

**PENGARUH KONSUMSI RANSUM BERFORMALIN TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN ORGAN DALAM  
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

**LAPORAN SKRIPSI  
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :  
**ANDRESWARI KUSUMANINGTYAS**  
NIM. 0210830007



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERIKANAN  
MALANG  
2007**

**PENGARUH KONSUMSI RANSUM BERFORMALIN TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN ORGAN DALAM  
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

Oleh:  
**ANDRESWARI KUSUMANINGTYAS**  
NIM. 0210830007

**DOSEN PENGUJI I**

**(Ir. TITIK DWI S, MP)**  
Tanggal:

**DOSEN PENGUJI I**

**(Ir. BAMBANG BUDI S, MS)**  
Tanggal:

**MENYETUJUI,  
DOSEN PEMBIMBING I**

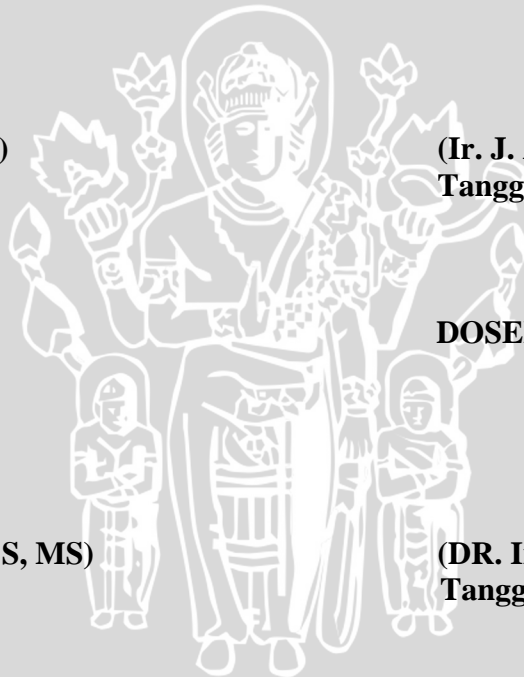
**(Ir. J. A. SUMARDI, MS)**  
Tanggal:

**DOSEN PEMBIMBING II**

**(DR. Ir. HARDOKO, MS)**  
Tanggal:

**MENGETAHUI,  
KETUA JURUSAN**

**(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS)**  
Tanggal:



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Tugas akhir ini tersusun berdasarkan hasil dari penelitian yang berjudul: **Pengaruh Konsumsi Ransum Berformalin Terhadap Pertumbuhan dan Organ Dalam Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)**

Penulis sebagai manusia menyadari kekurangan dan keterbatasan yang penulis miliki dalam menyusun tugas akhirnya. Tugas akhir ini dapat terselesaikan atas dukungan dan bantuan dari semua pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ir. J.A. Sumardi, MS selaku dosen pembimbing I, yang telah memberikan saran, kritik dan bimbingan selama penulis menyelesaikan tugas akhirnya
2. Dr. Ir. Hardoko, MS selaku dosen pembimbing II, yang telah memberikan saran, kritik dan bimbingan selama penulis menyelesaikan tugas akhirnya
3. Keluargaku tercinta (Ayah, Ibu, Mas, dan Adik-adikku), atas segenap dukungan baik materiil maupun spiritual, atas segala cinta, sayang dan doanya yang tiada henti.
4. Pak Yuli, Pak Wayan, Pak Suroso, Pak Bambang Supriadi, Bu Yuli dan para laboran di Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang telah membantu demi kelancaran penelitian yang saya lakukan.
5. Mas Defri dan Mbak Ainun yang telah menyediakan akomodasi dan transportasi selama di Yogyakarta.
6. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu.

Saran dan kritik demi kesempurnaan tugas akhir ini akan penulis terima dengan tangan terbuka. Semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi mahasiswa Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Malang, Juli 2007

Penulis

## RINGKASAN

**Andreswari Kusumaningtyas, 0210830007.** Laporan skripsi dengan judul Pengaruh konsumsi ransum berformalin terhadap pertumbuhan dan organ dalam tikus Wistar (*Rattus norvegicus*), dibawah bimbingan **Ir. J.A Sumardi, MS** dan **DR. Ir. Hardoko, MS**

---

Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia sehingga dilarang penggunaannya dalam makanan melalui Peraturan Menteri kesehatan No 1168/Menkes/PER/X/1999. Tetapi akhir-akhir, ini penggunaan formalin dalam makanan termasuk produk perikanan semakin santer diberitakan. Mengenai. Tetapi sampai sekarang belum diketahui secara jelas dampak yang terjadi pada kesehatan manusia yang telah lama mengkonsumsi makanan berformalin sehingga diperlukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara pasti apakah konsumsi makanan berformalin dengan kisaran residunya dalam produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan menimbulkan kerusakan pada organ dalam (hati, ginjal dan limpa).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas (PAU), dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan Januari – Maret 2007.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan pola sebagai berikut: perlakuan utama (faktor) adalah lamanya konsumsi ransum berformalin yaitu selama satu (A1) dan dua (A2) bulan. Sebagai sub perlakuan atau level adalah konsentrasi formalin tiap 100 gram ransum, yaitu: (B1). 0%; (B2). 0,3%; (B3). 0,6%; (B4) 0,9%; dan (B5). 1,2%, Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan Uji BNJ (Beda Nyata Jujur). Parameter uji meliputi analisa analisis proksimat dan uji residu formalin pada ransum, jumlah ransum yang dikonsumsi, berat badan tikus, berat dan anatomi jaringan organ tikus (hati, ginjal dan limpa).

Konsumsi ransum yang mengandung formalin dengan konsentrasi yang setara dengan produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) berpengaruh terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus wistar. Pemberian ransum berformalin dengan konsentrasi yang berbeda dan lama konsumsinya menunjukkan perbedaan yang nyata

terhadap pertumbuhan berat badan dan anatomi jaringan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar. Semakin tinggi konsentrasi formalin yang ditambahkan dalam ransum dan waktu konsumsi yang semakin lama maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan kondisi jaringan organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus wistar. Tikus yang mengkonsumsi ransum berformalin dengan konsentrasi 1,2% selama 2 bulan menunjukkan laju pertumbuhan berat badan yang terendah dan memiliki resiko paling tinggi terhadap terjadinya kerusakan pada anatomi jaringan (perlemakan hati dan nekrosis) pada organ dalam ( hati, ginjal, limpa). Kerusakan pada anatomi jaringan organ dalam tikus wistar disebabkan karena tingginya kandungan formalin pada ransum perlakuan dan dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama sehingga formalin terakumulasi dalam tubuh tikus dan mengakibatkan terjadinya degenerasi vakuola dan nekrosis pada jaringan organ dalam tikus (hati,ginjal).



**DAFTAR ISI**

	Halaman
RINGKASAN .....	i
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Hipotesis.....	4
1.6 Tempat dan Waktu .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Formalin .....	5
2.2 Sumber Formalin.....	6
2.3 Kegunaan Formalin.....	7
2.4 Formalin Sebagai Pengawet Makanan.....	8
2.5 Gejala Keracunan Formalin .....	11
2.6 Efek Formalin Terhadap Kesehatan.....	11
2.7 Ambang Batas Formalin .....	14
2.8 Metabolisme Formalin .....	15
<b>3. METODOLOGI.....</b>	<b>17</b>
3.1 Bahan .....	17
3.1.1 Bahan yang diuji .....	17
3.1.2 Bahan untuk ransum.....	17
3.1.3 Bahan untuk analisis kimia .....	17

3.2 Peralatan.....	18
3.3 Tikus Percobaan dan Peralatannya .....	19
3.4 Metode Penelitian .....	20
3.4.1 Prosedur penelitian .....	21
3.4.1.1 Pembuatan ransum pada tikus percobaan .....	21
3.4.1.2 Pemberian ransum dan minum pada tikus .....	23
3.4.1.2 Pelaksanaan percobaan.....	24
3.4.2 Parameter uji .....	25
3.5 Prosedur Pengujian Parameter Uji .....	26
3.5.1 Kadar air metode thermogravimetri .....	26
3.5.2 Kadar protein metode Kjeldahl .....	26
3.5.3 Kadar lemak metode Goldfish.....	28
3.5.4 Kadar abu .....	29
3.5.5 Kadar karbohidrat .....	29
3.5.6 Jumlah ransum yang dikonsumsi dan berat badan tikus .....	30
3.5.7 Analisis formalin terhadap ransum perlakuan.....	31
3.5.8 Analisis organ .....	33
3.6 Analisis Data .....	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Komposisi Gizi Ransum .....	36
4.2 Konsentrasi Formalin Ransum.....	37
4.3 Pengaruh Konsumsi Ransum Berformalin Terhadap Jumlah Konsumsi dan Berat Badan Tikus.....	40
4.3.1 Jumlah konsumsi ransum .....	40
4.3.2 Berat badan tikus.....	44
4.4 Pengaruh Konsumsi Ransum Pakan Berformalin Terhadap Berat dan Anatomi Organ Hati, Ginjal dan Limpa Tikus .....	51
4.4.1 Hati.....	51
4.4.2 Ginjal.....	60
4.4.3 Limpa .....	67

5. KESIMPULAN DAN SARAN ..... 73

    5.1 Kesimpulan ..... 73

    5.2 Saran ..... 73

DAFTAR PUSTAKA ..... 74

LAMPIRAN ..... 79





**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Kandungan formalin pada makanan di Jakarta .....	10
2. Paparan Konsentrasi Formaldehid Terhadap Kesehatan.....	13
3. Efek Formalin Bagi Tubuh Manusia.....	13
4. Denah rancangan faktor perlakuan.....	20
5. Komposisi ransum standar tikus percobaan.....	21
6. Jumlah formalin yang ditambahkan pada 100 gram pakan (ransum perlakuan)	22
7. Komposisi gizi ransum standar dan perlakuan (%).....	36
8. Kandungan formalin pada ransum perlakuan (%). .....	37
9. Hasil analisis formalin dan penurunannya setelah menjadi ransum pakan.....	38
10. Data perbandingan berat organ hati dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi .....	52
11. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ hati tikus .....	54
12. Data perbandingan berat organ ginjal dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi .....	60
13. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ ginjal tikus .....	62
14. Data perbandingan berat organ limpa dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi .....	68
15. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ limpa tikus .....	69

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia formaldehid.....	6
2. Prosedur pembuatan ransum standar.....	22
3. Prosedur pembuatan ransum perlakuan .....	23
4. Prosedur kerja penelitian .....	25
5. Prosedur pembuatan kurva standar formaldehid.....	33
6. Reaksi formaldehid dengan protein .....	39
7. Grafik jumlah konsumsi ransum .....	41
8. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap jumlah konsumsi ransum tikus .....	43
9. Grafik berat badan tikus .....	45
10. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat badan tikus .....	47
11. Grafik laju pertumbuhan berat badan tikus .....	49
12. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus.....	50
13. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ hati tikus .....	53
14. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (1 bulan) normal.....	54
15. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,3% (1 bulan) normal .....	54
16. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,6% (1 bulan) normal .....	55
17. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9% (1 bulan) normal .....	55
18. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9% (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	55
19. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 1,2% (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	55
20. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (2 bulan) normal.....	56
21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,3% (2 bulan) normal .....	56
22. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,6% (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	56
23. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9% (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	56

24. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9% (2 bulan) yang mengalami infiltrasi glikogen (IG)..... 57

25. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 1,2% (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 57

26. Pembengkakan sel, vakuolalisasi dan penyimpanan dalam sitoplasma ..... 58

27. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ ginjal tikus ..... 61

28. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol (1 bulan) normal..... 62

29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,3% (1 bulan) normal .... 62

30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6% (1 bulan) normal .... 63

31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,9% (1 bulan) normal .... 63

32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 1,2% (1 bulan) normal .... 63

33. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol (2 bulan) normal..... 63

34. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,3% (2 bulan) normal .... 64

35. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6% (2 bulan) normal .... 64

36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6% (2 bulan) yang mengalami nekrosis dan kalsifikasi ..... 64

37. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,9% (2 bulan) yang mengalami nekrosis dan kalsifikasi ..... 64

38. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 1,2% (2 bulan) yang mengalami nekrosis dan kalsifikasi ..... 65

39. Diagram mekanisme nekrosis ..... 66

40. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ limpa tikus ..... 69

41. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (1 bulan) normal..... 70

42. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,3% (1 bulan) normal .... 70

43. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,6% (1 bulan) normal .... 70

44. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,9% (1 bulan) normal .... 70

45. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 1,2% (1 bulan) normal .... 71

46. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (2 bulan) normal..... 71

47. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,3% (2 bulan) normal .... 71

48. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,6% (2 bulan) normal .... 71

49. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,9% (2 bulan) normal .... 72

50. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 1,2% (2 bulan) normal .... 72

