1.4 Reaksi Formaldehid dengan Protein

Kelompok formaldehid dapat bergabung dengan nitrogen dan beberapa atom protein lainnya yang berdekatan. Mereka dapat membentuk ikatan silang yang disebut *Jembatan Methylene*. Ikatan silang pada protein dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ikatan silang lisin (Kiernan, 2000)

Sebagian besar ikatan silang sering dibentuk oleh susunan formaldehid dalam atom nitrogen yang terakhir dari lisin, atom nitrogen dari ikatan peptida. Susunan tersebut membuat lapisan luar keras sebanding dengan kerasnya jaringan akibat dari fiksatif. Fiksasi formaldehid mungkin akan bereaksi dengan protein. Awal formalin mengikat sebagian besar protein akan sempurna dalam waktu 24 jam tetapi proses ikatan jembatan *methylene* berjalan lambat. Zat seperti karbohidrat, lemak, dan asam nukleat dijemak dalam ikatan silang protein tetapi secara kimia tidak berubah oleh formaldehid kecuali melalui proses fiksasi dan itupun dalam waktu yang lama yaitu beberapa minggu.

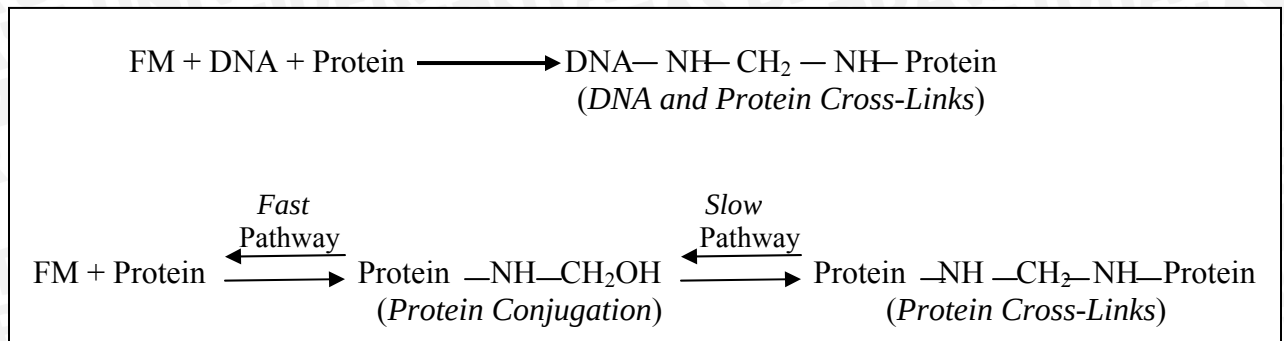
Saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi, sifat racun formalin hilang. Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin dengan formalin

tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Namun nilai gizi makanan itu menjadi rendah. Makanan berformalin akan bercun jika di dalamnya mengandung formaldehid bebas. Sisa formaldehid bebas (yang tidak bereaksi) hampir selalu ada dan sulit dihilangkan. Itulah sebabnya formalin untuk pengawet makanan tidak dianjurkan karena sangat beresiko (Nurachman, 2006).

2.1.5 Ikatan Silang DNA-Formaldehid-Ptotein

Efek suatu toksik pada kromosom dapat muncul sebagai aberasi struktural atau sebagai perubahan dalam jumlahnya. Efek yang pertama mencakup delesi, duplikasi dan translokasi. Efek ini melibatkan pengurangan atau peningkatan jumlah kromosom serta dapat diwariskan. Efek ini melibatkan tautan silang (*cross-linked*) molekul, yang dapat menyebabkan terhambatnya sintesis DNA sehingga menyebabkan terbentuknya celah pada kromosom. Perbaikan DNA yang tidak sempurna juga bisa menjadi penyebabnya (Lu, 1995).

Formaldehid dalam jaringan tubuh sebagian besar akan dimetabolisir kurang dari 2 menit oleh enzim formaldehid dehidrogenase menjadi asam format yang kemudian diekskresikan tubuh melalui urin dan sebagian dirubah menjadi CO₂ yang dibuang melalui nafas. Fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme ini akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggung jawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker (Anonymous, 2006b). Mohi (2006) menambahkan bahwa formalin juga dapat menyebabkan kerusakan gen dan mutasi yang dapat diwariskan. Ikatan silang antara formalin, protein, dan DNA dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Ikatan Silang Formaldehid -DNA-Protein
(Herausgegeben., et al , 2006).

Histon adalah protein yang biasa ditemukan sering berikatan dengan DNA melalui reaksi dengan formaldehid. Ikatan silang antara DNA–histon berlangsung secara cepat pada awal reaksi antara formaldehid dengan histon yang diikuti dengan konjugasi beberapa kelompok amino dari DNA (Zhitkovich dan Quievryn, 2000).

2.1.6. Efek Toksik Formalin

Secara umum, ambang batas formalin di dalam tubuh adalah 1 mg/l darah. Bila melebihi ambang batas dapat berakibat fatal pada organ dan sistem tubuh. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), penggunaan formalin dalam produk pangan sangat membahayakan kesehatan karena dapat menyebabkan efek jangka pendek dan jangka panjang, tergantung dari besarnya paparan pada tubuh. Dampak formalin bagi kesehatan manusia dapat bersifat (Judarwanto, 2006).:

- Akut: efek pada kesehatan manusia langsung terlihat seperti iritasi, alergi, kemerahan, mata berair, mual, muntah, rasa terbakar, sakit perut, dan pusing.
- Kronik: efek pada kesehatan manusia terlihat setelah terkena dalam jangka waktu yang lama dan berulang. Iritasi kemungkinan parah, mata berair, gangguan pada pencernaan, hati, ginjal, pancreas, system syaraf pusat, dan pada hewan percobaan dapat

menyebabkan kanker, sedangkan pada manusia diduga bersifat karsinogen (menyebabkan kanker). Mengonsumsi bahan makanan yang mengandung formalin, efek sampingnya terlihat setelah jangka panjang karena terjadi akumulasi formalin dalam tubuh.

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 aldehyd. Gugus ini bereaksi dengan gugus amina, pada protein menghasilkan metenamin atau heksametilentetramin. Formaldehid akan bereaksi dengan DNA atau RNA sehingga data informasi genetik menjadi kacau. Akibatnya, penyakit-penyakit genetik baru mungkin akan muncul. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen. Selain itu, jika sisi aktif dari protein-protein vital dalam tubuh dimatikan oleh formaldehid, maka molekul-molekul itu akan kehilangan fungsi dalam metabolisme. Akibatnya, kegiatan sel akan terhenti (Nurachman, 2005).

Formalin adalah zat amat berbahaya karena dapat memicu mutasi sel pada jaringan tubuh manusia dan binatang. Mutasi sel ini, dapat menyebabkan kanker yang sangat sulit disembuhkan. Asosiasi Kanker Dunia (IARC) sepakat untuk menggolongkan formalin sebagai zat keras yang potensial memicu kanker, terutama lewat pemaparan kronik (sering dan berulang). Pada manusia, paparan formalin lebih sering memicu kanker hidung dan tenggorokan. Seekor tikus yang diberi formalin dengan dosis tinggi (200 hingga 50 ribu ppm) terbukti mengidap kanker perut (Anonymous, 2006b).

2.2 Penurunan Toksikan Dari Induk Ke Anak

Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi sel, dan organogenesis. Embrio kemudian melewati suatu metamorfosis dan periode perkembangan janin sebelum dilahirkan (Lu, 1995).

Menurut Donatus (2001), keberadaan janin dalam kandungan telah dilindungi dari pengaruh luar oleh plasenta dan selaput ketuban. Meskipun demikian, sistem perlindungan tubuh tersebut terkadang dapat ditembus oleh aneka ragam xenobiotika. Efek toksik yang ditimbulkan mungkin berupa kematian (embriotoksik), kelainan bawaan atau cacat bawaan (teratogenik), perlambatan pertumbuhan, dan gangguan fungsional.

Periode perkembangan janin sebelum dilahirkan adalah:

a. Tahap Pradiferensiasi

Selama tahap ini, embrio tidak rentan terhadap zat teratogen. Zat ini dapat menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian besar sel embrio, atau tidak menimbulkan efek yang nyata. Bahkan bila terjadi efek yang agak berbahaya, sel yang masih hidup akan menggantikan kerusakan tersebut dan membentuk embrio normal. Lamanya tahap resisten ini berkisar antara 5-9 hari, tergantung dari jenis speciesnya (Lu, 1995).

b. Tahap Embrio

Embriogenesis merupakan proses yang rumit, meliputi proliferasi sel, diferensiasi, migrasi, dan organogenesis. Urutan peristiwa ini dikendalikan oleh informasi yang ditranskripsi dan ditranslasi berturut-turut dari DNA dan RNA. Kelainan bawaan cenderung terjadi setelah pemejanaan xenobiotika pada atau selama masa organogenesis (pembentukan organ), karena embrio sangat rentan pada masa ini (Donatus, 2001).

c. Tahap Janin

Tahap ini ditandai dengan perkembangan dan pematangan fungsi. Dengan demikian, selama tahapan ini teratogen tidak mungkin menyebabkan cacat morfologik, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi (Lu, 1995).

Menurut Donatus (2001), terdapat beberapa kemungkinan mekanisme teratogenesis, yakni mutasi genetic, penyimpangan kromosomal, gangguan mitotik, gangguan asam-asam nukleat, kekurangan hara, kekurangan pasokan energi, hambatan enzim, perubahan osmolaritas, dan perubahan permeabilitas membran. Meskipun demikian, yang terpenting adalah adanya gangguan sintesis protein, baik di tingkat DNA, RNA maupun di tingkat ribosom, atau melalui gangguan keseimbangan hormonal, misal hormon kelamin.

2.3 Organ Sasaran Toksikan

Toksikan tidak mempengaruhi semua organ secara merata. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu atau beberapa organ saja. Organ seperti itu disebut “organ sasaran”. Pada umumnya, mekanisme yang paling mendasari tentang bagaimana suatu toksikan mempengaruhi organ adalah berkaitan dengan lebih peka suatu organ, atau lebih tingginya kadar kimia atau metabolitnya di organ sasaran (Lu, 1995).

Setelah toksin masuk ke dalam sirkulasi darah, ia akan segera didistribusikan ke cairan dan jaringan tubuh lainnya. Tempat di mana racun pada mulanya ditempatkan bergantung pada kecepatan aliran darah menuju ke suatu tempat di dalam tubuh, permeabilitas jaringan terhadap racun, dan ketersediaan tempat pengikatan. Kompartemen di mana racun itu dipusatkan disebut sebagai gudang penyimpanan racun. Di dalam tubuh terdapat beberapa gudang penyimpanan yang utama, yakni hati, ginjal, protein plasma, lemak, dan tulang (Donatus, 2001).

2.3.1 Toksikologi Hati

Hati merupakan organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh, tempat nutrisi yang diserap dari saluran pencernaan yang diolah dan disimpan untuk dipakai oleh tubuh. Posisi hati dalam sistem sirkulasi sangat optimal untuk menampung, mengubah dan mengumpulkan metabolit untuk menetralkan dan mengeluarkan substansi toksik. Pengeluaran ini terjadi melalui pengeluaran empedu (Kerr, 2000).

Hati merupakan gudang penyimpan racun yang potensial, karena sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, dan setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta hati ke hati (Lu, 1995).