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi mineral <i>mix</i> dalam 1000 g.....	79
2. Komposisi vitamin "Superviton" setiap 2 Kaplet.....	80
3. Perhitungan jumlah formalin yang ditambahkan pada ransum pakan (100 gram) .....	81
4. Kurva standar formalin .....	82
5. Data jumlah ransum pakan yang dikonsumsi tikus per 3 hari selama 1 bulan perlakuan (g) .....	83
6. Data jumlah ransum pakan yang dikonsumsi tikus per 3 hari selama 2 bulan perlakuan (g) .....	84
7. Data jumlah ransum pakan yang dikonsumsi tikus selama 1 bulan pemeliharaan (g/g berat badan/hari).....	85
8. Data jumlah ransum pakan yang dikonsumsi tikus selama 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan/hari).....	86
9. Data berat badan tikus per 3 hari selama 1 bulan perlakuan (g).....	87
10. Data berat badan tikus per 3 hari selama 2 bulan perlakuan (g).....	88
11. Data berat badan tikus selama 1 bulan pemeliharaan (g).....	89
12. Data berat badan tikus selama 2 bulan pemeliharaan (g).....	90
13. Data laju pertumbuhan berat badan tikus per 3 hari selama 1 bulan perlakuan (g/hari).....	91
14. Data laju pertumbuhan berat badan tikus per 3 hari selama 2 bulan perlakuan (g/hari).....	92
15. Data laju pertumbuhan berat badan tikus selama 1 bulan pemeliharaan (g/hari).....	93
16. Data laju pertumbuhan berat badan tikus selama 2 bulan pemeliharaan (g/100g berat badan) .....	94
17. Data berat organ (hati, ginjal, limpa) tikus (g).....	95
18. Hasil analisis statistik hari ke-0.....	96
19. Hasil analisis statistik jumlah pakan yang dikonsumsi tikus .....	98
20. Hasil analisis statistik berat badan tikus.....	102
21. Hasil analisis statistik laju pertumbuhan berat badan tikus .....	105
22. Hasil analisis statistik berat organ hati tikus .....	108

23. Hasil analisis statistik berat organ ginjal tikus..... 111

24. Hasil analisis statistik berat organ limpa tikus..... 114

25. Gambar pembuatan pakan (A), pengeringan pakan dalam oven (B) dan pakan (C) ..... 117

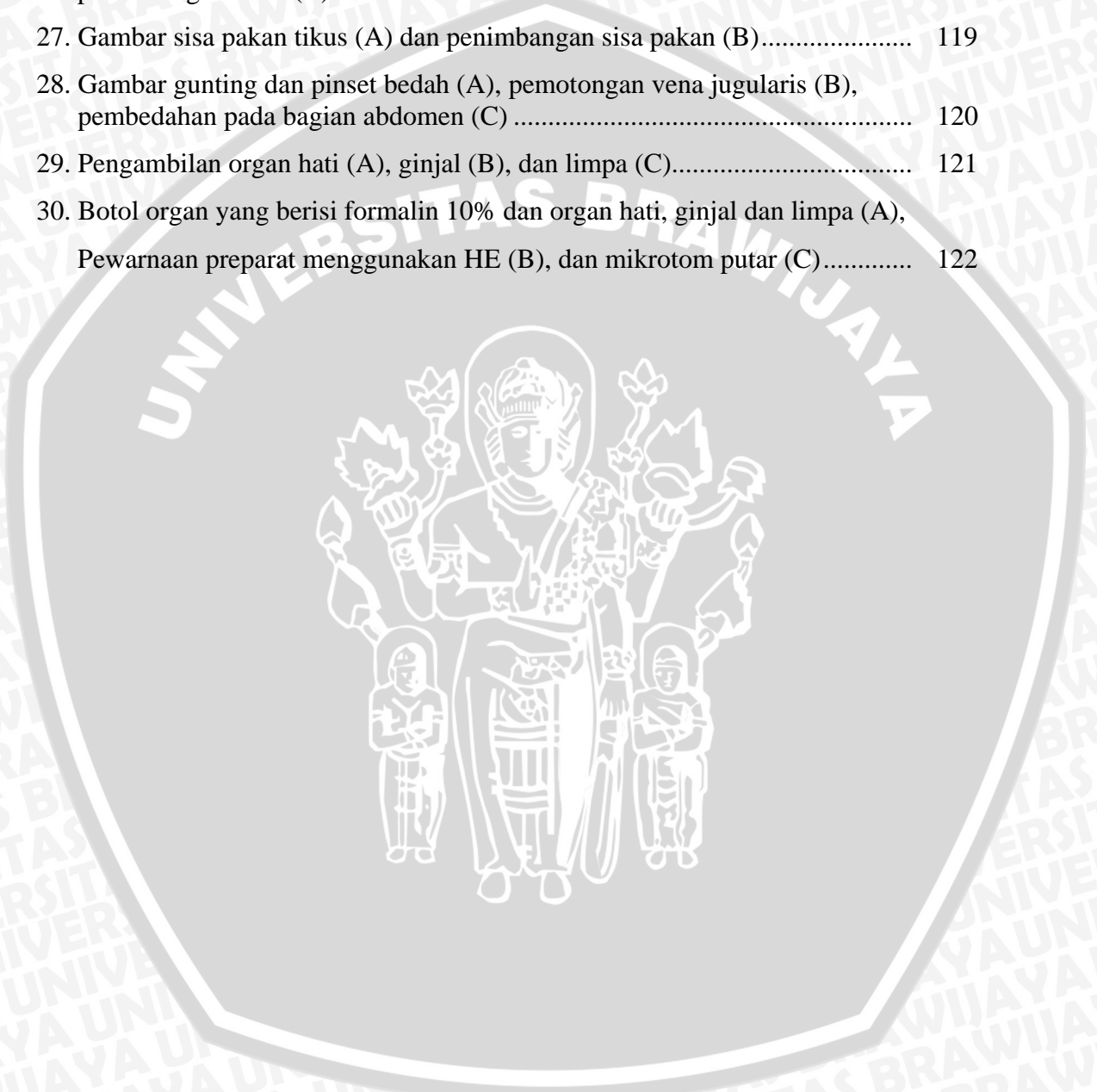
26. Gambar penimbangan pakan (A), kandang pemeliharaan (B), dan penimbangan tikus (C)..... 118

27. Gambar sisa pakan tikus (A) dan penimbangan sisa pakan (B)..... 119

28. Gambar gunting dan pinset bedah (A), pemotongan vena jugularis (B), pembedahan pada bagian abdomen (C) ..... 120

29. Pengambilan organ hati (A), ginjal (B), dan limpa (C)..... 121

30. Botol organ yang berisi formalin 10% dan organ hati, ginjal dan limpa (A), Pewarnaan preparat menggunakan HE (B), dan mikrotom putar (C)..... 122



## 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Akhir-akhir ini isu mengenai penggunaan formalin pada beberapa jenis bahan makanan seperti tahu, bakso, mie basah, ikan asin semakin santer diberitakan oleh berbagai media informasi. Informasi ini menjadikan peringatan dini bagi masyarakat untuk bersikap waspada terhadap penggunaan bahan yang sebetulnya digunakan untuk mengawetkan mayat tersebut (Anonymous, 2006<sup>a</sup>). Fakta dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (POM) menyadarkan masyarakat bahwa selama ini terdapat bahaya formalin yang mengancam kesehatan yang berasal dari konsumsi makanan sehari-hari (Judarwanto, 2006). Sebenarnya dalam Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 1168/Menkes/PER/X/1999 telah melarang penggunaan formalin untuk makanan.

Isu adanya formalin yang terdapat dalam bahan makanan memang harus diwaspadai. Tetapi sebaiknya tidak harus disikapi secara berlebihan. Meskipun akan ada dampak yang sangat berbahaya jika terakumulasi di dalam tubuh, tapi sangatlah tidak bijaksana jika melarang penggunaannya. Nelayan masih banyak yang menggunakan formalin karena: (1). biaya operasional lebih rendah, (2). daya awet ikan lebih lama, (3).kerusakan ikan rendah, (4). ikan yang didaratkan kenampakannya lebih baik terutama pada ikan yang disimpan lebih dari 15 hari. Bagi para pengolah alasan menggunakan formalin adalah: (1). biaya produksi lebih rendah (biaya formalin Rp. 375/kg ikan), (2).pengeringan lebih cepat dan rendemen lebih tinggi serta (3). kenampakan lebih baik (Anonymous, 2005<sup>a</sup>).

Formalin akan menjadi bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia, jika kandungannya dalam tubuh tinggi. Zat ini akan bereaksi secara kimia dengan hampir

semua zat di dalam sel sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan keracunan pada tubuh (Anonymous, 2006<sup>b</sup>). Pada umumnya, bahan kimia yang terdiri dari bahan formaldehid 37% dan metil alkohol 10-15%, terdapat dalam larutan-larutan dalam berbagai kepekatan dan mempunyai bau yang menyengat dan bersifat racun. Jika dikonsumsi jangka panjang maka formaldehid dapat merusak hati, ginjal, limpa, pankreas, otak dan menimbulkan kanker, terutama kanker hidung dan tenggorokan. Keracunan akut terhadap zat ini dapat menimbulkan vertigo dan perasaan mual dan muntah. Keracunan akut metil alkohol dalam makanan dapat menyebabkan kebutaan, kerusakan hati dan saraf dan menimbulkan kanker pada keturunan selanjutnya. Jadi kombinasi antara formaldehid dan metil alkohol didalamnya sebenarnya mempunyai efek karsinogenik atau menimbulkan kanker secara ganda (Maulany, 2006). Wikipedia (2006) menambahkan formaldehid dalam tubuh bisa menimbulkan terikatnya DNA oleh protein, sehingga mengganggu ekspresi genetik normal yang dapat mengganggu pertumbuhan.

*National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) menyatakan formaldehid berbahaya bagi kesehatan pada kadar 20 ppm. Bila melihat ambang batas toleransi, ikan cumi asin yang diteliti Balai Besar POM, sebelum dicuci mempunyai kandungan formalin 6,77 ppm. Setelah dicuci tinggal 5,62 ppm atau 5,62 mg formalin dalam setiap 1 kg ikan cumi asin. Berdasarkan data tersebut, jika dalam satu hari kita makan ikan asin dalam jumlah sekitar 2,5 kg, kemungkinan masih bisa ditoleransi oleh tubuh. Dengan catatan, asupannya hanya dari ikan asin (Anonymous, 2005<sup>b</sup>). Nurachman (2006) menambahkan bahwa saat zat ini dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi, sifat racunnya hilang. Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Pernyataan ini diperjelas oleh Yuswanto (2006)

bahwa berdasarkan penelitian yang dilakukan pihaknya pada tahun 2002, kandungannya pada mie basah di Pasar Jogja sekitar 20 mg/kg mie. Kadar itu belum secara signifikan menimbulkan toksifikasi bagi tubuh manusia. Penelitian dari *World Health Organization* (WHO) menyebutkan kadar bahan kimia ini baru akan menimbulkan toksifikasi atau pengaruh negatif jika mencapai 6 gram. Proses metabolismenya dalam tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO<sub>2</sub> dan *formate* dalam waktu 1,5 menit.

## 1.2 Perumusan Masalah

Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia sehingga dilarang penggunaannya dalam makanan. Tetapi sampai sekarang belum diketahui secara jelas dampak yang terjadi pada kesehatan manusia yang telah lama mengkonsumsi makanan berformalin. Menurut Yuswanto (2006), bahwa ketika formalin masuk melalui alat pencernaan, tidak akan berpengaruh negatif karena proses metabolismenya sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO<sub>2</sub> dan *formate* dalam waktu 1,5 menit, sehingga tidak ada akumulasi dalam tubuh. Tetapi belum ada penelitian lebih lanjut terhadap hewan coba mengenai efek konsumsi formalin dengan dosis yang rendah, sehingga berdasarkan uraian diatas, permasalahan pada penelitian ini adalah : apakah konsumsi makanan berformalin dengan kisaran residunya dalam produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan menimbulkan kerusakan pada organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus Wistar.



### **1.3 Tujuan Penelitian**

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh mengkonsumsi makanan berformalin terhadap kesehatan manusia.

Adapun tujuan penelitian secara khusus adalah untuk mempelajari pengaruh konsumsi ransum berformalin sesuai kisaran residunya dalam produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus Wistar.

### **1.4 Kegunaan Penelitian**

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi bagi peneliti dan masyarakat tentang pengaruh konsumsi makanan berformalin dengan kisaran residu dalam produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) manusia.

### **1.5 Hipotesis**

Diduga bahwa konsumsi ransum berformalin dengan kisaran residunya dalam produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) tidak berakibat buruk terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar.

### **1.6 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas (PAU), dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan Januari – Maret 2007.

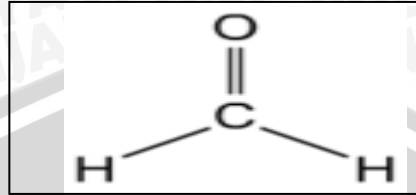
## 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Formalin

Formalin adalah larutan 37 persen formaldehid dalam air yang biasanya mengandung 10 sampai 15 persen metanol untuk mencegah polimerisasi (Anonymous, 2006<sup>c</sup>). Zat seperti ini bisa didapatkan di pasaran dalam bentuk yang sudah diencerkan, yaitu dengan kadar formaldehidnya 40, 30, 20, dan 10 persen. Juga bisa ditemukan dalam bentuk tablet yang beratnya masing-masing sekitar 5 gram (Anonymous, 2006<sup>d</sup>). Nama lain formalin antara lain : *formic aldehyde, paraform, formol, formalin (methanol-free), fyde, formalith, methanal, methyl aldehyde, methylene glycol, methylene oxide, tetraoxymethalene, oxomethane, dan oxomethylene* (Widaryana, 2006).

Formaldehid merupakan gas yang tidak berwarna dan berbau sangat menyengat, sangat larut dalam air dan juga pada beberapa senyawa organik. Memiliki berat molekul 30,03, titik leleh  $-92^{\circ}\text{C}$ , titik didih  $-21^{\circ}\text{C}$ , kepadatan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  0,815 g/ml, ambang batas bau pada air 50 ppm, pada udara 0,5-1,0 ppm, sangat larut dalam air sampai 55%, larut dalam pelarut organik eter, alkohol, aseton dan benzen, tekanan uap pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  yaitu 3,883 mmHg, dapat meledak dan terbakar pada konsentrasi 7- 73 % (Tox probe, 2006). Memiliki nilai pH antara 2,8-4,0, dalam bentuk larutan memiliki titik didih  $96^{\circ}\text{C}$ . Kelarutannya pada suhu  $20,5^{\circ}\text{C}$  dalam air, metanol 95% dan aseton masing-masing 100 mg/ml (Instanref, 2006). Formaldehid mudah larut dalam air sampai kadar 55%, sangat reaktif dalam suasana alkalis, dan bersifat sebagai zat pereduksi kuat (Winarno, 1993). Dalam udara bebas formaldehid berada dalam wujud gas, tapi bisa larut dalam air. Dalam air, formaldehid mengalami polimerisasi, sedikit

sekali yang ada dalam bentuk monomer  $\text{H}_2\text{CO}$ . Untuk membatasi polimerisasinya, larutan ini ditambah beberapa persen metanol (Wikipedia, 2006).

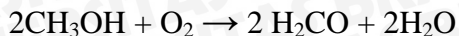


Gambar 1. Struktur kimia formaldehid (Harrison, 2005)

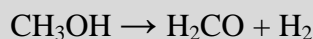
## 2.2 Sumber Formalin

Formaldehid bisa dihasilkan dari membakar bahan yang mengandung karbon. Dalam atmosfer bumi, formaldehid dihasilkan dari aksi cahaya matahari dan oksigen terhadap metana dan hidrokarbon lain yang ada di atmosfer. Formaldehid dalam kadar kecil juga dihasilkan sebagai metabolit kebanyakan organisme, termasuk manusia (Wikipedia, 2006). Yuswanto (2006) menambahkan bahwa proses alam juga menghasilkan zat formalin yang selanjutnya terserap oleh sayur-sayuran, buah dan daging hewan. Buah-buahan dan sayuran juga mengandung zat formalin sebagai hasil proses biologis alami. Daging sapi mengandung formalin kira-kira 30 mg, dan kerang laut mengandung formalin kira-kira 100 mg per kg.

Secara industri, formaldehid dibuat dari oksidasi katalitik metanol. Katalis yang paling sering dipakai adalah logam perak atau campuran oksida besi dan *molibdenum* serta *vanadium*. Dalam sistem oksida besi yang lebih sering dipakai (prose *Formox*), reaksi metanol dan oksigen terjadi pada  $250^\circ\text{C}$  dan menghasilkan formaldehid, berdasarkan persamaan kimia :



Katalis yang menggunakan perak biasanya dijalankan dalam hawa yang lebih panas, kira-kira 650°C, dalam keadaan begini akan ada dua reaksi kimia sekaligus yang menghasilkan formaldehid : satu seperti yang di atas, sedangkan satu lagi adalah reaksi dehidrogenasi, seperti reaksi berikut:



Bila formaldehid ini dioksidasi kembali, akan menghasilkan asam format. Didalam skala yang lebih kecil, formalin bisa juga dihasilkan dari konversi etanol, yang secara komersial tidak menguntungkan (Wikipedia, 2006).

### 2.3 Kegunaan Formalin

Formalin banyak digunakan sebagai desinfektan untuk pembersih lantai, kapal, gudang, dan pakaian, sebagai germisida dan fungisida pada tanaman dan sayuran, serta sebagai pembasmi lalat dan serangga lainnya (Anonymous, 2006<sup>d</sup>). Formaldehid juga dipakai sebagai pengawet dalam vaksinasi. Dalam bidang medis, larutan formaldehid dipakai untuk mengeringkan kulit, misalnya mengangkat kutil. Larutan dari formaldehid sering dipakai dalam membalsem untuk mematikan bakteri serta untuk mengawetkan bangkai. Sebagai formalin, larutan senyawa kimia ini sering digunakan sebagai insektisida, serta bahan baku pabrik-pabrik resin plastik dan bahan peledak. Kegunaan lain dari formalin meliputi:

- Pembasmi lalat dan serangga pengganggu lainnya
- Bahan pembuatan sutra sintetis, zat pewarna, cermin, kaca
- Pengeras lapisan gelatin dan kertas dalam dunia fotografi
- Bahan pembuatan pupuk dalam bentuk urea

- Bahan untuk pembuatan parfum
- Bahan pengawet produk kosmetika dan pengeras kuku
- Pencegah korosi untuk sumur minyak
- Dalam konsentrasi yang sangat kecil (kurang dari 1%), formalin digunakan sebagai pengawet untuk berbagai barang konsumen seperti pembersih barang rumah tangga, cairan pencuci piring, pelembut kulit, perawatan sepatu, shampo mobil, lilin, dan pembersih karpet (Wikipedia, 2006).

Menurut Winarno (1993), gas formalin sering digunakan oleh pedagang tekstil untuk pemberian gas formalin agar bahan tekstil tersebut tidak rusak oleh jamur dan rengat. Disamping itu, digunakan sebagai desinfektan kuat yang dapat memusnahkan berbagai jenis bakteri pembusuk, penyakit serta cendawan atau kapang. Judarwanto (2006), menambahkan di industri perikanan digunakan untuk menghilangkan bakteri yang biasa hidup di sisik ikan. Formalin diketahui sering digunakan dan efektif dalam pengobatan penyakit ikan akibat ektoparasit seperti fluke dan kulit berlendir. Formaldehid dapat mengeraskan jaringan tubuh. Oleh karena itu, formalin 3,7% digunakan untuk mengawetkan mayat, serta bahan biologi dan patologi lain.

#### **2.4 Formalin Sebagai Pengawet Makanan**

Penelitian di laboratorium menunjukkan hasil positif untuk hampir seluruh produk ikan asin dari Teluk Jakarta. Pada ikan asin kecil seperti jambal dan cumi-cumi, tiap 10 gramnya terdapat lebih dari 1,5 ppm (*part per million* atau satu persepjuta) formalin. Cairan ini biasa dipakai nelayan untuk menjaga bobot ikan asin. Pembuatan ikan asin tanpa formalin akan menguranginya hingga 60 persen, sedangkan dengan

menggunakan formalin, bobot yang berkurang akibat pengeringan hanya sekitar 30 persen. Produsen ikan asin mengaku proses produksi menjadi lebih efisien jika menggunakan formalin. Sedangkan bila hanya menggunakan garam, pengeringan bisa dilakukan selama sepekan. Jika menggunakan cairan pembasmi bakteri tersebut, dalam satu atau dua hari saja ikan asin siap dijual (Anonymous, 2006<sup>c</sup>).

Beberapa contoh produk yang sering diketahui mengandung formalin misalnya:

- Ikan segar : ikan basah yang warnanya putih bersih, kenyal, insangnya berwarna merah tua (bukan merah segar), awet dalam beberapa hari dan tidak mudah busuk.
- Ayam potong : ayam yang sudah dipotong berwarna putih bersih, awet dan tidak mudah busuk.
- Mie basah : mie basah yang awet sampai beberapa hari dan tidak mudah basi dibandingkan dengan mie yang tidak mengandung formalin.
- Tahu : tahu yang bentuknya sangat bagus, kenyal, tidak mudah hancur, awet beberapa hari dan tidak mudah basi (Wikipedia, 2006)

Suryati (2006) menyatakan ciri-ciri umum pada beberapa makanan yang diduga mengandung formalin untuk jenis mie basah adalah tidak rusak sampai dua hari pada suhu kamar (25°C) dan bertahan lebih dari 15 hari pada suhu lemari es (10°C). Namun bau mie agak menyengat yakni seperti bau khas formalin, dan mie basah tersebut tidak lengket serta lebih mengkilap dibanding mie tanpa formalin. Pada tahu yang mengandung formalin tidak rusak hingga 3 hari pada suhu kamar dan bertahan lebih dari 15 hari pada suhu lemari es. Tahu keras namun tidak padat dan bau agak menyengat khas formalin. Bakso yang mengandung formalin tidak rusak sampai 5 hari pada suhu kamar dan memiliki tekstur sangat kenyal. Sedangkan ikan segar berformalin tidak rusak

sampai 3 hari pada suhu kamar, warna insang merah tua dan tidak cemerlang, serta bau menyengat khas formalin. Sementara ikan asin mengandung formalin dengan ciri-ciri tidak rusak sampai lebih dari 1 bulan pada suhu kamar, warna ikan asin bersih cerah namun tidak berbau khas ikan asin. Temuan dari BBPOM terhadap beberapa produk makanan yang mengandung formalin disajikan dalam Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Kandungan formalin pada makanan di Jakarta

Produk	Kandungan formalin (ppm)
Ikan asin	5,86 – 40,18
Tahu	3,12 – 107,36
Mi basah	168,37 – 413,84
Mi keriting	50,36
Mi ayam super	4,06 – 10
Kwe tiaw	3,1

(BBPOM, 2005)

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

## 2.5 Gejala Keracunan Formalin

Bila keracunan formalin akan menimbulkan gejala iritasi pada saluran pernafasan, muntah-muntah, kepala pusing, rasa terbakar pada tenggorokan, penurunan pada suhu badan dan rasa gatal di dada (Anonymous 2006<sup>d</sup>). Winarno (1993) menambahkan gejala keracunan formaldehid antara lain: sukar menelan, mual, sakit perut yang akut disertai muntah-muntah, mencret berdarah, timbulnya depresi susunan syaraf, atau gangguan peredaran darah.

## 2.6 Efek Formalin Terhadap Kesehatan

Formalin dapat menyebabkan kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, sistem susunan syaraf pusat dan ginjal. Jika zat ini dikonsumsi orang, efeknya akan muntah, diare bercampur darah, kencing bercampur darah, dan dapat menimbulkan kematian yang disebabkan oleh adanya kegagalan peredaran darah (Anonymous, 2006<sup>d</sup>). Menurut Suryati (2006), konsumsi makanan yang mengandung formalin bisa menyebabkan gangguan pernafasan berupa susah tidur, sensitif, mudah lupa, sulit berkonsentrasi, dan pada wanita akan menyebabkan gangguan menstruasi dan infertilitas. Gangguan formalin untuk jangka panjang dapat menyebabkan kanker mulut dan tenggorokan, sedangkan penelitian terhadap binatang menyebabkan kanker kulit dan paru. Winarno (1993) menyatakan bahwa injeksi formalin dengan dosis 100 gram dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 3 jam.

Apabila kadar formaldehid yang terhisap lebih dari 0,1 mg/kg, bisa menyebabkan iritasi kepala dan membran mukosa, yang menyebabkan keluar air mata, pusing, tenggorokan serasa terbakar, serta kegerahan. Jika terpapar dalam jumlah banyak bisa menyebabkan kematian. Dalam tubuh manusia, dapat dikonversi menjadi asam



format yang meningkatkan keasaman darah, tarikan nafas menjadi pendek dan sering, hipotermia, menimbulkan terikatnya DNA oleh protein, sehingga mengganggu ekspresi genetik yang normal. Binatang percobaan yang menghisap formaldehid terus-terusan terserang kanker dalam hidung dan tenggorokannya. Tapi, ada studi yang menunjukkan apabila formaldehid dalam kadar rendah, tidak menimbulkan pengaruh karsinogenik terhadap makhluk hidup yang terpapar zat tersebut (Wikipedia, 2006).

Berbagai penelitian, menunjukkan formalin dapat menyebabkan kanker (karsinogen). Sedikitnya 30 ml (sekitar 2 sendok makan) formalin dapat menyebabkan kematian. Uap formalin sangat berbahaya jika terhirup saluran pernafasan, dan iritatif jika tertelan atau terkena mata. Formalin juga dapat merusak sistem saraf (neurotoksik) (Anonymous, 2006<sup>f</sup>). Akbar (2006) menyebutkan bahwa formalin adalah zat yang amat berbahaya lantaran dapat memicu mutasi sel pada jaringan tubuh manusia dan binatang. Mutasi sel ini dapat menyebabkan kanker yang sangat sulit disembuhkan. Nurachman (2006) menambahkan sifat merusak formalin terletak pada gugus CO atau aldehid bagian dari formaldehid. Gugus ini bereaksi dengan gugus amina, pada protein menghasilkan metenamin atau heksametilentetramin. Di dalam tubuh, 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.

Asosiasi Kanker Dunia 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, 2006<sup>g</sup>). Menurut Judarwanto (2006), formalin

merupakan zat yang bersifat karsinogenik atau bisa menyebabkan kanker. Formalin termasuk ke dalam karsinogenik golongan IIA. Golongan I adalah yang sudah pasti menyebabkan kanker, berdasarkan uji lengkap. Sedangkan golongan IIA baru taraf duga, karena data hasil uji pada manusia masih kurang lengkap.