Hati merupakan salah satu organ detoksifikasi tubuh yang utama. Hati mendetoksifikasi toksin melalui proses enzimatik agar toksin bisa lebih larut dan efek toksiknya berkurang/hilang. Proses enzimatik hati bekerja menetralkan senyawa-senyawa kimia yang tidak diinginkan seperti obat, pestisida, dan toksin dari perut. Proses ini menghasilkan radikal-radikal bebas yang bisa merusak hati, kecuali tubuh memiliki cukup antioksidan. Ketika toksin telah diubah menjadi bentuk yang tidak toksik, maka toksin tersebut harus segera dibuang. Empedu menyediakan cairan empedu untuk mengangkut zat-zat toksik dan kolesterol. Jika hati tidak lagi mampu menghasilkan enzim, dan empedu tidak dapat berfungsi lagi secara normal karena paparan toksin dengan dosis yang tinggi dan waktu yang lama, maka toksin akan menyebar ke seluruh tubuh (Anonymous, 2005a).

Beberapa contoh enzim yang dikeluarkan oleh hati yaitu SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamat Piruvic Transaminase*). Enzim ini dapat keluar dari hati dan masuk ke aliran darah.. Kerusakan pada hati yang disebabkan oleh penyakit dapat memungkinkan produk tersebut masuk ke aliran darah dalam tingkat yang lebih tinggi. Tes yang mengukur tingkat produk tersebut disebut sebagai Tes Fungsi

hati (*Liver Function Test/LTF*). Hasil tes ini dapat memberi gambaran mengenai penyakit yang mungkin menyebabkan kerusakan dan tingkat peradangan hati, tetapi tes ini tidak mampu mendiagnosis akibat penyakit hati (Anonymous, 2005b).

SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) adalah enzim mitokondria yang dihasilkan oleh sel-sel hati dan ditemukan juga di dalam jantung, ginjal, dan otak. SGOT sebenarnya kurang spesifik untuk kerusakan/penyakit hati. Namun, bersama dengan SGPT, enzim ini dapat digunakan sebagai gambaran adanya gangguan pada hati. Bila sel-sel liver rusak, misalnya pada kasus hepatitis atau sirosis, biasanya kadar kedua enzim tersebut meningkat (Anonymous, 2006c).

SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) adalah enzim yang dibuat dalam sel hati, jadi enzim ini lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan yang lainnya (Anonymous, 2005b). Menurut Darmono (2001), SGPT berfungsi untuk mengkatalis kelompok alfa amino dari alanin menjadi asam alfa ketoglutarat. Kadar SGPT normal pada darah manusia adalah 1-36 unit/ml. Kadar tersebut akan meningkat cepat dan melebihi normal bila terjadi nekrosis sel hati. Apabila terjadi kerusakan sel/peningkatan permeabilitas sel, enzim ini akan banyak keluar ke ruang ekstra sel dan ke dalam aliran darah sehingga dapat digunakan sebagai sarana untuk membantu diagnosis penyakit tertentu.

2.3.2 Toksikologi Ginjal

Ginjal adalah organ ekskresi dalam vertebrata yang berbentuk mirip kacang. Sebagai bagian dari sistem urin, ginjal berfungsi menyaring kotoran (terutama urea) dari darah dan membuangnya bersama dengan air dalam bentuk urin, membuang sisa makanan dan metabolisme yang tidak dapat digunakan lagi oleh tubuh (Anonymous, 2007f).

Fungsi utama ginjal adalah menyingkirkan buangan metabolisme normal dan mengekskresi xenobiotik serta 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).

Pemeriksaan fungsional dan morfologik ginjal secara rutin dilakukan sebagai bagian integral dari penelitian toksisitas jangka pendek dan panjang. Pemeriksaan darah dengan mengukur kadar kreatinin dan urea di dalam darah merupakan salah satu pemeriksaan fungsi ginjal untuk menguji toksisitas ginjal (Anonymous, 2007f).

Kreatinin adalah suatu metabolit keratin dan diekskresi seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Dalam keadaan normal, kreatinin dan urea dibuang dari tubuh melalui ginjal bersama urin. Jika ginjal tidak bekerja, jumlah kedua zat ini di dalam darah akan meningkat. Dengan demikian, meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal (Lu, 1995).

Menurut Guyton (1993), kreatinin merupakan hasil akhir metabolisme otot yang dilepaskan dari otot dengan kecepatan yang hampir konstan dan berkisar antara 0.7 sampai 1.5 mg per 100 ml. Terdapat dalam otot, dan darah, sebagai fosfokreatin maupun dalam bentuk bebas. Jumlah kreatinin yang sangat kecil normal terdapat dalam urin.

2.3.3 Protein Plasma

Beberapa protein plasma dapat mengikat xenobiotika maupun kandungan fisiologis normal. Pengikatan racun pada protein plasma memiliki makna toksikologi yang luas, karena reaksi toksik yang parah dapat terjadi bila racun tersebut didesak dari protein plasma oleh senyawa lain. Dengan demikian, fraksi racun yang terikat protein akan lepas ke dalam sirkulasi darah dan selanjutnya tersebar ke tempat aksi toksiknya (Donatus, 2001).

Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia ($\pm 4,5$ g/dl) berbentuk elips dengan panjang 150 Å, mempunyai berat molekul yang bervariasi tergantung jenis species (Murray., *et al*, 1995). Albumin memiliki kapasitas untuk mengikat aneka ragam senyawa, misalnya kalsium, tembaga, seng, bilirubin, zat warna asam, serta vitamin C (Donatus, 2001).

Montgomery., *et al* (1983) menjelaskan bahwa albumin mempunyai 2 fungsi utama, yaitu mengangkut molekul-molekul kecil melewati plasma dan cairan sel, serta memberi tekanan osmotik di dalam kapiler. Kegunaan lain dari albumin adalah dalam transportasi obat-obatan sehingga tidak menyebabkan penimbunan obat dalam tubuh yang akhirnya dapat menyebabkan racun (Pesce dan Lawrence, 1987).

Globulin juga merupakan salah satu protein plasma yang penting. Memiliki sifat tidak larut dalam air, terkoagulasi oleh panas, larut dalam larutan garam encer, dan mengendap dalam larutan garam konsentrasi tinggi (*salting out*). Sebagaimana protein, globulin berfungsi sebagai enzim, zat pengatur gerakan, pertahanan tubuh, serta alat pengangkut. Globulin serum adalah kompleks campuran heterogen molekul-molekul protein yang sering disebut sebagai globulin α , β , atau γ (Winarno, 2002).

2.3.4 Darah

Darah adalah cairan yang terdapat pada semua hewan tingkat tinggi yang berfungsi mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan kimia hasil metabolisme, dan juga sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Darah terdiri dari 2 bagian yaitu korpuskuler (unsur padat darah) yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit (keping darah). Serta plasma darah (cairan darah). Plasma darah terdiri dari air dan protein darah. Protein darah terdiri dari

albumin, globulin dan fibrinogen. Cairan yang tidak mengandung unsur fibrinogen disebut serum darah. Protein dalam serum inilah yang bertindak sebagai antibodi terhadap adanya benda asing (antigen) (Anonymous, 2007g).

Darah merupakan sumber bahan cuplikan biologi yang dapat tersedia dengan cepat, dan sirkulasi darah menggambarkan mekanisme dasar dengan mana zat kimia dibawa ke seluruh bagian tubuh. Rasio kadar zat kimia di dalam jaringan dengan kadarnya di dalam darah pada waktu tertentu akan melambangkan suatu indeks keefektifan atau kekurangefektifan membran untuk mempengaruhi translokasi senyawa tersebut (Loomis, 1978).

2.4 Pengamatan dan Pemeriksaan Efek Toksikan

Suatu keracunan menampakkan diri berupa gejala sakit atau *symptom*. *Symptom* pada prinsipnya dapat menampakkan diri di dalam semua fungsi tubuh, tergantung dari sifat zat, jalan penyerapannya, lamanya paparan dan terutama besarnya dosis (Koeman, 1987).

Setelah toksikan diberikan pada hewan percobaan, maka harus segera diamati perubahan-perubahan yang terjadi, dan yang lebih penting adalah tanda-tanda toksisitasnya harus dicatat, daftar organ dan sistem yang mungkin dipengaruhi beserta tanda-tanda khusus toksisitasnya. Jangka waktu pengamatan harus cukup panjang sehingga efek yang muncul lambat, termasuk kematian, tidak luput dari pengamatan (Lu, 1995).

Pengamatan umum yang harus diamati adalah penampilan, perilaku, dan semua abnormalitas. Hewan yang sakit, sekarat atau mati harus diperiksa patologiknya secara makroskopis melalui autopsi. Jika keadaan jaringan memungkinkan, pemeriksaan histologik juga sebaiknya dilakukan. Berat badan dan konsumsi makanan harus diukur setiap minggu. Berkurangnya pertambahan berat badan merupakan indeks efek toksik yang sederhana namun sensitif, begitu juga dengan konsumsi makanan. Konsumsi makanan yang

nyata berkurang dapat menimbulkan efek yang mirip atau memperbesar manifestasi toksik zat kimia tersebut. Di samping itu, berat beberapa organ, baik dalam nilai absolute maupun relatif terhadap berat badan harus diukur karena ini merupakan indikator yang berguna bagi toksisitas (Lu, 1995).

Aksi racun atas tempat aksi tertentu di dalam tubuh, mungkin akan ditanggapi dengan berbagai respon, di antaranya respon biokimia, respon dan perubahan fisiologi, serta respon histopatologi dan perubahan struktural, yang juga penting untuk diamati. Berbagai respon tersebut mendasari berbagai perubahan morfologi atau struktural dalam berbagai wujud atau bentuknya seperti nekrosis, tumor, karsinogenesis, dan sebagainya (Donatus, 2001).

Tumor menggambarkan pertumbuhan jaringan biologis yang tidak normal, menjadi bengkak, disebabkan oleh mutasi dalam DNA sel. Perubahan pada mutasi gen dapat terjadi melalui mekanisme kesalahan replikasi dan kesalahan genetika yang berkisar antara 10-15%, atau faktor dari luar yang merubah struktur DNA seperti virus, polusi, radiasi, dan senyawa xenobiotik dari konsumsi pangan sebesar 80-85 %. Sel memiliki mekanisme yang memperbaiki DNA dan mekanisme lainnya yang menyebabkan sel menghancurkan dirinya melalui apoptosis bila DNA rusak terlalu parah. Mutasi yang menahan gen untuk mekanisme ini dapat juga menyebabkan kanker (Ardiansyah, 2007).

2.5 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila merupakan ikan air tawar yang memiliki bentuk tubuh agak memanjang dan pipih ke samping. Warnanya putih kehitam-hitaman dan makin ke bagian perut warnanya makin terang. Pada bagian perut terdapat 10 buah garis vertikal berwarna hijau kebiru-biruan. Sedangkan pada sirip ekor terdapat 8 buah garis melintang yang ujungnya berwarna kemerah-merahan. Mata ikan nila tampak menonjol agak besar dan di pinggirnya berwarna

hijau kebiru-biruan. Mulut terminal, *linea lateralis* terputus menjadi 2 bagian dan bentuk sirip *ctenoid*. Dari kebiasaan makannya, ikan nila termasuk ikan omnivora, yaitu pemakan segala (Murtidjo, 2001).

Klasifikasi ikan nila menurut Saanin (1986) adalah sebagai berikut:

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

Komposisi kimia ikan nila menurut Dolaria (2003) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Ikan Nila

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

Sumber: Dolaria (2003).