Tabel 2. Paparan konsentrasi formaldehida terhadap kesehatan

Konsentrasi parts per Million (ppm)	Efek
0-0.05	Tidak ada
0.1-0.20	Iritasi pada mata
0.5-1.0	Bau
1.0-2.5	Iritasi saluran pernafasan atas
5.0-30	Paru-paru
50-100	Edema dan Pneumonia
> 100	Kematian

(Waddil, 2006)

Tabel 3. Efek formalin bagi tubuh manusia

Organ yang terpapar	Dampak
Kulit	Iritasi, kulit kemerahan dan seperti terbakar, alergi
Mata	Iritasi, mata merah, dan berair kebutaan
Hidung	Mimisan
Saluran pernafasan	Sesak nafas, suara serak, batuk kronis, sakit pada tenggorokan
Saluran pencernaan	Iritasi lambung, mual, muntah, mules
Hati	Kerusakan hati
Paru-paru	Radang paru-paru karena zat kimia (Pneumonitis)
Saraf	Sakit kepala, lemas, susah tidur, sensitif, sulit berkonsentrasi, mudah lupa
Ginjal	Kerusakan ginjal
Organ reproduksi	Infertilitas

(Syam, 2006)

## 2.7 Ambang Batas Formalin

Suatu bahan kimia dikatakan beracun bila berada pada ambang batas yang diperbolehkan. *American Conference of Governmental and Industrial Hygienists* (ACGIH) menetapkan ambang batas (*Threshold Limit Value/TLV*) untuk formaldehid adalah 0,4 ppm. Sementara *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) merekomendasikan paparan limit untuk para pekerja adalah 0,016 ppm selama periode 8 jam, sedangkan untuk 15 menit, 0,1 ppm. Dalam *International Programme on Chemical Safety* (IPCS) disebutkan bahwa batas toleransi formaldehid yang dapat diterima tubuh dalam bentuk air minum adalah 0,1 mg per liter atau dalam satu hari asupan yang dibolehkan adalah 0,2 mg. Sementara formalin yang boleh masuk ke tubuh dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5 mg sampai 14 mg per hari. (Anonymous, 2005<sup>b</sup>). Menurut Widaya (2006<sup>a</sup>), batas aman kadar formalin di udara adalah 0,3%. Lebih dari itu, formalin disarankan tak terhirup paru-paru. Widaya (2006<sup>b</sup>) menambahkan dosis toksik formalin untuk inhalasi 20 ppm (batas keamanan tempat kerja 0,3ppm/0,37mg/m<sup>3</sup>) dan bila tertelan sebanyak 30 ml formalin 37% akan menyebabkan kematian.

Menurut Nurachman (2006), formaldehid dalam formalin tidak sereaktif formaldehid murni. Konsentrasi terendah formalin yang dapat mematikan manusia lewat pernafasan adalah 17 mg per meter kubik per 30 menit dan lewat mulut sebesar 108 mg per kilogram berat badan. Yuswanto (2006), menambahkan, penelitian WHO (*World Health Organization*) menyebutkan kadar formalin baru akan menimbulkan toksifikasi atau pengaruh negatif jika mencapai 6 gram.

## 2.8 Metabolisme Formalin

Proses metabolisme formalin yang masuk ke tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO<sub>2</sub> dan air seni dalam waktu 1,5 menit. Secara alami, setiap liter darah manusia mengandung formalin 3 mililiter. Sedangkan formalin yang masuk bersama makanan akan didegradasi menjadi CO<sub>2</sub> dan dibuang melalui alat pernafasan. Jadi meski formalin dikonsumsi dalam jangka waktu yang cukup lama, tidak akan terjadi proses akumulasi dan menyebabkan toksifikasi (Yuswanto, 2006). Menurut Judarwanto (2006), dalam jumlah yang sedikit, formalin akan larut dalam air serta akan dibuang ke luar bersama cairan tubuh, sehingga formalin sulit dideteksi keberadaannya dalam darah.

Formalin dalam bentuk uap diabsorpsi melalui saluran pernafasan yang selanjutnya dipecah menjadi *formate*. Formalin juga diabsorpsi melalui saluran pencernaan dan mengalami proses metabolisme yang sama dengan yang diabsorpsi melalui saluran pernafasan. Formalin diabsorpsi melalui kulit apabila kulit kontak langsung dengan formalin (Anonymous, 1999). Krishnan *and* Andersen (1994), menyatakan bahwa senyawa metabolit dari formaldehid diedarkan ke seluruh tubuh, tidak ada organ target tertentu yang menimbulkan efek toksik darinya, tetapi akan berikatan dengan makromolekul di dalam tubuh dan akan mengalami metabolisme dalam hati serta diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urine atau melalui saluran pernafasan dalam bentuk karbondioksida

Proses biotransformasi formaldehid dalam tubuh dapat melalui beberapa jalur. Proses biotransformasi ini dikatalis oleh enzim glutathione tripeptida (GSH), yang tersusun dari glisin, asam glukonat dan sistein. Konjugasi glutathione berlangsung dengan cara pengikatan karbon elektrofil yang terdapat pada formaldehid oleh gugus sulfhidril

nukleofil yang terdapat pada GSH. Enzim *Formaldehyde Dehydrogenase* (FDH) dan *S-Formil Glutathione Hydrolase* (SFGH) juga mengkatalisis perubahan formaldehid menjadi *formate* dan karbondioksida atau membentuk *Na-formate* untuk diekresikan melalui paru dan ginjal (Anonymous, 1999). Jalur metabolisme lainnya adalah formaldehid membentuk ikatan dengan *Tetrahydrofolate* (TH4). TH4 merupakan enzim kofaktor pada transfer karbon tunggal dalam berbagai proses oksidasi. Pada reaksi ini unit karbon tunggal dari formaldehid berikatan dengan atom N<sup>5</sup> atau N<sup>10</sup> dari *tetrahydrofolate* (Bolt, 1987).

Penelitian yang dilakukan oleh Heck., *et al*, (1983), dengan menggunakan tikus sebagai hewan uji yang dipapar dengan formaldehid diketahui bahwa 67% formaldehid dalam bentuk metabolit diekskresi melalui feses dan sebanyak 32% diekskresikan melalui paru dalam bentuk CO<sub>2</sub>. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Barry dan Tome (1991), yang menambahkan formaldehid juga diekskresikan melalui air susu kambing tersebut.

### 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan

##### 3.1.1 Bahan yang diuji

Bahan yang diuji adalah larutan formaldehid dengan konsentrasi 37% yang kemudian dicampurkan dalam ransum dengan jumlah yang berbeda sehingga akan menghasilkan ransum berformalin dengan konsentrasi yang berbeda. Formaldehid 37% ini diperoleh dari Panadia Malang.

##### 3.1.2 Bahan untuk ransum

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan ransum tikus ini meliputi: protein (kasein) yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta; Lemak (minyak jagung) merk "China corn oil" dari toko Candra Malang, diproduksi PT. Intiboga Sejahtera Jakarta; CMC (*Carboxyl Metyl Cellulose*) makanan diperoleh dari PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta; vitamin merk "Superviton" diperoleh dari apotek Sejati, Malang, diproduksi oleh PT. Kimia Farma Bandung; mineral *mix* diperoleh dari Panadia Malang, dan karbohidrat (tepung maizena) diperoleh dari toko Candra Malang, diproduksi oleh Honig Food importir Jakarta.

##### 3.1.3 Bahan untuk analisis kimia

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis meliputi bahan untuk uji proksimat, uji residu formalin dan analisis jaringan organ tikus wistar. Bahan kimia untuk analisis proksimat antara lain: petroleum benzene, kertas saring, aquades,  $H_2SO_4$  pekat,  $K_2S_2O_4$ ,  $HgO$ , indikator metil merah,  $NaOH$ ,  $HCl$  dan larutan  $K_2S$ . Bahan yang digunakan untuk

uji residu formalin yaitu, larutan 7,5% phenilhidrazin hidroklorida larutan 5% potasium ferrisianida, larutan 10% NaOH dan larutan 45% isopropil alkohol. Bahan yang digunakan untuk analisis organ yaitu, PBS (*Phosphat Buffer Sallin*) suhu 37°C pH 7,2, fiksatif bouin, alkohol (30, 50, 60, 90, 100%), alkohol : xilol dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, xilol : parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, xilol murni, parafin, *meyer's albumin*, *hematoxilin*, eosin, kertas filter, *canada balsam*, aquades, *horse serum*, *eagle's MEM*.

### 3.2 Peralatan

Alat yang digunakan untuk membuat ransum tikus antara lain timbangan, blender, baskom plastik, cetakan pelet, loyang, alat penggiling daging dan oven.

Alat yang digunakan untuk analisis proksimat seperti timbangan analitik, kertas saring, erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, buret, mortar, rangkaian alat destruksi, pipet volume 25 ml, statif, bola hisap, spatula, labu destruksi, labu destilasi, peralatan untuk ekstraksi lemak (*goldfish*), oven, botol timbang, kurs porselein dan desikator.

Alat yang digunakan untuk uji residu formalin meliputi mortar/blender, labu Kjeldahl, tabung reaksi, kuvet, spektrofotometer merk *Genesis 20* atau spektronik 20 buatan Jerman dengan panjang gelombang 520 nm, pipet volume 0,5 ml, gelas ukur 25 dan 250 ml.

Alat yang digunakan untuk analisis jaringan organ yaitu, beaker glass 100 ml, batang pengaduk labu ukur 100 ml dan 10 ml, mikrotom putar AO 820, mikroskop monoisoler Euromex type 3402, mikros fotomikrografi Nikon 300, mikrometer okuler dan obyektif, neraca digital elektrik (sartorius), gelas pewarnaan, hot plate, dissection set.

### 3.3 Tikus Percobaan dan Peralatannya

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*), dimana bersifat omnivore (pemakan segala), mempunyai jaringan yang hampir sama dengan manusia serta kebutuhan zat gizinya serupa dengan manusia. Tikus strain ini pertama kali dikembangkan oleh *Weistar Institut of Biology and Anatomy*, secara luas digunakan untuk penelitian laboratorium. Ukuran tubuhnya lebih kecil daripada tikus Spraque-Dowley dan sangat mudah menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Sifatnya sangat jinak asalkan tidak diganggu (Astuti, 1986).

Tikus putih Wistar (*Rattus norvegicus*) yang digunakan berjenis kelamin jantan yang berumur 28 hari dengan berat ( $59,25 \pm 4,78$ ) gram, yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Alat yang digunakan untuk pemeliharaan tikus terdiri dari kandang berupa box yang terbuat dari plat tembaga. Didalamnya terdapat sekat yang membagi menjadi lima bagian (ukuran per bagian untuk panjang x lebar x tinggi = 12,5 cm x 20 cm x 15 cm) dengan tutup dibagian atas dan nampan penampung sisa pakan dibagian bawahnya, serta dilengkapi dengan wadah ransum dan botol minum. Wadah ransum yang digunakan adalah wadah pakan burung dan diletakkan dalam tiap-tiap kandang dengan menggunakan kawat sebagai pengaitnya. Botol minum terbuat dari bahan gelas yang pada bagian mulutnya disumbat karet dilengkapi dengan pipa kaca sebagai sedotan dibagian tengahnya. Setiap box didalamnya terbagi menjadi lima sekat kandang, diletakkan berjajar diatas rak besi bertingkat empat dimana dalam setiap lorong tingkatan rak terdapat delapan box kandang. Timbangan analitik juga dipakai dalam pemeliharaan tikus percobaan guna mengetahui berat badan tikus dan sisa ransum.



### 3.4 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Menurut Nazir (1989), tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberi perlakuan-perlakuan tertentu pada kelompok percobaan. Pada penelitian ini dilakukan pengujian tentang pengaruh konsumsi ransum berformalin dengan konsentrasi 0%; 0,3%; 0,6%; 0,9%; dan 1,2% terhadap pertumbuhan dan organ dalam tikus wistar selama 1 dan 2 bulan. Penelitian ini dirancang dengan menggunakan dua faktor, yang terdiri dari faktor pertama adalah lamanya konsumsi ransum berformalin yaitu selama satu (A1) dan dua (A2) bulan, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi formalin tiap 100 gram ransum, yaitu: (B1). 0%; (B2). 0,3%; (B3). 0,6%; (B4) 0,9%; dan (B5). 1,2%, sehingga diperoleh perlakuan kombinasi =  $2 \times 5 = 10$  perlakuan dan dengan ulangan 3 kali. Secara skematis seperti tabel berikut:

Tabel 4. Denah rancangan faktor perlakuan

Faktor		Ulangan			Rerata
A	B	I	II	III	
A1	B1				
	B2				
	B3				
	B4				
	B5				
A2	B1				
	B2				
	B3				
	B4				
	B5				

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Menurut Yitnosumarto (1993), RAL faktorial dengan pengumpulan data yang dinyatakan sebagai rumus berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :  $Y_{ijk}$  = nilai pengamatan  
 $\mu$  = nilai tengah umum  
 $\alpha_i$  = pengaruh faktor pertama level ke- $i$   
 $\beta_j$  = pengaruh faktor kedua level ke- $j$   
 $(\alpha\beta)_{ij}$  = interaksi faktor pertama dan kedua  
 $\varepsilon_{ijk}$  = galat percobaan faktor pertama, kedua dan ulangan

### 3.4.1 Prosedur penelitian

#### 3.4.1.1 Pembuatan ransum pada tikus percobaan

Pada penelitian ini terdapat 2 macam ransum tikus percobaan, yaitu ransum standar dan ransum perlakuan. Komposisi ransum standar yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti ransum standar *National Research Council* (NRC) (1978). Ransum perlakuan dibuat dengan menambahkan formalin dalam jumlah yang berbeda sehingga menghasilkan ransum berformalin dengan konsentrasi yang berbeda.

Tabel 5. Komposisi ransum standar tikus percobaan\*

Bahan	Komposisi (%)
Kasein	20
Minyak jagung	5
CMC makanan	5
Mineral <i>mix</i> <sup>1</sup>	4
Vitamin <i>mix</i> <sup>2</sup>	1
Air	5
Tepung maizena	60

Keterangan: <sup>1</sup>) Lampiran 1 <sup>2</sup>) Lampiran 2

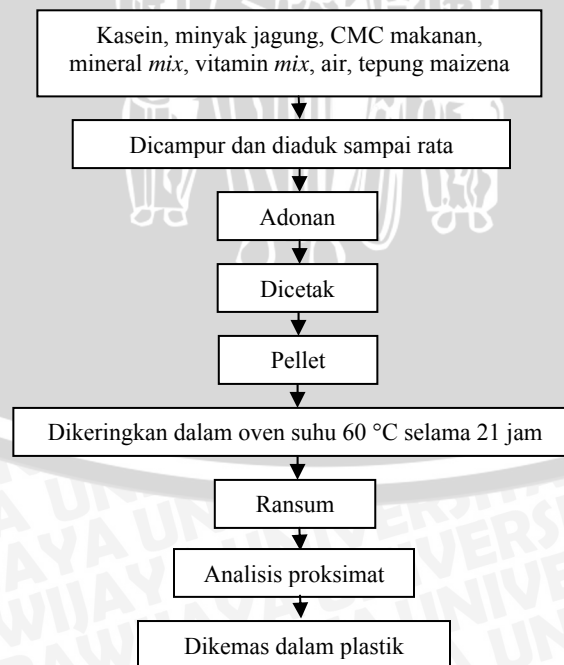
\*) *National Research Council* (NRC), 1978

Tabel 6. Jumlah formalin yang ditambahkan pada 100 gram pakan (ransum perlakuan)<sup>3</sup>

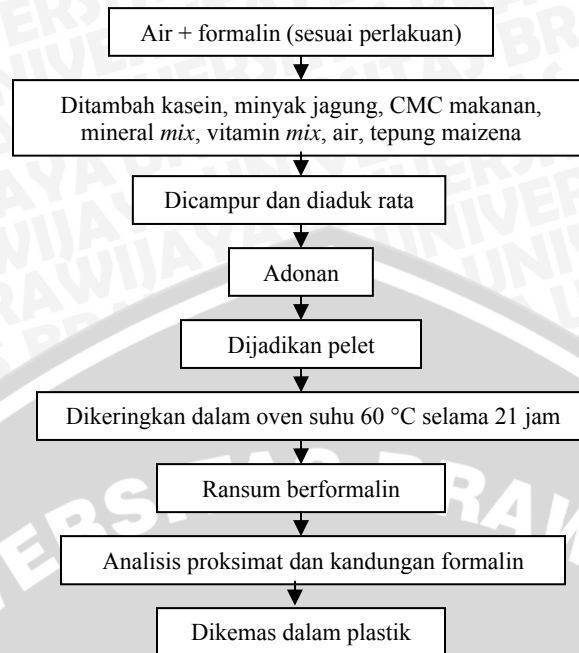
Konsentrasi formalin dalam pakan (%)	Jumlah formalin yang ditambahkan (g)
0	0
0,3	0,82
0,6	1,65
0,9	2,49
1,2	3,35

Keterangan : <sup>3</sup>) Lampiran 3

Menurut Susanti (2004), cara pembuatan ransum standar adalah dengan mencampur semua bahan (kasein, minyak jagung, CMC makanan, mineral *mix*, vitamin *mix*, air dan tepung maizena) dalam satu wadah dan diaduk sampai rata hingga membentuk adonan. Adonan tersebut dicetak dalam bentuk pellet, kemudian dikeringkan dalam oven 60 °C selama 21 jam. Kemudian dikemas dalam plastik dan disimpan pada suhu kamar. Prosedur pembuatan ransum standar dan ransum perlakuan dapat dilihat secara berurutan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Prosedur pembuatan ransum standar (Susanti, 2004)



Gambar 3. Prosedur pembuatan ransum perlakuan

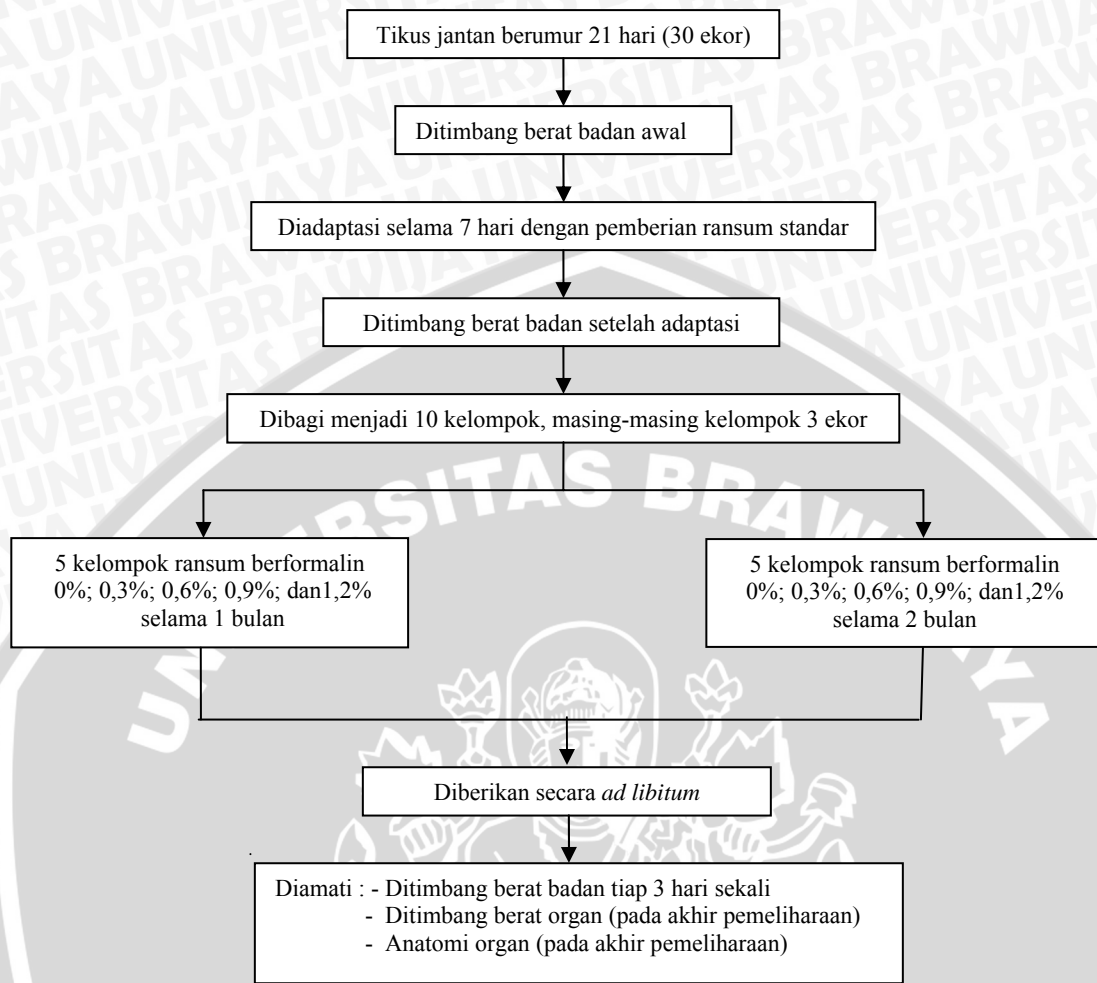
#### 3.4.1.2 Pemberian ransum dan minum pada tikus

Tikus yang dipelihara pada penelitian ini diberi makan secara *ad libitum*, yaitu diberi kebebasan untuk makan dan minum sesuai dengan keinginannya. Untuk mengetahui jumlah ransum yang dikonsumsi ditentukan dari selisih berat awal dengan sisa ransum. Ransum yang diberikan berbentuk pelet berwarna krem kecoklatan, ransum ini diberikan pada tikus 1 kali dalam sehari setiap jam 9 pagi. Sebelum diberikan, ransum ditimbang terlebih dahulu dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak  $\pm 12,5$  g. Kemudian ransum dimasukkan dalam wadah pada setiap kandang. Untuk minum tidak diberikan takaran akan banyaknya air yang diminum, karena banyaknya air minum yang dikonsumsi tikus tidak dijadikan parameter uji dalam penelitian. Air minum diambil langsung dari air kran PDAM yang diisikan ke dalam dot atau botol gelas 100 ml dan diberikan pada tikus, minum ini akan diisi ulang apabila air dalam dot atau botol minum hampir habis.

### 3.4.1.3 Pelaksanaan percobaan

Secara garis besar prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 4. Mula-mula tikus putih jantan berumur 21 hari diadaptasi selama 7 hari dengan lingkungan pemeliharaan dengan cara menempatkan setiap tikus dalam kandangnya (dikandangkan secara individu) dengan kondisi kandang sebagai berikut: cukup cahaya, ventilasi udara didalam kandang cukup dan suhu udara pada suhu kamar. Tujuan tikus dikandangkan secara individu dan tertutup adalah agar tikus tidak terpengaruh atau terganggu dengan tikus yang lain dan agar lebih mudah untuk mengontrol kebutuhan ransum dan air minum. Tujuan dari tikus diadaptasi selama 7 hari adalah untuk penyesuaian dengan lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badannya, serta menyeragamkan makanannya (Wikanta *et al.*, 2003). Pada saat adaptasi, tikus diberi makan ransum standar dan minum secara *ad libitum*, yaitu diberi kebebasan untuk makan dan minum sesuai dengan keinginannya. Pemberian ransum tikus setiap harinya menurut Wasito (1991/1992) dihitung berdasarkan lima persen dari berat badannya. Kemudian tikus ditimbang berat badannya sebagai berat setelah adaptasi.

Setelah berumur 28 hari, tikus diambil secara acak dan dibagi menjadi dua kelompok dimana kelompok satu merupakan kelompok tikus yang diberi ransum berformalin (0%; 0,3%; 0,6%; 0,9%; dan 1,2%) selama satu bulan. Kelompok dua merupakan kelompok tikus yang diberi ransum berformalin dengan persentase yang sama selama dua bulan. Untuk mengetahui perubahan berat badan tikus dilakukan penimbangan setiap tiga hari. Pada akhir pemeliharaan dilakukan pembedahan untuk diamati berat dan kondisi tiap organ hati, ginjal, dan limpa untuk mengetahui pengaruh konsumsi formalin. Prosedur kerja penelitian disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Prosedur Kerja Penelitian

### 3.4.2 Parameter uji

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini meliputi: (a). analisis proksimat dan uji residu formalin pada ransum, (b). penghitungan jumlah ransum yang dikonsumsi per hari, (c). penimbangan berat badan tiap 3 hari sekali, dan (d). anatomi jaringan organ (hati, ginjal dan limpa) pada akhir pemeliharaan.

### 3.5 Prosedur Pengujian Parameter Uji

#### 3.5.1 Kadar air metode thermogravimetri (Sudarmadji, *et al.*, 1997)

Tujuan analisis kadar air pada ransum adalah untuk mengetahui kadar air bebas pada ransum tikus. Prinsip penentuan kadar air adalah menguapkan air di dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Prosedur analisis kadar air adalah: sampel sebanyak  $\pm 2$  gram dimasukkan dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Lalu dioven semalam pada suhu  $100-105^{\circ}\text{C}$ . Kemudian sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Penimbangan dilakukan setiap dua jam sampai tercapai berat konstan (berat akhir) dimana selisih penimbangannya berturut-turut  $0,0002$  gram.

Perhitungan :

$$wb \text{ (wet basis)} = \frac{\text{berat sampel awal} + \text{berat botol timbang} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

$$db \text{ (dry basis)} = \frac{\text{berat sampel awal} - (\text{berat akhir} - \text{berat botol timbang})}{\text{berat akhir} - \text{berat botol timbang}} \times 100\%$$

Dimana : wb = perhitungan kadar air berdasarkan berat basah

db = perhitungan kadar air berdasarkan berat kering

Hasil analisis kadar air dalam ransum dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

#### 3.5.2 Kadar protein metode Kjeldahl (Sudarmadji, *et al.*, 1997)

Tujuan analisis kadar protein pada ransum adalah untuk mengetahui kadar protein ransum. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar protein adalah metode makro *Kjeldahl*. Prinsip dari metode ini adalah penentuan protein berdasarkan oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia. Selanjutnya amonia

bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Larutan dibuat menjadi basa, dan amonia diuapkan untuk kemudian diserap dalam larutan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan HCl 0,02N (Apriyantono, *et al.*, 1989). Menurut Sudarmadji, *et al.*, (1997) prosedur penentuan kadar protein dengan menggunakan metode makro Kjeldahl adalah sebagai berikut:

- Timbang 1 g bahan dan masukkan dalam labu Kjeldahl. Kemudian tambahkan 7,5 g  $K_2S_2O_8$ , 0,35 g HgO dan 15 ml  $H_2SO_4$  pekat. Panaskan semua bahan dalam labu Kjeldahl dalam lemari asam sampai mendidih dan cairan jernih. Teruskan pemanasan tambahan lebih kurang 1 jam. Matikan api pemanas dan biarkan menjadi dingin. Kemudian tambahkan 100 ml aquades dalam labu Kjeldahl dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 ml larutan  $K_2S$  4 % dan akhirnya tambahkan perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 ml. Pasanglah labu Kjeldahl dengan segera pada alat destilasi.
- Panaskan labu Kjeldahl perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian panaskan dengan cepat sampai mendidih.
- Destilat ini ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standar HCl 0,1 N dan 5 tetes indikator metil merah. Lakukan destilasi sampai destilat yang tertampung sebanyak 75 ml.
- Titrasi destilat yang diperoleh dengan standar NaOH (0,1 N) sampai warna kuning.
- Buatlah juga larutan blanko dengan mengganti bahan dengan aquades, lakukan destruksi, destilasi dan titrasi seperti pada sampel.