2.6 Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Uji

Hewan percobaan ini dapat disebut juga dengan “tikus” atau “tikus putih”. Tetapi Karena hewan ini paling kecil di antara berbagai jenis hewan percobaan dan karena amat banyak galur mencit , baik *inbred* maupun *outbred* yang tidak berwarna putih, lebih baik

jika hewan ini dinamakan saja dengan “mencit”. Mencit laboratorium memiliki berat badan kira-kira sama dengan mencit liar, yaitu mencapai 18-20 gr pada umur empat minggu, dan 30-40 gr pada umur enam bulan atau lebih. Mencit makan segala macam makanan (*omnivorus*), dan mau mencoba makan apapun panganan yang tersedia bahkan bahan yang tidak biasa dimakan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Menurut Utami (1989), mencit /*mouse* adalah hewan pengerat yang cepat berbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar, serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik. Mencit yang paling banyak digunakan di laboratorium adalah jenis “*Swis Albino Mice*”.

Menurut Gray (1976), hewan ini digunakan karena mudah didapat, ukurannya kecil, harganya murah, mudah didapat, harganya murah, mudah ditangani dan data toksikologinya relatif telah banyak. Selain itu, penerapan toksisitas pada hati merupakan bagian penelitian jangka pendek dan jangka panjang yang biasanya dilakukan pada tikus dan mencit.

Klasifikasi hewan uji ini menurut Nowok dan Paradiso (1983) adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Class	: Mamalia
Subclass	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari dari pada siang hari. (Kusumawati, 2004). Data biologis mencit (*Mus musculus*) laboratorium dapat dilihat pada Tabel 2. Adapun data hematologi mencit (*Mus musculus*) terdapat pada Tabel 3.

Tabel 2. Data Biologi Mencit (*Mus musculus*)

Keterangan	Jumlah
Berat badan (g) :	
Jantan	20-40
Betina	18-35
Lama hidup (tahun)	1-3
Temperatur tubuh (°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 :	
Sistolik (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)

Tabel 3. Data Hematologi Mencit (*Mus musculus*)

Keterangan	Jumlah
Eritrosit (RBC) x ($10^6/\text{mm}^3$)	6,86-11,7
Hemoglobin (g/dl)	10,7-11,5
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
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

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

Mencit yang digunakan di laboratorium umumnya ditempatkan di dalam kotak dari metal atau plastik dan diberi alas secukupnya. Kotak tersebut diberi tutup dari kawat untuk tempat makanan dan botol minuman. Hewan ini memerlukan makanan berkadar protein di atas 14%. Untuk kondisi di Indonesia, kebutuhan protein tersebut dapat dipenuhi dari makanan ayam petelur (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Air minum harus selalu tersedia. Pada umumnya air minum diberikan dengan botol-botol gelas atau plastik, dan mencit dapat minum dari botol tersebut melalui pipa kecil yang terbuat dari logam atau palstik. Banyak faktor-faktor lingkungan terutama kualitas makanan berpengaruh pada kondisi mencit secara keseluruhan. Tingkat konsumsi makanan dan minuman bervariasi menurut temperatur kandang, kelembaban, kualitas makanan, kesehatan dan kadar air dalam makanan (Utami, 1989).

3. MATERI DAN METODOLOGI

3.1. Materi

3.1.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi hewan percobaan yaitu F1 mencit (*Mus mucus*) betina yang dilahirkan oleh induk yang terpapar ikan berformalin 2 bulan. Ikan nila, formalin 37%, pelet dan sekam. Bahan kimia yang diperlukan meliputi bahan-bahan untuk analisa SGOT, SGPT, kreatinin. Bahan analisa SGOT meliputi larutan buffer substrat 100 ml mol/L, buffer fosfat 7,4 100ml/L *L-aspartat*, 2m mol/L 2-oksoglutarat, 1,5 m mol/L 2,4 dinitrofenil hidrazin, larutan sodium hidroksid, 0,4 mol/L sodium hidroksid, larutan standar (2m mol/L *sodium piruvat*). Bahan untuk analisa kreatinin meliputi asam pikrat jenuh, NaOH 10%, Air (H_2O)14 ml, Asam sulfat (H_2SO_4) 2/3 N, *Na-woframat* 10%.

3.1.2. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat yang digunakan untuk pemeliharaan mencit, yaitu kandang mencit yang terbuat dari bak plastik dilengkapi dengan tutup yang terbuat dari anyaman kawat, dan botol minuman terbuat dari bahan gelas yang pada bagian mulutnya disumbat karet serta bagian tengahnya diberi lubang untuk meletakkan pipa yang berguna untuk pengeluaran air. Timbangan digital untuk menimbang berat badan mencit. Alat untuk pengambilan darah dan pembedahan mencit terdiri dari tabung *ependorf*, gunting, spuit, pinset, dan tabung film. Sedangkan peralatan yang digunakan untuk memisahkan serum dengan darah antara lain sentrifuse, mikropipet, dan pipet pastur.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Metode eksperimental adalah suatu metode penelitian yang dapat menguji hipotesis hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan beberapa perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyelidiki kontrol sebagai pembanding (Nassir, 2005).

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah uji t berpasangan (Uji Nyata Terkecil/UNT) menggunakan program minitab 13. Sebelumnya data diuji kenormalan penyebarannya dengan *Normality Test*. Jika penyebaran data tidak normal ($P < 0,05$), maka digunakan analisa nonparametrik *Mann Whitney*. Menurut Yitnosumarto (1993), uji t (Uji Nyata Terkecil/UNT) merupakan uji pembandingan berganda yang digunakan untuk menentukan perlakuan mana yang berbeda dengan yang lain.

Unit perlakuan yang dicobakan adalah kontrol (tanpa perlakuan) dan ikan berformalin 0,5 ppm masing-masing dengan 6 kali ulangan. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Penelitian Paparan Ikan Berformalin 0.5 ppm

Ulangan	Perlakuan	
	Kontrol	0.5 ppm Ikan Berformalin
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Rata-rata		

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian sebelumnya, yaitu penelitian pada induk mencit yang telah dipaparkan ikan berformalin 0.2 ppm selama 2 bulan. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa perlakuan 0.2 ppm ikan berformalin cukup memberikan pengaruh yang signifikan terhadap beberapa parameter uji dan perubahan fisiologi mencit. Penelitian ini, di mana F1 sebagai objek, menggunakan suatu konsentrasi yang lebih besar yaitu 0.5 ppm ikan berformalin yang dipaparkan selama 2 bulan. Penggunaan perlakuan 0.5 ppm ikan berformalin didasarkan pada asumsi dalam daging ikan mengandung sebesar 100 ppm formaldehid dengan konsumsi manusia yang mempunyai berat badan 50 kg sebesar 250 g/hari.

3.2.1 Variabel

Variabel adalah faktor yang mengandung lebih dari 1 nilai dalam metodologi statistik dan akan menjadi obyek penelitian. Variabel dibedakan menjadi variabel bebas (*independent variabel*) dan variabel terikat (*dependent variabel*).

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah perlakuan kontrol dan konsentrasi ikan berformalin 0,5 ppm. Sedangkan variabel terikatnya adalah kondisi observasi klinis mencit yang meliputi berat organ mencit, jumlah kematian mencit, gejala klinis mencit, klinis organ mencit yang mati, dan kimia darah yang meliputi kandungan formaldehid dalam darah, tes fungsi hati (SGOT, SGPT, albumin, globulin, protein darah), serta tes fungsi ginjal (kreatinin).

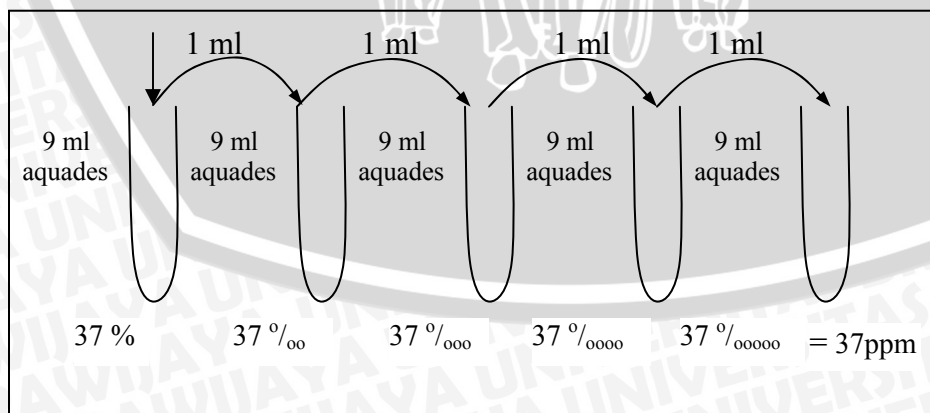
3.2.2 Prosedur Penelitian

3.2.2.1 Penyediaan 0,5 ppm Ikan Berformalin

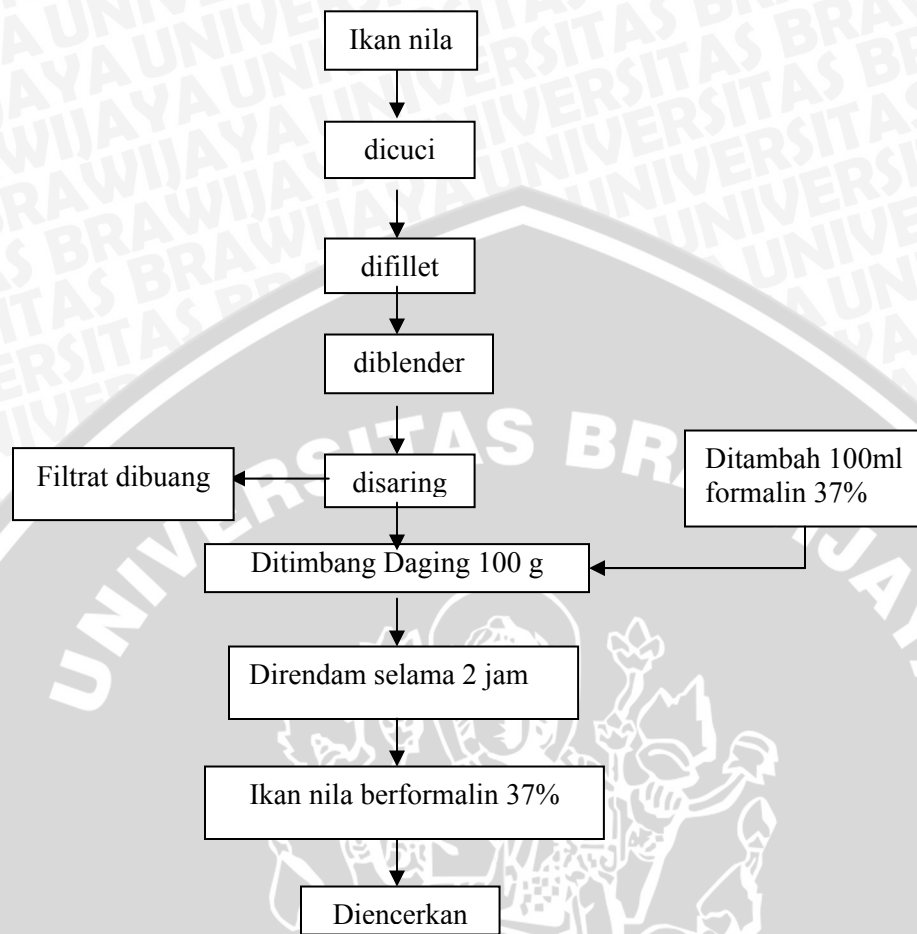
Prosedur penyediaan 0.5 ppm ikan berformalin adalah:

- Ikan nila dicuci bersih dan kemudian difilet
- Daging ikan nila sebesar 100 g diblender sampai halus, selanjutnya disaring dan filtratnya dibuang.
- Daging tersebut ditambah dengan formalin 37% sebesar 100 ml dan direndam selama 2 jam.
- Setelah direndam selama 2 jam, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai terbuat larutan ikan berformalin 37 ppm.
- Selanjutnya diencerkan sampai terbentuk 0,5 ppm ikan nila berformalin dengan rumus pengenceran.