– Perhitungan :

$$\% \text{ kadar N} = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH sampel})}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100 \times 14,008$$

Hasil analisis kadar protein dalam ransum dapat dilihat pada Tabel 7.

### 3.5.3 Kadar lemak metode Goldfisch (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Tujuan dari analisis kadar lemak adalah untuk mengetahui kandungan lemak atau minyak suatu sampel. Caranya dengan mengekstraksi minyak dengan pelarut organik non polar seperti petroleum ether (PE). Lemak yang dipisahkan dapat diketahui beratnya setelah pelarut diuapkan atau tidak secara langsung dengan menimbang sisa sampel yang tidak terekstraksi. Tujuan dari analisis kadar lemak adalah menentukan kadar lemak yang terdapat dalam ransum yang diberikan.

Prosedur kerja analisis kadar lemak adalah sebagai berikut: Sampel kering sebanyak 5 gram dibungkus dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya dan dimasukkan dalam thimble lalu dipasang pada gelas penyangga yang berada tepat dibawah kondensor alat destilasi Goldfisch. Selanjutnya petroleum ether sebagai pelarut dimasukkan dalam gelas piala dan dipasang pada kondensor kemudian air pendingin pada kondensor dialirkan dan pemanas diangkat sampai menyentuh gelas piala. Suhu pemanas 40° C. Ekstraksi ini dilakukan selama 3-4 jam. Setelah ekstraksi selesai, sampel dalam thimble diambil dan dilakukan pengeringan dalam oven pada suhu 100°C sampai konstan. Berat residu (hasil ekstraksi) dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak. Perhitungan kadar lemak sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar lemak} = \frac{(\text{berat sampel} + \text{berat kertas saring}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100 \%$$

Hasil analisis kadar lemak dalam ransum dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

### 3.5.4 Kadar abu (Sudarmadji, *et al.*, 1997)

Tujuan analisis kadar abu pada ransum adalah untuk mengetahui kadar abu ransum. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar abu adalah metode Pemanasan (pengeringan secara langsung). Prinsip dari metode ini adalah sampel dipanaskan pada suhu 650°C, maka akan terjadi abu yang berwarna putih (Murachman *et al.*, 1980). Menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) penentuan kadar abu dengan menggunakan metode pemanasan adalah sebagai berikut :

Timbang 2 g sampel dalam kurs porselen yang telah kering dan telah diketahui beratnya, kemudian pijarkan dalam muffle sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan dengan suhu (550-660) °C. Masukkan kurs yang berisi abu ke dalam desikator dan ditimbang kadar abu setelah dingin. Perhitungan kadar abu sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat kurs porselen}}{\text{berat sampel kering (gram)}} \times 100 \%$$

Hasil analisis kadar abu dalam ransum dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

### 3.5.5 Kadar karbohidrat (Winarno, 1988)

Tujuan analisis kadar karbohidrat adalah untuk mengetahui kadar karbohidrat ransum standar dan perlakuan sehingga diharapkan tikus mendapat asupan gizi dan kalori yang sesuai. Kadar karbohidrat ditentukan sebagai karbohidrat *by difference*. Karbohidrat *by difference* diperhitungkan sebagai 100 persen dikurangi kadar protein, kadar lemak, kadar air, dan kadar abu. Menurut Winarno (1988), ada beberapa cara

analisis yang dapat digunakan untuk memperkirakan kandungan karbohidrat dalam bahan makanan, yang paling mudah adalah dengan cara perhitungan kasar (*proximat analysis*) atau juga disebut *Carbohydrat by Difference*. Ditambahkan bahwa yang dimaksud *proximat analysis* adalah suatu analisis dimana kandungan karbohidrat termasuk serat kasar bukan melalui analisis tetapi melalui perhitungan:

$$\% \text{ karbohidrat} = 100\% - \% (\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

Hasil analisis kadar karbohidrat dalam ransum dapat dilihat pada Tabel 7.

### 3.5.6 Jumlah ransum yang dikonsumsi dan berat badan tikus

Tujuannya yaitu untuk mengetahui jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tikus setiap harinya dan untuk mengetahui penambahan ataupun penurunan berat badan tikus selama perlakuan. Prinsip pemberian ransum adalah berdasarkan prosentase berat badan. Menurut Wasito (1992), konsumsi ransum untuk tikus adalah 5% dari berat badan tikus. Ransum diberikan pada tikus secara *ad libitum* (bebas makan). Jumlah ransum yang dikonsumsi dapat diketahui dengan menghitung selisih ransum yang diberikan dengan sisa ransum. Sisa ransum ditimbang setiap hari dimana sebelum ditimbang, sisa ransum tersebut dikeringkan di bawah sinar matahari selama satu hari.

Perubahan berat badan tikus dapat diketahui dengan menimbang tikus menggunakan timbangan digital “Mettler Toledo” dengan kapasitas maksimum 210 g dan minimum 0,01 g. Menimbang tikus, prinsipnya adalah tikus dipegang pada bagian dada, telunjuk dan ibu jari diletakkan dibawah rahang, masukkan ke dalam timbangan dan catat beratnya (Astuti, 1986). Berat badan tikus dihitung tiap 3 hari sekali dengan menggunakan timbangan analitik sebelum tikus diberi makan. Data jumlah ransum yang

dikonsumsi dan berat badan tikus secara berurutan dapat dilihat dengan jelas pada Lampiran 5,6,9 dan 10.

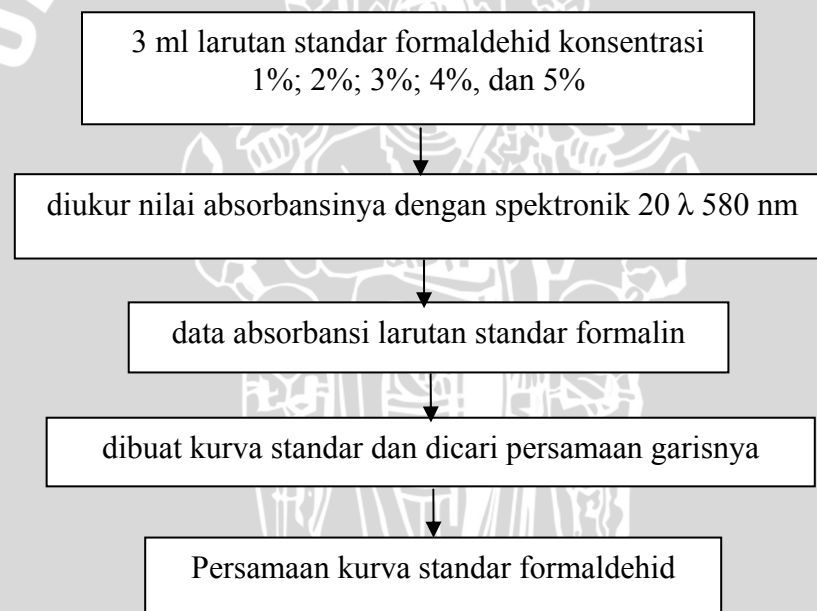
### 3.5.7 Analisis formalin terhadap ransum perlakuan (Barbour *and* Packers, 1962)

Tujuan analisis kadar formalin pada ransum adalah untuk mengetahui apakah konsentrasi formalin pada ransum yang akan dikonsumsi oleh tikus sesuai dengan kisaran residu formalin pada produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%). Langkah awal yang dilakukan mengekstraksi sampel yaitu mencampur 20g sampel dengan 45% isopropil alkohol sampai volumenya 250 ml, kemudian diblender selama 2 menit disentrifuse dengan kecepatan 250 rpm lalu disaring dengan kertas saring. Prosedur pengujiannya adalah 0,5 ml larutan sampel dimasukkan tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml isopropil alkohol 45%. Lalu ditambahkan 0,5 ml phenilhidrazin hidroklorida dan biarkan selama 10 menit. Setelah itu tambahkan 0,3 potasium ferisianida, biarkan selama 5 menit. Tambahkan 2 ml larutan NaOH dan diamkan selama 4 menit. Selanjutnya diencerkan sampai 20 ml dengan 45% isopropil alkohol dalam tabung reaksi kemudian diencerkan dengan aquades sampai volumenya 25 ml. Setelah 10 menit, dari pengenceran awal (pengenceran 20 ml) larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm terhadap blanko reagen. Penentuan kuantitatif formalin dengan cara membandingkan kurva standart absorbansi formaldehid, yang dilakukan menurut metode Sastrohamidjodo (1992) sebagai berikut:

1. Membuat larutan formaldehid 1%; 2%; 3%; 4%, dan 5% dari larutan formaldehid 37% dengan perhitungan  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ . Berdasarkan perhitungan pada pembuatan kurva standart, yang diukur adalah kadar formaldehid dalam produk.

Untuk mengembalikan ke kadar formalin dalam produk yaitu dengan mengalikan konsentrasi formaldehid dengan 37%. Sebagai contoh kadar formaldehid 0,0729% maka kadar formalinnya =  $0,0729 \times 37\% = 0,027\%$

2. Ukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrometri dengan panjang gelombang 580 nm.
3. Buat kurva dari nilai-nilai absorbansi yang diperoleh, hingga didapatkan persamaan garis liniernya. Persamaan regresi kurva kalibrasi formaldehid dapat dilihat pada Lampiran 4. Skema kerja pembuatan kurva standar formaldehid dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Prosedur pembuatan kurva standar formaldehid (Sastrohamidjodo, 1992)

### 3.5.8 Analisis organ ( Soentoro, 1983)

Tujuan analisis organ tikus wistar adalah untuk mengetahui pengaruh konsumsi ransum berformalin terhadap kesehatan, khususnya organ dalam tikus wistar (hati, ginjal dan limpa). Tikus dibunuh dengan pemotongan vena jugularis (pembuluh darah) di leher dan dibedah pada bagian perut dengan menggunakan gunting dan pinset. Organ hati, ginjal dan limpa diambil dan ditimbang bertanya dengan menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan ke dalam botol organ yang telah berisi formalin 10%. Untuk analisa jaringan, organ-organ tersebut dimasukkan dalam PBS, dipotong kecil-kecil  $0,5 \text{ cm}^3$  dan dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali. Potongan organ dimasukkan cawan petri yang berisi larutan Eagle's MEM yang telah dicampur horse serum (dengan membandingkan konsentrasi horse serum 5% dari Eagle's MEM). Selanjutnya masuk tahapan metode parafin, yaitu:

- Fiksasi dengan merendam organ dalam larutan Bouin selama 24 jam
- Pencucian dengan menggunakan alkohol 50% untuk menghilangkan sisa-sisa bahan fiksatif
- Dehidrasi dilakukan dengan merendam organ dalam alkohol dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi ( alkohol 50, 70, 90, 95 dan 100%) untuk menghilangkan air dalam organ
- Penjernihan dilakukan dengan merendam organ dalam larutan alkohol : xilol dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3 dan kemudian dalam xilol murni. Proses ini berfungsi untuk menghilangkan sisa-sisa dehidron

- Infiltrasi dilakukan dengan merendam organ dalam larutan xilol : parafin (parafin 42°C - 62 °C) dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, kemudian dalam parafin murni untuk mengisi rongga-rongga dalam organ
- Embedding dilakukan dengan memasukkan organ dalam parafin keras (56-58 °C) untuk menyelubungi organ dan mempermudah dalam pengirisan
- Pengirisan dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5-6 µm. Hasil pengirisan berupa pita-pita yang berisi jaringan
- Penempelan dilakukan dengan menempelkan pita-pita jaringan pada kaca preparasi dengan menggunakan perekat Meyer's – Albumin, kemudian dipanaskan diatas hot plate dengan suhu 10 °C
- Deparafinasi dilakukan dengan merendam preparat dalam xylol untuk menghilangkan sisa-sisa parafin dalam jaringan
- Pewarnaan dilakukan secara simultan dengan menggunakan hematoxilin – eosin untuk mengetahui struktur/bentuk sel apakah terjadi perubahan atau tidak
- Penutupan preparat yang selesai diwarnai lalu ditutup dengan kaca penutup menggunakan perekat entellan
- Pengamatan di bawah mikroskop cahaya binokuler perbesaran 400X

Hasil analisis organ hati, ginjal dan limpa tikus dapat dilihat secara berurutan pada Tabel 11, 13, dan 15.

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur)

yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang terjadi diantara faktor perlakuan yang digunakan beserta interaksinya dengan menggunakan SPSS versi 13.0.