Skema proses pengenceran ikan nila berformalin dapat dilihat pada Gambar 5. Sedangkan Skema prosedur pembuatan larutan ikan nila berformalin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 5. Pengenceran Bertingkat Ikan Nila Berformalin



Gambar 6. Skema Pembuatan Ikan Nila Berformalin

- Pengenceran 0,5 ppm ikan nila berformalin

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 37\text{ppm} = 200 \text{ ml} \times 0,5\text{ppm}$$

$$V_1 = 2,7 \text{ ml}$$

Penggunaan perlakuan 0.5 ppm ikan berformalin didasarkan pada asumsi konsumsi manusia yang mempunyai berat badan 50 kg sebesar 250 g/hari dengan kandungan formaldehid dalam daging ikan sebesar 100 ppm. Perhitungan 0.5 ppm ikan berformalin adalah:

$$\begin{aligned} - \text{Dosis 0.5 ppm ikan berformalin} &= \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{Berat Ikan}}{\text{Berat Badan}} \\ &= \frac{100 \text{ mg}/1000000 \text{ mg} \times 250 \text{ g}}{50 \text{ kg}} \\ &= 0.0005 \text{ g/kg} \\ &= \frac{0.0005 \times 1000 \text{ mg}}{1 \text{ kg}} \\ &= 0.5 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.2.2.2 Perlakuan Pemberian 0.5 ppm Ikan Berformalin

Prosedur pemberian 0.5 ppm ikan berformalin terhadap mencit adalah:

- Sebelum percobaan, mencit diaklimasi (diadaptasi) terlebih dahulu selama satu minggu dan dipastikan dalam keadaan sehat. Selama pemeliharaan diberi perlakuan sesuai komposisi standar yang biasa dilakukan di laboratorium, yaitu diberi makanan pelet tanpa batas (*ad libitum*) dan minum setiap pagi dan sore hari.
- Mencit dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok 0.5 ppm formalin. Tiap kelompok terdiri dari 18 ekor mencit, dengan berat badan $\pm 20 \text{ g} - 30 \text{ g}$.
- Setiap mencit kelompok perlakuan diberi larutan ikan berformalin 0.5 ppm secara oral setiap 1 kali sehari. Untuk mencit kontrol hanya diberi pakan pelet. Masa pemberian perlakuan dilakukan selama 2 bulan.
- Selama periode ini berat badan mencit ditimbang sebelum diberi pakan pelet dan disonde, kemudian diamati observasi klinisnya.
- Besarnya volume larutan yang diberikan berdasarkan berat badan masing-masing mencit.
- Volume cekok yang diberikan pada mencit dengan berat badan 20 g adalah:

$$\begin{aligned}
 20 \text{ g} &\rightarrow 20 \text{ g} \times 0.5 \text{ ppm} \\
 &= 20 \text{ g} \times 0.0005 \text{ g/kg} \\
 &= 0.01 \text{ g} / 1000 \text{ g} \\
 &= 1 \times 10^{-5} \text{ g} \\
 &= 0.01 \text{ mg} \\
 &= 0.01 \text{ ml (berat jenis formaldehid} \simeq \text{ berat jenis air)}
 \end{aligned}$$

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

$$\frac{\text{Berat badan mencit}}{\text{Berat rata-rata mencit (20 g)}} \times 0.01 \text{ ml}$$

- Misal : Untuk berat badan mencit 21 g, volume cekok yang diberikan adalah

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

- Volume cekok yang diberikan untuk berat F1 mencit yang lain dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Volume Cekok Berdasarkan Berat Badan F1 Mencit

Berat badan (g)	Volume cekok (ml)
20	0.01
21	0.0105
22	0.011
23	0.0115
24	0.012
25	0.0125
26	0.013
27	0.0135
28	0.014
29	0.0145
30	0.015

3.2.2.3 Pembedahan Mencit

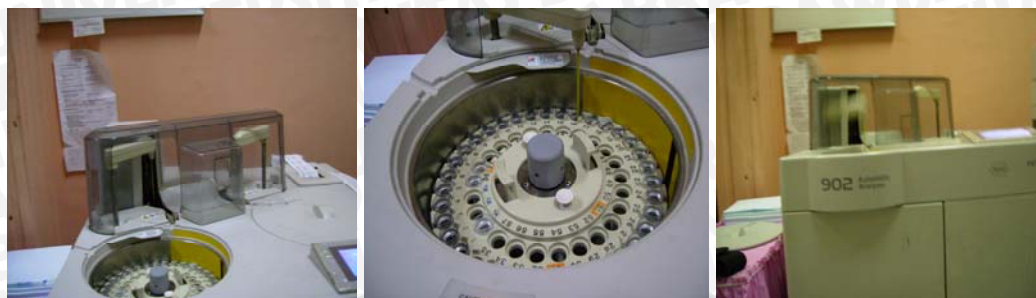
Mencit yang mati selama perlakuan akan dibedah untuk diamati organ tubuhnya secara makroskopik. Setelah perlakuan berakhir, semua mencit yang masih hidup dibunuh dengan cara dekapitasi dan dilakukan pembedahan. Organ tubuh yang diperiksa adalah lambung, usus, hati dan ginjal.

3.2.3.4 Preparasi Serum Mencit

Setelah mencit diperlakukan sesuai dengan dosisnya, maka dilakukan pengambilan darah dan analisis serum darah setelah 4 minggu proses perlakuan dengan jalan mencit dibunuh dengan cara dekapitasi, yaitu:

- Dada mencit dibuka dan darah diambil dari jantung dengan menggunakan alat injeksi disposable steril.
- Sebelum diambil darahnya, mencit dipuasakan dahulu kurang lebih 12 jam.
- Selanjutnya darah ditampung dalam tabung *ependorf*, lalu disentrifuse pada suhu 4°C dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit.
- Kemudian serum diambil dengan pipet pastur kecil sebagai sampel untuk dianalisa SGOT, SGPT, kreatinin, albumin, globulin dan kandungan formaldehid dalam darah.

Alat untuk pengujian kualitas serum darah mencit dapat dilihat pada Gambar 7, sedangkan alat untuk pegujian kadar formaldehid dalam darah dapat dilihat pada Gambar 8.

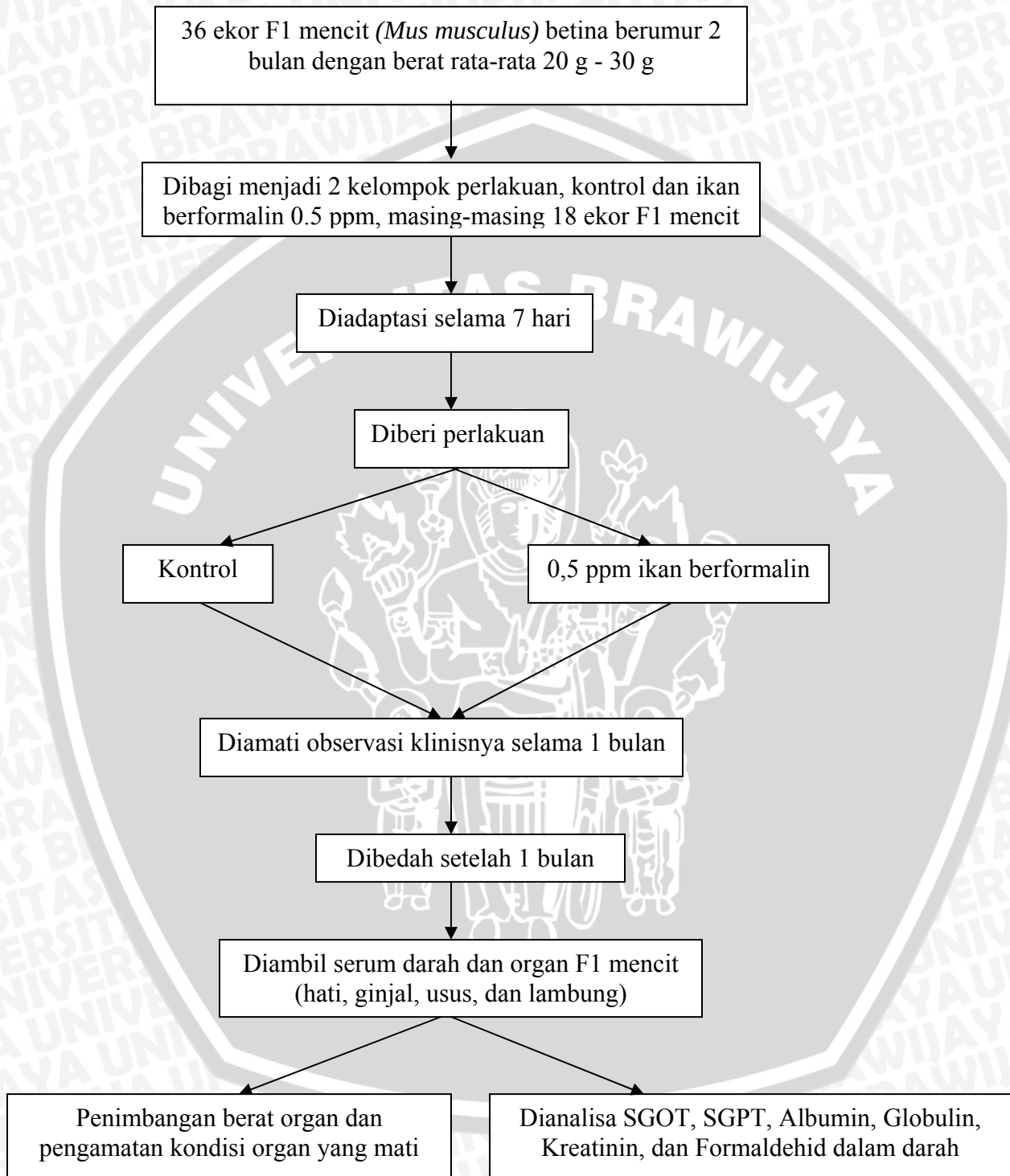


Gambar 7. Automatic Analyzer Hitachi 902 untuk Pengujian Kualitas Serum Mencit



Gambar 8. Shimadzu Spectronic SPD 6A untuk Pengujian Kadar Formaldehid Dalam Serum dan Urin Mencit

Skema kerja penelitian dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Skema Kerja Penelitian

3.2.3 Pengumpulan Data

Prosedur yang dilakukan dalam pengambilan data adalah sebagai berikut :

1. Penimbangan berat badan

Penimbangan dilakukan setiap hari menggunakan timbangan elektrik. Adapun cara penimbangan adalah sebagai berikut :

Timbangan diletakkan di tempat yang datar. Kemudian timbangan dikalibrasi dengan cara meletakkan boks tempat mencit diatas tempat timbangan dan memutar angka timbangan pada posisi nol. Setelah itu mencit-mencit ditimbang dan hasil penimbangan dibulatkan tanpa koma.

2. Pengamatan Observasi klinis

Pengamatan ini dilakukan setiap hari untuk mengetahui kondisi fisik mencit. Adapun kondisi mencit yang diamati antara lain gejala klinis mencit meliputi penurunan berat badan, rambut berdiri, tumor, badan bergetar, badan tak seimbang serta pada akhir penelitian dilakukan penimbangan berat organ.