## 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Komposisi Gizi Ransum

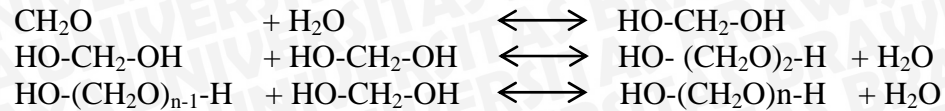
Tujuan analisis ransum, baik ransum standar maupun ransum perlakuan adalah untuk mengetahui jumlah komposisi gizi yang terdapat dalam setiap ransum yang berfungsi sebagai zat nutrisi (protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral) yang dapat menunjang pertumbuhan. Hasil analisis proksimat ransum tikus dapat dilihat dalam Tabel 7.

Tabel 7. Komposisi gizi ransum standar dan perlakuan (%)

Parameter Uji	Konsentrasi formalin (%)				
	0 (kontrol)	0,3	0,6	0,9	1,2
Protein	21,99±0,10	21,49±0,36	20,76±0,43	21,01±0,73	20,42±0,01
Lemak	4,98±0,21	4,68±0,05	4,21±0,11	4,44±0,09	4,20±0,10
Air	10,13±0,06	10,70±0,20	11,13±0,58	12,46±0,01	13,15±0,19
Abu	3,49±0,11	3,08±0,04	3,11±0,15	3,03±0,08	3,07±0,04
Karbohidrat <i>by difference</i>	59,41±0,37	59,81±0,55	60,70±0,98	58,32±0,73	58,15±0,35

Keterangan : ulangan = 2

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa proporsi zat gizi ransum untuk tikus perlakuan tidak berbeda jauh dengan ransum untuk tikus kontrol. Penambahan formalin pada ransum ternyata tidak mengubah komposisi gizinya. Pada hasil analisis tersebut menunjukkan perbedaan yang menonjol pada kadar airnya. Kadar air mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi formalin dalam ransum. Menurut Kiernan (2000), formalin mengandung 37%-40% formaldehid dan 60%-63% air. Small (2004) menambahkan bahwa reaksi antara formaldehid dan air akan menghasilkan metilen glikol selanjutnya dapat berpolimerisasi membentuk polioksimetilen dan air. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada reaksi berikut :



Pembentukan air pada reaksi tersebut menyebabkan semakin tingginya kadar air seiring dengan peningkatan jumlah formalin yang ditambahkan pada pakan perlakuan

#### 4.2 Konsentrasi Formalin Ransum

Formaldehid merupakan gas yang tidak berwarna dan berbau sangat menyengat, sangat larut dalam air dan memiliki titik didih  $-21^\circ\text{C}$  sehingga mudah menguap (Tox probe, 2006). Pemanasan seperti pada proses pengeringan ransum pakan dalam oven bersuhu  $60^\circ\text{C}$  selama 21 jam dapat menguapkan formalin sehingga dapat menurunkan konsentrasinya.

Analisis kuantitatif formalin pada ransum perlakuan dilakukan untuk mengetahui kandungan formalinnya yang akan diberikan ke tikus percobaan. Hasil analisis kuantitatif formalin pada ransum pakan dan penurunannya dapat dilihat pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Kandungan formalin pada ransum perlakuan (%)

Jenis ransum perlakuan	Parameter uji	
	Konsentrasi formaldehid (%)	Konsentrasi formalin (%)
0,3%	0,6844	0,2532
0,6%	1,3649	0,5050
0,9%	2,0495	0,7583
1,2%	2,7542	1,0190

Keterangan : ulangan = 2

Tabel 9. Hasil analisis formalin dan penurunannya setelah menjadi ransum

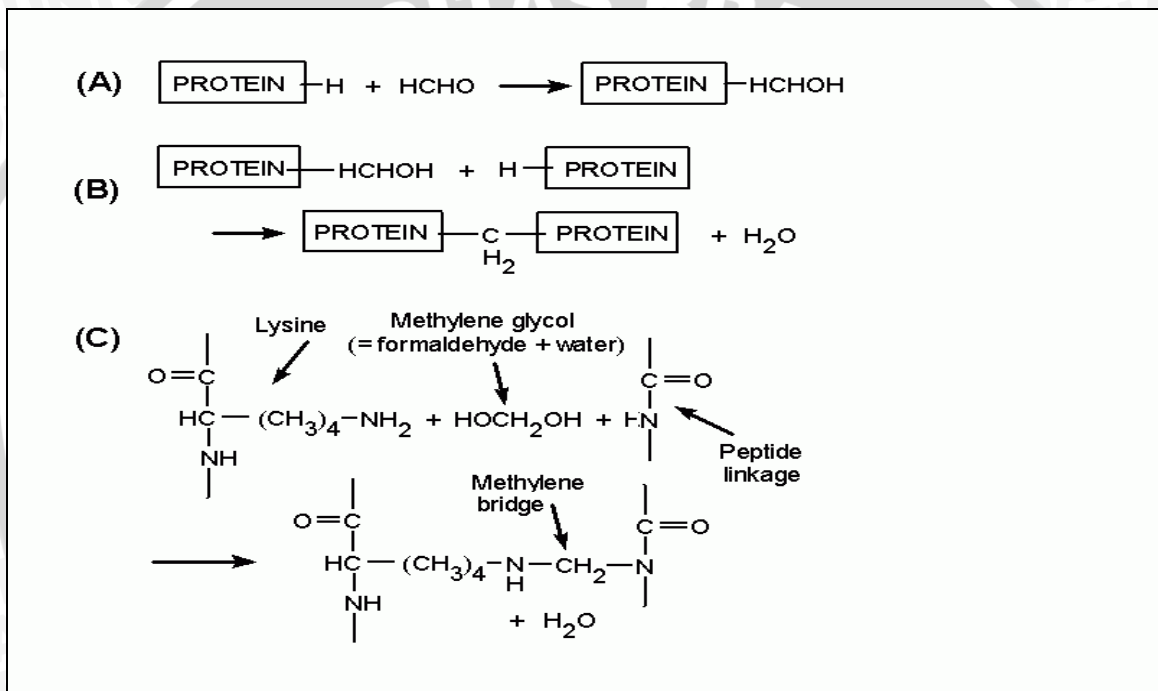
Jenis ransum perlakuan	Konsentrasi formalin awal (%)	Konsentrasi formalin ransum (%)	Penurunan konsentrasi formalin (%)*
Kontrol	0	0	0
0,3%	0,3000	0,2532	15,6000
0,6%	0,6000	0,5050	15,8333
0,9%	0,9000	0,7583	15,7444
1,2%	1,2000	1,0190	15,0833

Keterangan : ulangan = 2

$$* = \frac{\text{konsentrasi formalin awal} - \text{konsentrasi formalin ransum}}{\text{konsentrasi formalin awal}} \times 100\%$$

Dari hasil analisis formalin pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa konsentrasi formalin pada ransum masih berada diantara kisaran residunya pada produk perikanan di pasaran yaitu 0,2%-1,3%, dimana konsentrasi terendah terdapat pada perlakuan 0,3% (0,6844%) dan konsentrasi tertinggi terdapat pada perlakuan 1,2% (2,7542%). Sehingga semakin tinggi konsentrasi formalin yang ditambahkan dalam ransum maka semakin tinggi pula konsentrasi formalin pakannya. Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa proses pengeringan dengan oven pada suhu 60°C dapat menurunkan konsentrasi formalin tetapi tidak dapat menghilangkan residu formalin seluruhnya, dimana penurunannya hanya sekitar 15%. Hal ini dikarenakan, jika formaldehid dalam bentuk larutan seperti formalin, titik didihnya meningkat menjadi 96°C (Instanref, 2006), karena terjadi pemutusan ikatan rangkap C=O ketika formaldehid bereaksi dengan air sehingga dapat menaikkan titik didihnya. Menurut Casanova-Schimitz *et al*, (1984) formaldehid memiliki gugus karbonil, dimana atom karbonnya bermuatan negatif sehingga atom karbon dari formaldehid bersifat elektrofil (cenderung menarik elektron). Adanya gugus karbonil yang bersifat elektrofil membuat molekul tersebut mudah bereaksi dengan struktur molekul yang memiliki kelebihan elektron (nukleofil). Molekul yang memiliki

struktur nukleofil banyak terdapat dalam komponen tubuh organisme antara lain asam nukleat, RNA dan DNA, hal ini menyebabkan formaldehid mudah membentuk ikatan dengan protein. Ditambahkan oleh Kiernan (2000) bahwa gugus aldehid pada formaldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom karbon pada protein membentuk ikatan silang  $-CH_2-$  yang dinamakan jembatan metilen. Reaksi antara formaldehid dan protein untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi formaldehid dengan protein (Kiernan, 2006)

Pada Gambar 6, (A) merupakan reaksi penambahan formaldehid pada protein. (B) reaksi formaldehid dengan molekul protein yang lain membentuk ikatan silang metilen dan (C) menjelaskan lebih detail tentang ikatan silang rantai samping dari lisin dengan atom nitrogen dari peptida. Berdasarkan hal tersebut menjelaskan bahwa sebagian dari formalin yang tidak hilang pada proses pengeringan dengan oven disebabkan karena formaldehid telah berikatan dengan protein yang ada dalam kasein ransum.

### 4.3 Pengaruh Konsumsi Ransum Berformalin Terhadap Jumlah Konsumsi Ransum dan Berat Badan Tikus

#### 4.3.1 Jumlah konsumsi ransum

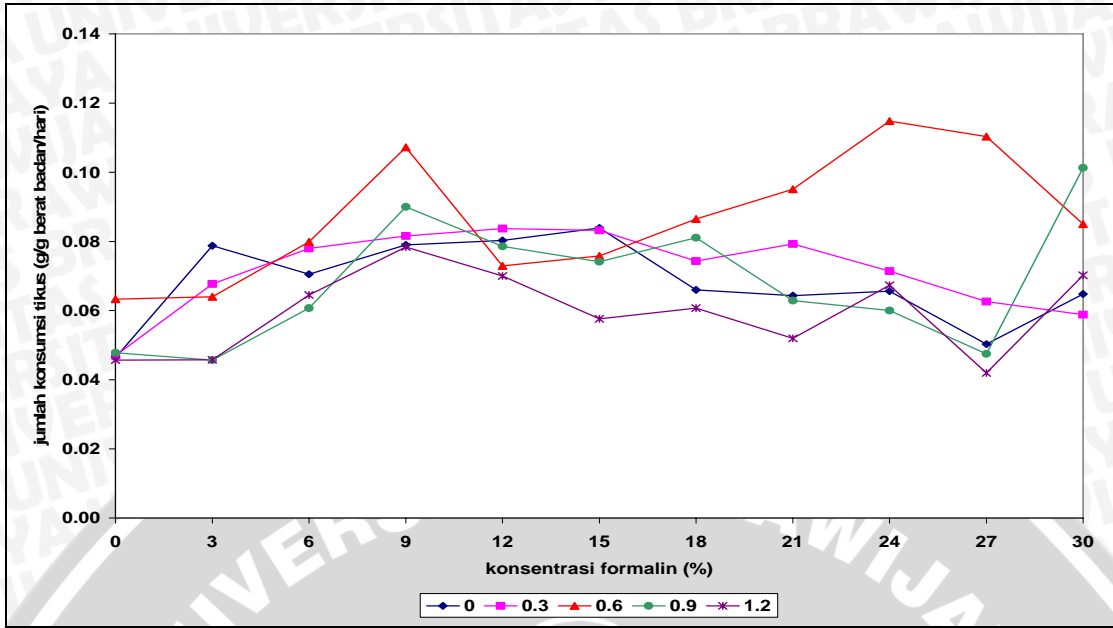
Ransum yang dikonsumsi tikus percobaan berbentuk pelet dan diberikan secara *ad libitum* (bebas makan) selama 30 hari untuk kelompok tikus perlakuan 1 bulan dan 60 hari untuk kelompok tikus perlakuan 2 bulan. Jumlah ransum yang dikonsumsi tikus dapat diketahui dengan menghitung selisih antara ransum yang diberikan dengan sisa ransum yang dimakan oleh tikus. Penghitungan jumlah ransum yang dikonsumsi tikus dihitung setiap hari selama pemeliharaan. Jumlah konsumsi ransum tikus (g/g berat badan) dapat dihitung dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Jumlah konsumsi pakan tikus (g/g berat badan/hari)} = \frac{Wp}{Wb}$$

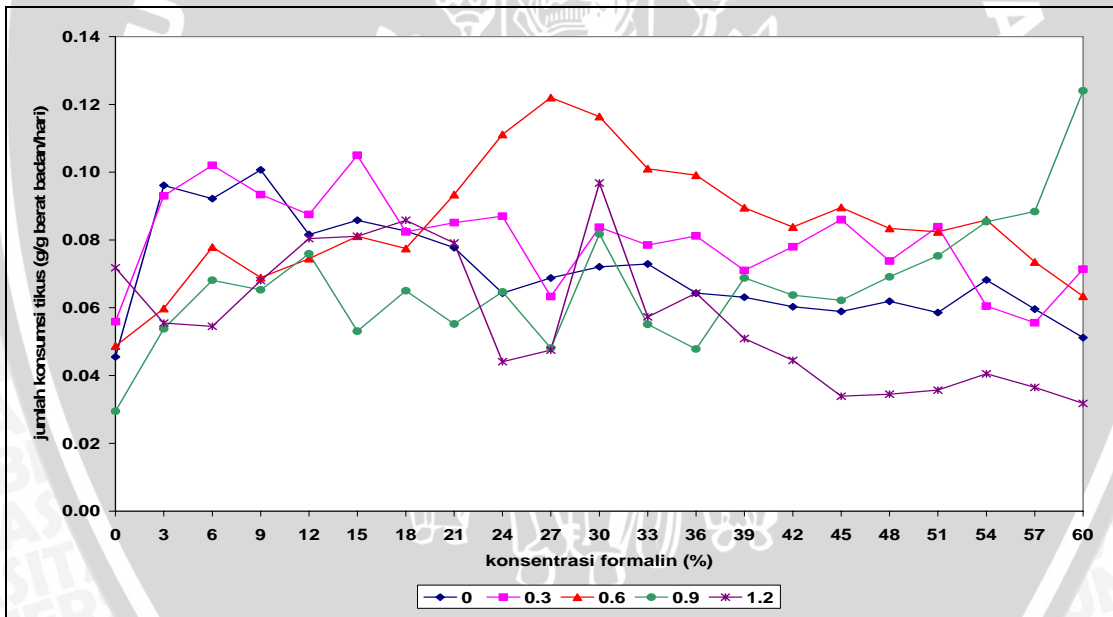
Ket :  $Wp$  = Jumlah pakan yang dikonsumsi oleh tikus (g)

$Wb$  = Berat badan tikus (g)

Data jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tikus dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 7 dan 8. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 7.