3. Tes Fungsi Hati

Pemeriksaan gangguan fungsi jaringan hati dapat dilakukan dengan :

a. Uji SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*)

Kerusakan fungsi jaringan hati dengan uji ini biasanya digunakan untuk mengetahui adanya nekrosis dalam hati. Cara pengujian SGOT dengan metode Kolorimetri dan Frankel menurut (Girindra, 1988) sebagai berikut :

1. Bahan :

- Serum yang tidak hemolisis.
- Larutan a (larutan buffer substrat 100ml mol/L, buffer fosfat 7,4 100ml/L L-aspartat, 2m mol/L 2-oksoglutarat. Larutkan semuanya dalam 30 ml aquades).
- Larutan b (Pereaksi warna 1,5 m mol/L 2,4 dinitrofenil hidrazin).
- Larutan c (larutan sodium hidroksid, 0,4 mol/L sodium hidroksid. Larutkan dalam 1000 ml aquades dalam tempat gelas).
- Larutan d (larutan standar (2m mol/L sodium piruvat). Semua pereaksi sudah disediakan secara siap pakai dari Merck.

2. Prosedur Kerja :

- Untuk setiap contoh harus disediakan 1 blanko.
- 2 tabung reaksi diisi 0,5 ml buffer substrat. Tabung pertama untuk contoh, tabung kedua untuk blanko. Inkubasikan pada penaggas air 37°C selama 5 menit.
- Tambahkan ke dalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 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 fisiologis.
- Ulangi analisis dengan 0,2 ml larutan yang sudah diencerkan dan kalikan hasilnya dengan

5.

- Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran sebagai berikut :

No tabung	Larutan standar (ml)	Larutan bufer (ml)	Metod UV u/L
1	0.0	1.00	0
2	0.05	0.95	9
3	0.010	0.90	21
4	0.15	0.85	36
5	0.20	0.080	60
6	0.25	0.75	95

- Campur dan tambahkan pereaksi warna ke dalam 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.

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

Pengujian kadar SGPT biasanya digunakan untuk mengetahui adanya cedera hati. Cara pengujian SGPT menggunakan metode Kolorimetri dan Frankel menurut Girindra (1988), sebagai berikut :

1. Bahan :

- Serum yang tidak hemolisis,
- Larutan a (larutan buffer substrat 100ml mol/L, buffer fosfat 7,4 100ml/L L-aspartat, 2m mol/L 2-oksoglutarat. Larutkan semuanya dalam 30 ml aquades).
- Larutan b (Pereaksi warna 1,5 m mol/L 2,4 dinitrofenil hidrazin).
- Larutan c (larutan sodium hidroksid, 0,4 mol/L sodium hidroksid. Larutkan dalam 1000 ml aquades dalam tempat gelas).

- Larutan d (larutan standar (2 m mol/L sodium piruvat). Semua pereaksi sudah disediakan secara siap pakai dari Merck.

2. Prosedur Kerja :

- Untuk setiap contoh harus disediakan 1 blanko.
- Larutan a dalam botol dilarutkan dalam 30 ml aquades. Larutan c dilarutkan dalam 1000 ml aquades di tempat dari gelas.
- 2 tabung reaksi diisi 0,5 ml buffer substrat. Tabung pertama untuk contoh, tabung kedua untuk blanko.
- Inkubasikan pada penaggas air 37°C selama 5 menit. Tambahkan ke dalam tabung contoh serum segar bebas hemolisis sebanyak 0,1 ml serum. Campurkan lagi dabiarkan dan ikubasikan selama 30 menit pada suhu 37°C.
- Tambahkan ke masing-masing tabung 0,5 ml pereaksi warna. Pada blanko tambahkan 0,1 ml serum. Campur 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 90 μ L.
- encerkan 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.
- Buat kurva kalibrasi dengan seri pengenceran sebagai berikut :

No tabung	Larutan standar (ml)	Larutan bufer (ml)	Metod UV u/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 ke dalam 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.

c. Uji Globulin dan Albumin

Pengujian kadar albumin digunakan untuk mengetahui adanya gangguan metabolik dan pengujian kandungan glubulin digunakan untuk mengetahui kerusakan kronik. Prosedur pengujian kandungan albumin dan globulin sebagai berikut :

- Pemisahan fraksi protein dilakukan dengan larutan Natrium Sulfat (Na_2SO_4). Kadar albumin ditetapkan dengan pereaksi fenol Ciocalteau. Sedangkan kadar globulin dihitung dari selisih kadar fibrinogen dan Albumin.
- Pereaksi : Na_2SO_4 30%, Na_2CO_3 jenuh, Na_2SO_4 11.25%, Asam trikloroasetat 10%, NaOH 10%, Pereaksi fenol Folin-Ciocalteau, Standar tirosin 0,2 mg/ml (20 mg/100ml dalam HCL 10N).

1. Analisis Fibrinogen

- Masukkan 1 ml plasma darah yang jernih dalam tabung pemusing 15 ml, tambahkan 1.5 ml akuades dan 1.5 ml larutan Natrium Sulfat 30%.
- Campurkan dengan cara membolak-balikkan tabung.
- Panaskan pada suhu 37°C selama 10 menit. Pusingkan dengan 1500 rpm selama 10 menit.
- Tuangkan supernatan kedalam tabung reaksi yang telah kering dan bersih. Hati-hati, endapannya jangan terbuang.

- Supernatan digunakan untuk pemisahan globulin (a).

2. Analisis globulin

- Ambil 2 ml supernatan (a), masukkan ke dalam tabung reaksi kering dan bersih.
- Tambahkan larutan Natrium sulfat (Na_2SO_4) 30% sebanyak 3 ml, campur dengan membolak-balikkan tabung.
- Masukkan dalam penangas air 37°C selama 10 menit
- Saring ke dalam tabung reaksi kering dan bersih.
- Simpan filtrat yang mengandung albumin ini (b)

3. Analisis albumin

- Masukkan 2 ml filtrat globulin (b) ke dalam tabung pemusing 15 ml yang kering dan bersih.
- Tambahkan 3 ml air dan 1 ml TCA 20%.
- Campurkan dengan membolak-balikkan tabung. Biarkan beberapa menit sampai presipitat albumin berflokulasi, lalu dipusing. Pisahkan supernatan, dan keringkan bibir tabung dengan kertas saring.

4. Test Fungsi Ginjal

Untuk mengetahui adanya gangguan fungsi pada ginjal dilakukan uji kreatinin serum. Adapun cara penentuan kreatinin serum dalam darah dengan metode Jaffe menurut Girindra (1988) sebagai berikut :

- Asam Pikrat basa (pereaksi Jaffe) direaksikan dengan kreatinin dalam filtrat Folin WU.
- 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

- Pertama-tama dibuat filtrat folin Wu : Air (H₂O) 14 ml, Asam sulfat (H₂SO₄) 2/3 N 2 ml, Na-woframat 10% 2 ml, darah 2 ml, semuanya dicampur kemudian disaring.
- Kedalam tabung reaksi dimasukkan masing-masing zat-zat seperti susunan berikut :

	Contoh	Standar	Blanko
Filtrat	10 ml	-	-
Standar	-	5 ml	-
Aquades	-	15 ml	5 ml
Asam pikrat basa	5 ml	10 ml	2.5 ml

- Campur baik-baik, biarkan 20 menit, baca pada 540 nm.

- Kadar kreatinin =
$$\frac{Ru}{Rs} \times 1.25\%$$

5. Uji formaldehid dalam darah

Kadar formaldehid dalam darah dianalisa dengan metode HPLC. Menurut Sudarmadji (1996), Pemakaian HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) sangat luwes dan makin banyak dipakai. Teknik ini sangat efisien, pemisahan cepat, menggunakan sampel yang sangat sedikit (sampai beberapa pikogram, bahkan berupa femtogram saja) dapat untuk preparatif maupun analitis. Secara khusus bermanfaat memisahkan senyawa polar seperti hasil metabolik obat yang apabila dianalisa dengan cara lain sangat sulit.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Umum Induk Mencit

Penelitian yang dilakukan oleh Atmaningsih (2007) terhadap induk mencit menunjukkan data seperti pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Gambaran Umum Kondisi Induk Mencit

Keterangan		Perlakuan	
		Kontrol	0.2 ppm Ikan Berformalin
Kimia Darah	SGOT	187 ^a	311 ^b
	SGPT	49.3 ^a	72.1 ^b
	Albumin	3.18 ^a	3.42 ^b
	Globulin	2.63 ^a	2.82 ^a
	Kreatinin	0.30 ^a	0.33 ^a
	Formaldehid dalam darah	0 ^a	0.0009 ^b
Berat Organ	Hati	0.0467 ^a	0.0479 ^a
	Ginjal	0.0114 ^a	0.0110 ^a
	Lambung	0.0173 ^a	0.0247 ^a
	Usus	0.1266 ^a	0.1540 ^a
Observasi Klinis	Berat badan turun	0%	17.14%
	Rambut berdiri	0%	11.11%
	Gerak memutar	0%	8.5%
	Badan tak seimbang	0%	8.5%
	Tumor	0%	8.5%
	Persentase kematian	0%	10.8%
Makroskopis Organ Mencit yang Mati	Hati	-	Pucat, bercak putih, menghitam
	Ginjal	-	Pucat
	Lambung	-	Normal
	Usus	-	Menggelembung

Sumber: Atmaningsih (2007)

4.2 Tes Fungsi Hati

4.2.1 SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase) F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata SGOT FI mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 6, yang dibandingkan dengan standar SGOT mencit sehat, di bawah ini.

Tabel 6. Perbandingan Kadar SGOT Mencit Sehat – F1 Mencit

Standar SGOT Mencit (IU/l)	SGOT F1 Mencit (U/l)	
	Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
23.2 - 48.4	178.5 ^a	160.83 ^a

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, tidak berbeda nyata terhadap nilai SGOT ($P=0.520$ atau $P>0.05$). Hasil analisa data uji t berpasangan untuk kadar SGOT F1 mencit dapat dilihat pada Lampiran 1.

Menurut Mitsuka (1981) dan Loeb (1989) dalam Kusumawati (2004), standar kadar SGOT mencit adalah 23.2 - 48.4 IU/l. Dari data pada Tabel 6 dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar SGOT pada F1 mencit yang diberi perlakuan kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm. Adanya peningkatan kadar SGOT ini menunjukkan adanya kerusakan pada selaput sel hati. Menurut Darmono (2001), enzim ini berfungsi untuk katalis transfer kelompok asam amino dari asam aspartat menjadi asam alfa ketoglutarat. Kandungan enzim yang tinggi dari normal dapat menunjukkan indikasi nekrosis hati dan kerusakan otot. Ditambahkan oleh Girindra (1988), peningkatan kadar SGOT di dalam serum diakibatkan karena terjadinya kerusakan atau permeabilitas dinding sel hati.

4.2.2 SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata SGPT FI mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 7, yang dibandingkan dengan standar SGPT mencit sehat, di bawah ini.

Tabel 7. Perbandingan Kadar SGPT Mencit Sehat – F1 Mencit

Standar SGPT Mencit (IU/l)	SGPT F1 Mencit (U/l)	
	Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
17.5 – 30.2	74.33 ^a	79.8 ^a

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, tidak berbeda nyata terhadap nilai SGPT F1 mencit ($P=0.441$ atau $P>0.05$). Hasil analisa data uji t berpasangan untuk kadar SGPT F1 mencit dapat dilihat pada Lampiran 1.

Standar kadar SGPT mencit adalah 17,5-30,2 IU/l (Mitsuka , 1981 dan Loeb ,1989 dalam Kusumawati, 2004). Dari data penelitian pada Tabel 7 dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar SGPT F1 mencit. Hal itu menunjukkan bahwa akibat adanya paparan toksikan, dalam hal ini ikan berformalin, kadar SGPT dalam darah meningkat.

Dibandingkan dengan SGOT, SGPT lebih spesifik menunjukkan kerusakan sel hati karena enzim ini dibuat dalam sel hati (hepatosit) dan hanya sedikit saja diproduksi di sel nonliver. Biasanya peningkatan SGPT terjadi bila ada kerusakan pada selaput sel hati. Setiap jenis peradangan hati dapat menyebabkan peningkatan pada SGPT, di mana peradangan hati ini dapat disebabkan oleh keracunan akibat pemberian obat berlebihan atau dalam jangka waktu lama (Tilman, dkk., 1986). Ketika sel-sel liver mati, dindingnya rusak dan akhirnya hati mengalami peradangan. Kondisi ini menyebabkan naiknya kadar SGOT-SGPT di dalam darah (Anonymous, 2006c).

4.2.3 Albumin F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata albumin FI mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 8, yang dibandingkan dengan standar albumin mencit sehat, di bawah ini.

Tabel 8. Perbandingan Kadar Albumin Mencit Sehat – F1 Mencit

Standar Albumin Mencit (g/dl)	Albumin F1 Mencit (g/dl)	
	Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
2.52 – 4.84	2.75 ^a	2.35 ^b

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, berbeda nyata terhadap nilai albumin F1 mencit ($P=0.015$ atau $P<0.05$). Hasil analisa data uji t berpasangan untuk kadar albumin dapat dilihat pada Lampiran 1.

Menurut Mitsuka (1981) dan Loeb (1989) dalam Kusumawati (2004), kadar albumin mencit adalah 2.52 – 4.84 g/dl. Dari data penelitian pada Tabel 8 dapat diketahui bahwa kadar F1 albumin mencit yang diberi perlakuan masih berada dalam ambang batas. Hal itu menunjukkan bahwa hati masih dapat mentolerir kadar toksikan yang diberikan. Menurut Koeman (1983), ada zat yang dapat menginduksi kerusakan hati yang sangat akut dan ada yang kurang/tidak akut. Tingkat albumin yang tinggi dalam darah menunjukkan bahwa hati tidak membuat albumin dan tidak berfungsi semestinya. Tingkat ini biasanya normal pada penyakit hati yang kronis, sementara meningkat bila ada sirosis atau kerusakan berat pada hati (Anonymous, 2005b).

Menurut Lu (1995), hati memiliki banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik dalam hati juga tinggi (terutama Sitokrom P-450), hal ini membuat sebagian besar toksikan menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut air.

4.2.4 Globulin F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata globulin FI mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 9 di bawah ini.

Tabel 9. Kadar Globulin Rata-rata F1 Mencit
Globulin F1 Mencit (mg/dl)

Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
2.06 ^a	2.19 ^a

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, tidak berbeda nyata terhadap nilai globulin F1 mencit ($P=0.227$ atau $P>0.05$). Hasil analisa data uji t berpasangan untuk kadar globulin dapat dilihat pada Lampiran 1.

Data penelitian pada Tabel 9 menunjukkan bahwa kadar rata-rata globulin F1 mencit kontrol lebih rendah jika dibandingkan dengan F1 mencit perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm. Albumin adalah protein yang mengalir dalam darah, yang dibuat di dalam hati. Kerusakan pada hati dapat memungkinkan albumin masuk ke dalam aliran darah dalam tingkat yang lebih tinggi. Keadaan tersebut dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit hati, gastrointestinal, ketidaknormalan protein, kanker dan kegagalan sel darah. Peningkatan kadar globulin dapat disebabkan inflamasi dan infeksi yang kronik (Anonymous, 2007d). Meningkatnya kadar globulin pada F1 mencit kontrol dapat mengindikasikan bahwa kerusakan hati pada kontrol lebih parah dibanding pada F1 mencit ikan berformalin 0.5 ppm, namun bisa juga tidak seperti itu. Karena tingkat keefektifan racun pada tiap individu bervariasi. Menurut Donatus (2001), keefektifan zat toksik ditentukan oleh ketersediaan zat toksik dan afinitas dengan sel sasaran, yang ditentukan oleh keefektifan absorpsi, distribusi, dan eliminasi zat toksik. Keadaan ini sebagian dipengaruhi oleh kondisi makhluk hidup, yaitu keadaan fisiologi serta patologi makhluk hidup.

4.3 Tes Fungsi Ginjal

4.3.1 Kreatinin F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata kreatinin F1 mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 10, yang dibandingkan dengan standar kreatinin mencit sehat, bawah ini.

Tabel 10. Perbandingan Kadar Kreatinin Mencit Sehat – F1 Mencit

Standar Kreatinin Mencit (mg/dl)	Kreatinin F1 Mencit (mg/dl)	
	Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
0.30 – 1.00	0.32 ^a	0.30 ^b

Analisa non parametrik *Mann-Whitney* digunakan untuk menganalisa data kreatinin, karena setelah diuji kenormalan, ternyata data tidak menyebar normal. Dari analisa tersebut dapat diketahui bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, berbeda nyata terhadap nilai kreatinin F1 mencit ($P=0.0250$ atau $P<0.05$). Hasil analisa *Mann-Whitney* kadar kreatinin dapat dilihat pada Lampiran 1.

Menurut Mitsuka (1981) dan Loeb (1989) dalam Kusumawati (2004), kadar kreatinin mencit adalah 0.30-1.00 mg/dl. Dari data pada Tabel 10 dapat diketahui bahwa kadar kreatinin F1 mencit yang diberi perlakuan kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm masih berada di dalam ambang batas normal. Kreatinin adalah zat racun dalam darah, terdapat pada seseorang yang ginjalnya sudah tidak berfungsi dengan normal. Adanya protein atau darah di dalam urin dapat menunjukkan kelainan dari ginjal. Dalam keadaan normal, kedua zat ini dibuang dari tubuh melalui ginjal bersama urin. Jika ginjal tidak bekerja, jumlah kedua zat ini di dalam darah akan meningkat (Anonymous, 2007e). Ditambahkan oleh Lu (1995), bahwa meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal.

Masih normalnya kadar kreatinin dalam darah, walaupun sudah diberi zat toksik, dapat disebabkan oleh kemampuan toleransi ginjal yang baik. Menurut Lu (1995), ginjal memiliki kemampuan kompensasi yang luar biasa. Bahkan setelah beberapa perubahan yang cukup penting pada fungsi dan morfologi ginjal, ginjal masih dapat mengkompensasi

dan berfungsi secara normal. Karenanya, beberapa pengujian penting dilakukan pada interval waktu yang tepat dan berulang kali.

4.4 Kadar Formaldehid Dalam Serum Darah F1 Mencit

Hasil pengujian kadar rata-rata formaldehid dalam serum darah F1 mencit menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 11 di bawah ini.

Tabel 11. Kadar Rata-rata Formaldehid Dalam Serum Darah F1 Mencit

Formaldehid Dalam Serum Darah F1 Mencit (mg/kg)	
Kontrol	0.5 ppm Ikan Berformalin
$3.56 \times 10^{-6} \text{ a}$	$3.614 \times 10^{-4} \text{ b}$

Analisa non parametrik *Mann-Whitney* digunakan untuk menganalisa data kadar formaldehid dalam serum darah, karena setelah diuji kenormalan ternyata data tidak menyebar normal. Dari analisa tersebut dapat diketahui bahwa kedua perlakuan, kontrol dan 0.5 ppm ikan berformalin, berbeda nyata terhadap kadar formaldehid dalam serum darah F1 mencit ($P=0.0051$ atau $P<0.05$). Hasil analisa *Mann-Whitney* kadar formaldehid dalam serum darah dapat dilihat pada Lampiran 1.

Data penelitian pada Tabel 11 menunjukkan bahwa kadar formaldehid rata-rata F1 mencit kontrol lebih tinggi jika dibandingkan F1 mencit perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan absorpsi formaldehid dalam darah F1 mencit kontrol dan terakumulasi tiap dosis. Menurut Siswandono dan Soekardjo (1995), kadar zat asing bebas dalam darah akan menentukan respon biologis.

Lu (1995) menyatakan bahwa sifat dan intensitas efek suatu bahan kimia bergantung pada kadarnya di tempat kerja, yaitu dari dosis efektifnya. Umumnya kadarnya di dalam

organ sasaran merupakan fungsi kadar darah. Selama penyerapan, kadar toksikan dalam darah meningkat, begitu juga dengan laju ekskresi, biotransformasi, dan distribusinya ke alat-alat tubuh dan jaringan lain.

4.5 Berat Organ F1 Mencit

4.5.1 Hati

Berat rata-rata hati F1 mencit, yang ditimbang pada akhir penelitian, menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 12 di bawah ini.

Tabel 12. Berat Rata-rata Hati F1 Mencit

Berat Hati F1 Mencit (g)	
Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
0.078 ^a	0.052 ^b

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, berbeda nyata terhadap berat hati F1 mencit ($P=0.005$ atau $P<0.05$). Hasil analisa uji t berpasangan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Berat hati pada F1 mencit kontrol lebih besar dibandingkan dengan F1 mencit 0.5 ppm ikan berformalin. Menurut Lu (1995), toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati. Biasanya berat organ merupakan petunjuk 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.

Menurut Donatus (2001), aksi racun atas organ tertentu di dalam tubuh mungkin akan ditanggapi dengan berbagai respon biokimia, fisiologi, histopatologi, dan perubahan struktural. Mengecilnya ukuran hati pada F1 mencit yang dipapar ikan berformalin 0.5 ppm mungkin saja menunjukkan bahwa hati tersebut mengalami atrofi, yaitu mengecilnya sel

atau berkurangnya jumlah sel yang biasanya menyebabkan penyusutan atau pengerutan jaringan atau organ yang terpengaruh. Sedangkan kondisi hati pada F1 mencit kontrol mungkin mengalami hipertrofi, yaitu suatu bentuk adaptasi sel berupa pembesaran ukuran sel akibat adanya tekanan atau luka kimia.

4.4.2 Ginjal

Berat rata-rata ginjal F1 mencit, yang ditimbang pada akhir penelitian, menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 13 di bawah ini.

Tabel 13. Berat Rata-rata Ginjal F1 Mencit

Berat Ginjal F1 Mencit (g)	
Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
0.012 ^a	0.01167 ^a

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, tidak berbeda nyata terhadap berat ginjal F1 mencit ($P=0.886$ atau $P>0.05$). Hasil analisa uji t berpasangan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 13 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan berat ginjal pada F1 mencit kontrol jika dibandingkan dengan F1 mencit perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm. Adanya pembengkakan merupakan salah satu indikasi kerusakan ginjal, walaupun tidak semua jenis penyakit ginjal menyebabkan kebengkakan. Menurut Heriana (2003), kebengkakan ginjal dapat disebabkan karena tidak berfungsinya ginjal sebagai filter untuk membersihkan darah/cairan lainnya. Fungsi ini bertujuan agar bahan-bahan kimia yang terkandung dalam darah atau cairan tubuh lainnya tidak terbawa kembali oleh darah dan beredar ke seluruh tubuh. Sebagian kotoran hasil penyaringan ini nantinya akan dikeluarkan melalui ginjal

bersama air seni. Namun sebagian lagi mungkin tertinggal dan mengendap menjadi batu ginjal yang dapat menyumbat aliran urine, menimbulkan kenaikan tekanan dan akhirnya pembengkakan ginjal.

4.5.2 Lambung

Berat rata-rata lambung F1 mencit, yang ditimbang pada akhir penelitian, menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 14 di bawah ini.

Tabel 14. Berat Rata-rata Lambung F1 Mencit

Berat Lambung F1 Mencit (g)	
Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
0.0345 ^a	0.02517 ^a

Hasil analisa data menggunakan uji t berpasangan menunjukkan bahwa kedua perlakuan, kontrol dan ikan berformalin 0.5 ppm, tidak berbeda nyata terhadap berat lambung F1 mencit ($P=0.443$ atau $P>0.05$). Hasil analisa uji t berpasangan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 14 menunjukkan bahwa lambung F1 mencit kontrol memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan lambung F1 mencit perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm. Berat organ, termasuk lambung, merupakan indikator yang berguna bagi toksisitas. Pada umumnya lambung yang terkena gangguan akan mengalami pembengkakan. Berbagai obat-obatan, alkohol, serta stres fisik maupun mental dapat menyebabkan aliran darah ke mukosa dinding lambung berkurang sehingga terjadi peningkatan permeabilitas dinding lambung. Hal ini menyebabkan pelepasan histamine lokal sehingga terjadi edema atau pembengkakan dinding lambung (Anonymous, 2007i).

Kondisi lambung F1 mencit kontrol yang lebih besar dibandingkan F1 mencit yang dipapar ikan berformalin 0.5 ppm bisa terjadi karena adanya toksisitas zat kimia yang berubah-ubah. Menurut Loomis (1978), toksisitas zat kimia yang diberikan melalui oral mungkin berubah-ubah karena frekuensi pemberiannya dan karena berbagai kondisi yang ada ketika zat kimia tersebut diberikan, yakni apakah tercampur dengan makanan atau diberikan pada saat lambung dalam keadaan kosong.

4.5.3 Usus

Berat rata-rata usus F1 mencit, yang ditimbang pada akhir penelitian, menunjukkan data sebagaimana dalam Tabel 15 di bawah ini.

Tabel 15. Berat Rata-rata Usus F1 Mencit

Berat Usus F1 Mencit (g)	
Kontrol	Ikan Berformalin 0.5 ppm
0.1718 ^a	0.0262 ^b

Analisa non parametrik *Mann-Whitney* digunakan untuk menganalisa data berat usus, karena setelah diuji kenormalannya ternyata data tidak menyebar normal. Dari analisa tersebut dapat diketahui bahwa kedua perlakuan, kontrol dan 0.5 ppm ikan berformalin, berbeda nyata terhadap berat usus F1 mencit ($P=0.0051$ atau $P<0.05$). Hasil analisa *Mann-Whitney* berat usus dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 15 menunjukkan bahwa usus pada F1 mencit kontrol memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan usus F1 mencit perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm. Besarnya ukuran usus merupakan suatu gejala sakit sebagai akibat masuknya toksikan ke dalam tubuh. Menurut Koeman (1987), suatu keracunan akan menampakkan diri berupa gejala sakit (*symptom*). *Symptom*, pada prinsipnya, dapat menampakkan diri di dalam semua fungsi

badan, tergantung dari sifat zat, jalan penyerapannya, lamanya pendedahan, dan terutama besarnya dosis. Jadi, efek keracunan pada usus tidak hanya terlihat dengan membengkaknya usus tapi bisa dalam gejala lain.

Membengkaknya usus juga disebabkan karena terjadi iritasi/peradangan. Hal ini terkait dengan sifat formalin yang berupa iritan. Menurut Amiruddin (2006), mencerna cairan formaldehid dapat menyebabkan trauma korosif pada esofagus dan perut.

4.6 Observasi Klinis F1 Mencit

Observasi klinis F1 mencit diamati dan dicatat perubahannya setiap hari selama 1 bulan dipaparkan 0.5 ppm ikan berformalin. Observasi klinis F1 mencit selama perlakuan dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Observasi Klinis F1 Mencit

Perlakuan	Berat Badan Menurun (%)	Rambut Berdiri (%)	Gerak Memutar (%)	Badan Tidak Seimbang (%)	Tumor (%)
Kontrol	0	0	0	0	0
	0	11.11	0	0	16.67

Tabel 16 menunjukkan bahwa F1 mencit kontrol, tidak mengalami perubahan klinis dalam bentuk perubahan perilaku dan morfologis (perubahan bentuk luar). Sedangkan F1 mencit pada perlakuan ikan berformalin 0.5 ppm mengalami gejala klinis berupa rambut berdiri (11.11%), dan tumor (16.67%). Gejala klinis yang paling menonjol adalah meningkatnya kejadian tumor pada F1 mencit dibandingkan dengan induk. Perhitungan persentase F1 mencit yang terkena gejala klinis dapat dilihat pada Lampiran 3.

Adanya gejala rambut berdiri mengindikasikan adanya reaksi pada mencit yang dipaparkan zat asing ke dalam sistem tubuhnya secara berulang-ulang. Rambut merupakan

protein yang bernama kreatin. Kreatin tumbuh pada bagian kulit yang tipis yang disebut folikel. Pada folikel terdapat jaringan syaraf dan otot polos (*Arecto pili*) yang dapat menarik semua rambut ke atas (Anonymous, 2003). Selain itu, sel-sel kulit memiliki kemampuan untuk berubah menjadi sel tipe lain yang dapat membentuk folikel rambut, kelenjar keringat, gigi dan kuku. Sel-sel untuk menumbuhkan rambut yang diperintah oleh 'kode' protein. Hal inilah yang diduga ada suatu kesalahan pengkodean dalam protein sebagai akibat formaldehid yang telah merubah struktur protein (Loomis, 1978). Kondisi F1 mencit yang mengalami rambut berdiri dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. F1 Mencit Dengan Rambut Berdiri

Timbulnya tumor mengindikasikan bahwa formalin dalam dosis tertentu dan dalam jangka waktu yang lama serta berulang dapat menyebabkan tumor, jika sudah semakin ganas akan timbul kanker (Anonymous, 2007a).

Meningkatnya presentase tumor pada F1 mencit dibandingkan dengan presentase tumor pada induk diduga sebagai akibat dari adanya fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme yang akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid

dengan DNA dan protein ini diduga bertanggungjawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker (Amiruddin, 2007).

Menurut Zhitkovich dan Quievryn (2000), formaldehid yang masuk ke dalam tubuh akan berikatan dengan DNA dan histon. Ikatan silang antara DNA dan histon inilah yang diindikasikan berhubungan erat dengan terbentuknya tumor, dan hal ini akan berefek pada respon yang lebih luas/berat yaitu kanker. F1 mencit yang mengalami tumor dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Tumor Pada F1 Mencit Betina

4.7 Kematian F1 Mencit

Persentase jumlah kematian F1 mencit (*Mus musculus*) pada bulan kedua penelitian, yang dibandingkan dengan jumlah kematian induk mencit, dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Persentase Kematian F1 Mencit

Perlakuan	Σ Awal Mencit (ekor)	Σ Mencit mati (ekor)	Kematian (%)
Kontrol	18	0	0
	18	4	22.22

Tabel 17 menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol mencit tidak mengalami kematian, sedangkan pada perlakuan 0.5 ppm ikan berformalin mencit yang mati sebanyak 4 ekor atau 22.22%. Perhitungan presentase F1 mencit yang mati dapat dilihat pada Lampiran 4. 3 ekor mencit yang mati mengalami tumor, sedangkan sisanya adalah mencit dengan rambut berdiri. Kematian ini sebenarnya tidak hanya disebabkan karena tumor, namun juga oleh penyebab lain yang tidak terlihat secara makroskopis sebagai akibat dari paparan formalin yang efeknya tidak dapat diketahui dalam jangka waktu yang singkat. Menurut Lu (1995), banyak toksikan menimbulkan efek langsung, yaitu efek yang timbul segera setelah satu kali pajanan. Ada juga toksikan yang menimbulkan efek tertunda, yaitu muncul beberapa waktu setelah pajanan, misalnya efek karsinogenik. Pada hewan pengerat efek karsinogenik baru muncul beberapa bulan setelah pajanan.

Syarifah (2006) menyatakan, jika formalin dikonsumsi dalam jumlah besar, akan menimbulkan *konvulsi*, *haematuria* (urin berdarah), dan *haematomesis* (muntah darah). Jantung juga akan mengalami gangguan, kerusakan hati, saraf, kulit membiru, hilangnya pendengaran, kejang-kejang, koma, dan kematian.

4.8 Pemeriksaan F1 Mencit (*Mus musculus*) Pascamati

Pada penelitian ini, organ yang diamati pada F1 mencit yang mati adalah hati, ginjal, lambung, dan usus. Hasil dari pengamatan makroskopis organ F1 mencit yang mati dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Pengamatan Makroskopis Organ F1 Mencit yang Mati

Perlakuan	Kondisi Makroskopis			
	Lambung	Usus	Hati	Ginjal
Kontrol	normal	normal	normal	normal
0.5 ppm IF	menggelembung	menggelembung	Pucat kehitaman	normal

Tabel 18 di atas menunjukkan bahwa keadaan lambung dan usus F1 mencit yang mati menggelembung sedangkan hatinya pucat kehitaman dan ginjal masih normal. Penggelembungan usus dan lambung merupakan efek toksik dari formaldehid.

Menurut Amiruddin (2006), mencerna cairan formaldehid dapat menyebabkan trauma korosif pada esofagus dan perut. Nausea, muntah, diare, nyeri perut, peradangan perut, ulserasi dan perforasi orofaring, epiglotis, esofagus dan perut bisa terjadi. Formaldehid dan methanol mudah diabsorpsi dan dapat menyebabkan keracunan sistemik. Penggelembungan ini juga kemungkinan besar berasal dari gas yang dapat dihasilkan dari reaksi formaldehid di dalam saluran cerna (Suharjono, 2006). Ditambahkan oleh Kartono (2006), sebagian formalin yang masuk tubuh akan diurai di usus, tetapi sebagian akan diserap. Jika semua formalin diurai jadi gas CO₂ dapat mengakibatkan banyaknya gas di saluran pencernaan.

Timbulnya efek toksik pada lambung dan usus ini menunjukkan bahwa formaldehid telah dicerna di dalam saluran pencernaan. Karena menurut Loomis (1978), zat kimia yang ada di dalam saluran cerna dapat menimbulkan efek hanya pada permukaan sel mukosa yang melapisi saluran tersebut, kecuali jika terjadi absorpsi dari saluran cerna.

Kondisi hati yang berwarna pucat kehitaman dapat diduga bahwa hati mengalami nekrosis (kematian hepatosit). Menurut Lu (1995), nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan yang luar biasa. Biasanya, inti sel yang mati itu akan menyusut, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap dengan zat warna yang biasa digunakan oleh para ahli patologi (Price dan Wilson, 1984).

Kondisi makroskopis ginjal yang normal tidak berarti ginjal tidak mengalami kerusakan sama sekali. Menurut Koeman (1987), mekanisme kerja zat yang merusak ginjal relatif sedikit diketahui. Ditambahkan oleh Cotchin dan Roe (1967), dalam menilai efek toksikan terhadap ginjal, sebaiknya dipertimbangkan beberapa faktor di luar ginjal yang mungkin mempengaruhi volume atau tekanan darah, karena beberapa faktor tersebut dapat merusak fungsi ginjal secara tidak langsung. Selain itu, penyakit ginjal, seperti penyakit ginjal yang berkaitan dengan usia, lebih banyak ditemukan dan juga harus dipertimbangkan. Kondisi usus F1 mencit yang menggelembung dapat dilihat pada Gambar 12, kondisi lambung F1 mencit yang menggelembung dapat dilihat pada Gambar 13, sedangkan kondisi hati yang pucat kehitaman dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 12. Kondisi Usus F1 Mencit Betina



Gambar 13. Kondisi Lambung F1 Mencit Betina



Gambar 14. Kondisi Hati F1 Mencit

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

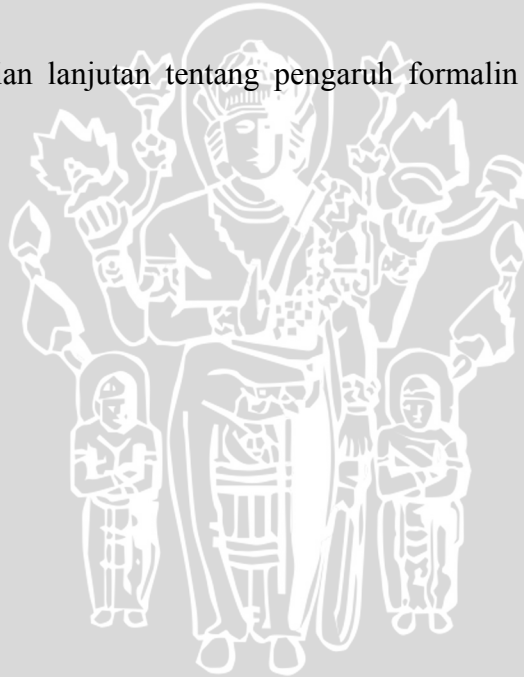
Berdasarkan penelitian tentang Pengaruh Paparan Berulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin 0.5 ppm Secara Oral Terhadap Fisiologis F1 Mencit (*Mus musculus*) Betina dari induk yang terpapar 2 bulan dapat disimpulkan bahwa:

- Paparan berulang ikan nila berformalin menimbulkan berbagai efek pada F1 mencit betina, di antaranya terhadap kimia darah, berat organ, perubahan klinis, serta kondisi organ.
- Kimia darah yang dijadikan parameter adalah SGOT, SGPT, albumin, globulin, kreatinin, dan kadar formaldehid dalam serum darah. Dari data penelitian dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol dan 0.5 ppm ikan berformalin berbeda nyata ($P < 0.05$) terhadap kadar albumin, kreatinin, dan formaldehid dalam serum darah. Sedangkan untuk kadar SGOT, SGPT, globulin tidak berbeda nyata ($P > 0.05$).
- Hasil analisa uji t berpasangan menunjukkan bahwa perlakuan kontrol dan 0.5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap berat hati, ginjal, dan usus ($P < 0.05$). Sedangkan untuk berat lambung tidak berbeda nyata ($P > 0.05$).
- Perubahan klinis yang terjadi pada F1 mencit adalah rambut berdiri (11.11%), dan tumor (16.67%). Perubahan klinis hanya terjadi pada F1 mencit perlakuan 0.5 ppm ikan berformalin.
- Persentase tumor meningkat pada F1 mencit dibandingkan induk mencit. Persentase tumor pada induk mencit adalah sebesar 8.5%.

- Kondisi organ pada F1 mencit yang mengalami kematian adalah usus dan lambung merembengkak, dan hati pucat menghitam, sedangkan kondisi makroskopis ginjal normal.
- Persentase F1 mencit yang mengalami kematian adalah 22,22%. Jumlah ini meningkat dibandingkan dengan kematian induk mencit yaitu 11.43%.

5.2. Saran

- Perlunya pengoptimalan sosialisasi tentang bahaya formalin kepada masyarakat.
- Adanya hukum atau peraturan yang jelas serta tegas terkait dengan penyalahgunaan formalin.
- Perlu diadakan penelitian lanjutan tentang pengaruh formalin terhadap histopatologi organ.



DAFTAR PUSTAKA

Amiruddin, M. D. 2006. **Formalin Dalam Makanan**. www.mail-archive.com

Anonymous. 2003. **Apa Itu Rambut**. www.republikaonline.co.id

_____, 2005a. **Seberapa Toksikkah Anda?**. www.intisari.com

_____, 2005b. **Tes Fungsi Hati**. <http://www.spiritia.or.id>

_____, 2006a. **Formalin dan Bahayanya**. www.halalguide.info.com

_____, 2006b. **Mengenal Formalin Lebih Dekat**. www.distanpemda-diy.go.id

_____, 2006c. **SGOT-SGPT Sering Bikin Kecele**. www.kompas.com

_____, 2007a. **Formaldehida**. www.wikipedia.com

_____, 2007b. **Formalin Bukan Pengawet Makanan**. www.distanpemda-diy.go.id

_____, 2007c. **Anda Bertanya Badan POM Menjawab**. www.republika.com

_____, 2007d. **Ujian Pemeriksaan Kesehatan**. <http://www.azmijaaffar.tripod.com>

_____, 2007e. **Hubungan Asam Urat, Ureum, Creatin Dengan Fungsi Ginjal**. <http://www.azmijaaffar.tripod.com>

_____, 2007f. **Ginjal**. www.wikipedia.com

_____, 2007g. **Darah (Sanguis)**. www.intisari-online.com

_____, 2007h. **Biologi Sistem Pencernaan**. www.google.com

_____, 2007i. **Urine Bercampur Darah**. www.ikcc.or.id

Ardiansyah. 2007. **Macam-macam Mutasi Berdasarkan Bagian Yang Bermutasi**. www.beritaipetek.com

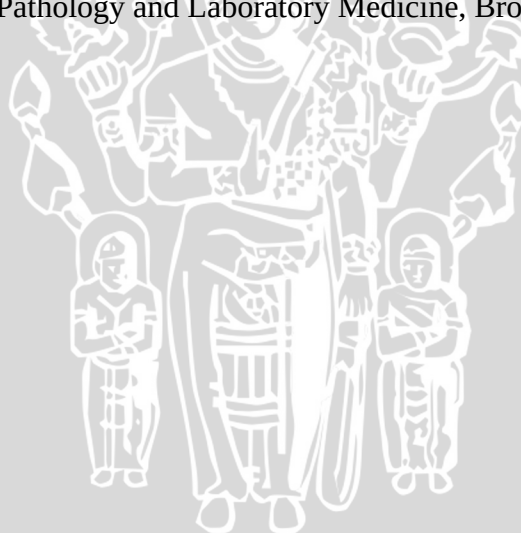
Atmaningsih, R. T. 2007. **Skripsi Pengaruh Paparan Berulang Ikan Berformalin/Oral/2 Bulan Terhadap Fisiologis Mencit (Mus musculus)**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang

Coneway., et al. 1996.

- Cotchin, E dan Roe, F. J. C. 1967. **Pathology Of Laboratory Rats and Mice**. Blackwell Scientific. Oxford University
- Crowter, G. 2004. **Methylotrops Micro 412. Fundamentals Of General Microbiology III**. Crowter @ U. Washington
- Darmono. 2001. **Lingkungan Hidup dan Pencemaran, Hubungannya Dengan Toksikologi Senyawa Logam**. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Dolaria, N. 2003. **Komposisi Kimia Beberapa Jenis Ikan Segar dan Hasil Olahannya**. Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. <http://www.dkp.go.id>
- Donatus, I. A. 2001. **Toksikologi Dasar**. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Gani, R. A. 2006. **SGOT-SGPT**. www.kompas.com
- Gibson, G. G. dan Skett, P. 1986. **Introduction to Drug Metabolism**. Chapman and Hall. London
- Girindra, A. 1988. **Biokimia Patologi Hewan**. Penerbit Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Gray, J. E. 1976. **Assessment Of Hepatotoxic Potential Environment Health Respect**.
- Guyton, A. 1983. **Textbook Of Medical Physiology**. Edition 7. Departement Of Fisiology and Biophysic University Of Missisipi School Of Medicine. USA
- Harisson, K. Methanal. 2005
- Herausgegeben, Von, A., et al. 2006. **Assasement Of The Carcinogenicity Of Formaldehyde**. Berlin
- Heriana, S.T. 2003. **Mengenai Batu Ginjal**. www.ikcc.or.id
- Judarwanto, W. 2006. **Formalin Untuk Mayat Saja**. www.kompas.com
- Kartono, M. 2006. **Formalin Di Makanan Tidak Berbahaya Diurai Menjadi CO₂**. <http://www.indoset.net.id>
- Kerr, J. B. 2000. **Atlas OF Functional Histology**. Harcourt International Publisher. London

- Kiernan, J. A. 2000. **Reaction Of Formaldehyde With Proteins**. Departement Of Anatomy and Cell Biology. The University Of Western Ontario Canada. London
- Koeman, J. H. 1983. **Pengantar Umum Toksikologi**. Alih Bahasa. R. H. Yudono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Kusumawati, D. 2004. **Bersahabat Dengan Hewan Coba**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Loomis, T. A. 1978. Toksikologi Dasar Edisi 3. Alih Bahasa. Imono Argo Donatus. IKIP Semarang Press. Semarang
- Lu, F. C. 1995. **Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko**. Alih Bahasa. Edi Nugroho, Zunilda S. B dan Iwan Daarmansyah. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Mohi. 2006
- Montgomery., *et al.* 1983. **Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus Jilid I**. Alih Bahasa. Iswadi M. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Murniyati, A.S dan Sunarman. 2000. **Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan**. Kanisius. Yogyakarta
- Murray., *et al.* 1995. **Biokimia Harper**. Alih Bahasa. A. Hartono. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta
- Murtidjo, B. A. 2001. **Beberapa Metode Pembenihan Ikan Di Pekarangan**. Penebar Swadaya. Jakarta
- Nowok, R. M dan Paradiso, J. L. 1983. **Mammals Of The World**.
- Nurachman, Z. 2005. **Formalin**. Zeily@chem.itb.ac.id
- Pesce, A. J dan Lawrence, A.K. 1987. **Methods In Chemical Chemistry**. The CV. Mosby Company. Washington DC
- Price, S. A dan Wilson, L. M. 1984. **Patofisiologi. Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit**. Edisi 2. Alih Bahasa. Adji Dharma. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta
- Saanin, H. 1986. **Kunci Identifikasi Dan Taksonomi Ikan**. Bina Aksara. Jakarta
- Smith, J. B dan Mangkoewidjojo, S. 1988. **Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis**. Universitas Indonesia Press. Jakarta

- Suharjono. 2006. **Mengambil Hikmah Kasus Formalin**. Unit Layanan Informasi Obat Dan Makanan. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya
- Susanto, H. 1990. **Budidaya Ikan Di Pekarangan**. Penebar Swadaya. Jakarta
- Syarifah. 2006. **Formalin, Pengawet Makanan Yang Disalahgunakan**. www.pikiranrakyat.com
- Utami, S. 1989. **Penggunaan Hewan-hewan Percobaan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktur Jenderal Dinas Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Widaryana, I. D. Made. 2006. **Formalin Yang Kontroversial**. www.health.IRC.com
- Winarno, F. G. 1992. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Zhitkovich, A dan Quievryn, G. 2000. **Loss Of DNA-Protein Crosslinks From Formaldehyde-Exposed Cells Occurs Through Spontaneous Hydrolysis And An Active Repair Process Linked to Proteosome Function**. Departement Of Pathology and Laboratory Medicine, Brown University. USA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