(A)



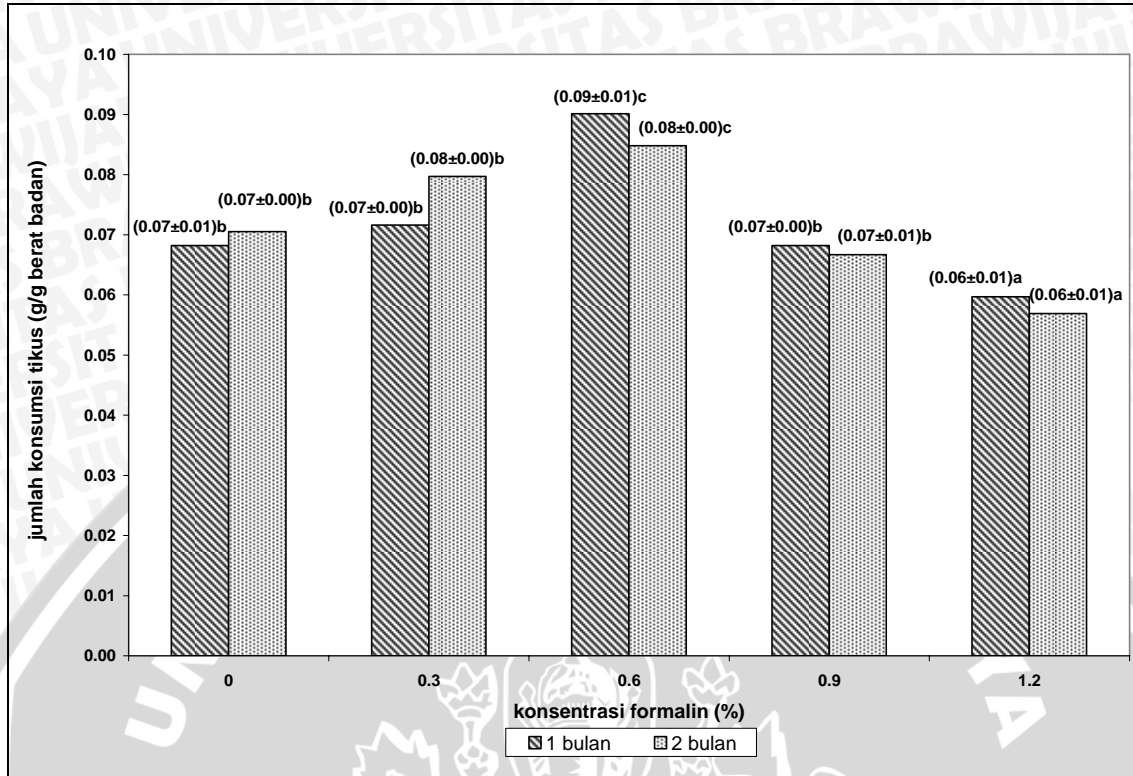
(B)

Gambar 7. Grafik jumlah konsumsi ransum selama 1 bulan (A) dan 2 bulan (B).

Berdasarkan Gambar 7, dapat diketahui bahwa jumlah konsumsi tikus perlakuan, terutama konsentrasi 1,2% lebih sedikit dan cenderung menurun seiring dengan besarnya konsentrasi formalin dalam ransum dibandingkan dengan tikus kontrol baik pada perlakuan 1 bulan maupun 2 bulan. Penurunan ini disebabkan karena tikus tidak mau

memakan ransum perlakuan yang diberikan seperti pada kontrol karena bau yang ditimbulkan oleh ransum perlakuan yang menyengat sehingga mempengaruhi selera makan.

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 19), dapat dilihat jumlah konsumsi ransum berformalin tikus, menunjukkan bahwa konsentrasi formalin berpengaruh nyata terhadap jumlah ransum yang dikonsumsi tikus ( $p < 0,05$ ), sedangkan lama konsumsi ransum berformalin tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah ransum yang dikonsumsi tikus ( $p > 0,05$ ), dan tidak terjadi interaksi antara konsentrasi formalin dengan lama konsumsi ransum berformalin terhadap jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tikus ( $p > 0,05$ ). Dari hasil ini dapat diketahui bahwa penambahan formalin dalam ransum berpengaruh terhadap jumlah konsumsi tikus yaitu tikus memakan ransum yang lebih sedikit dibandingkan dengan ransum yang tidak berformalin (ransum kontrol). Dari hasil uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin ransum, menunjukkan bahwa jumlah ransum yang dikonsumsi tikus kontrol tidak berbeda nyata dengan tikus perlakuan 0,3% dan 0,9% ( $p > 0,05$ ), tetapi berbeda nyata dengan tikus perlakuan 0,6% dan 1,2%. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 8.



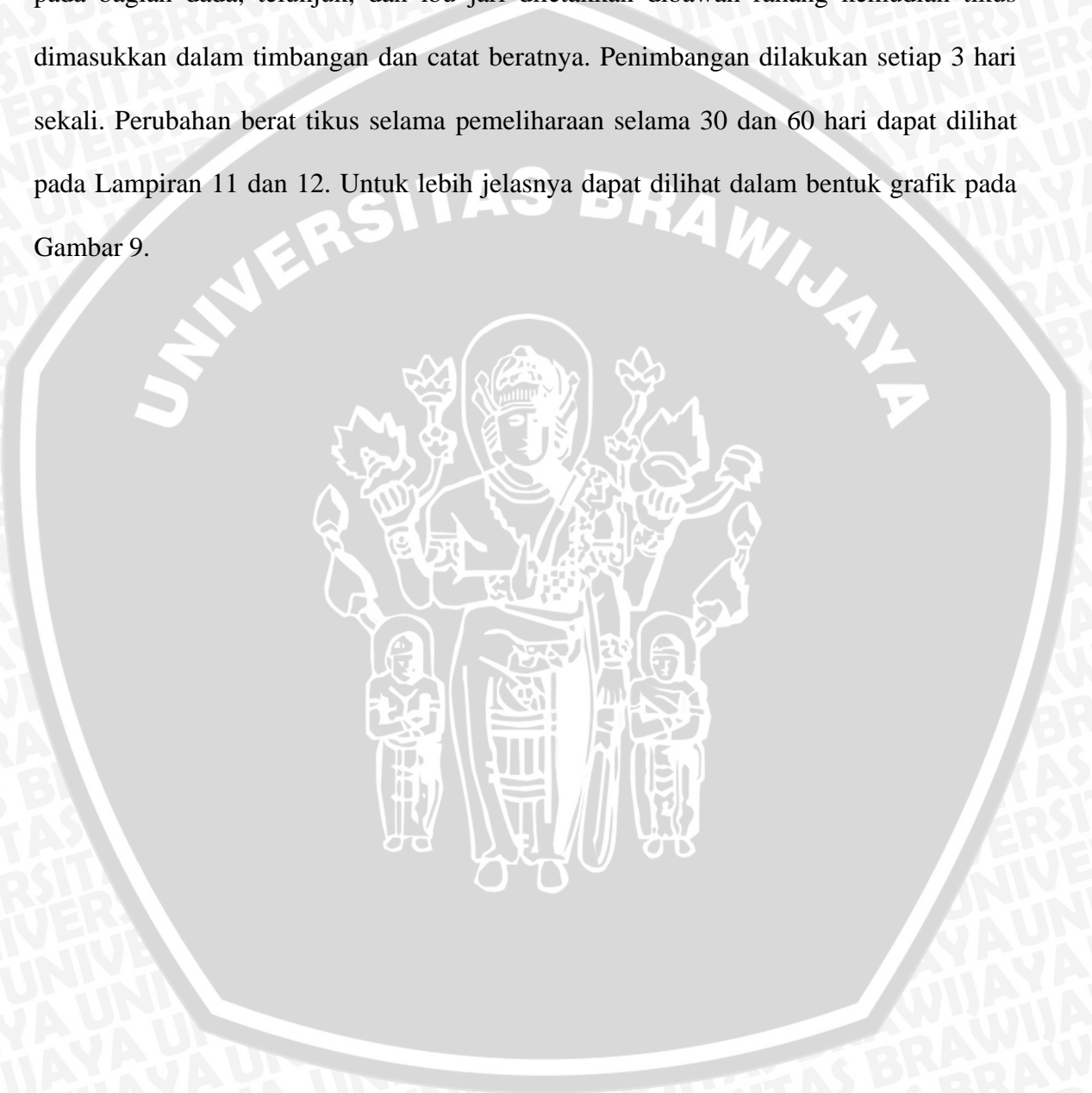
Gambar 8. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap jumlah konsumsi ransum tikus.

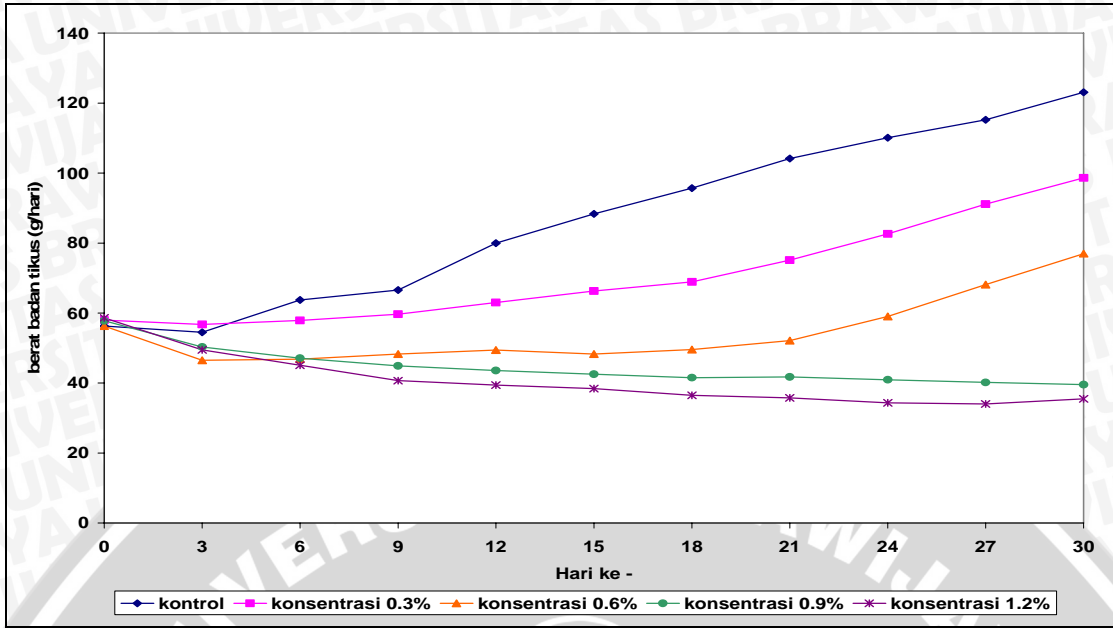
Pada Gambar 8, dapat dilihat jumlah ransum yang dikonsumsi tikus percobaan, dimana dapat diketahui bahwa jumlah konsumsi terendah terdapat pada tikus yang mendapat ransum perlakuan dengan konsentrasi formalin 1,2%. Hal ini dikarenakan terjadi penurunan nafsu makan tikus selama pemeliharaan. Padahal pada awal pemeliharaan, khususnya pada hari ke-0, tidak ada perbedaan yang menonjol dari jumlah konsumsi tikus kontrol dengan tikus perlakuan dan antar tikus perlakuan. Penurunan jumlah konsumsi tikus diakibatkan oleh bau ransum perlakuan yang lebih menyengat daripada tikus kontrol, dimana tikus mempunyai penciuman yang tajam sehingga tikus kurang suka mengkonsumsinya (Astuti, 1986). Selain itu, setelah beberapa hari, tikus kemungkinan mengalami gejala-gejala penyakit, salah satunya adalah penurunan nafsu makan (Price dan Wilson, 1985).



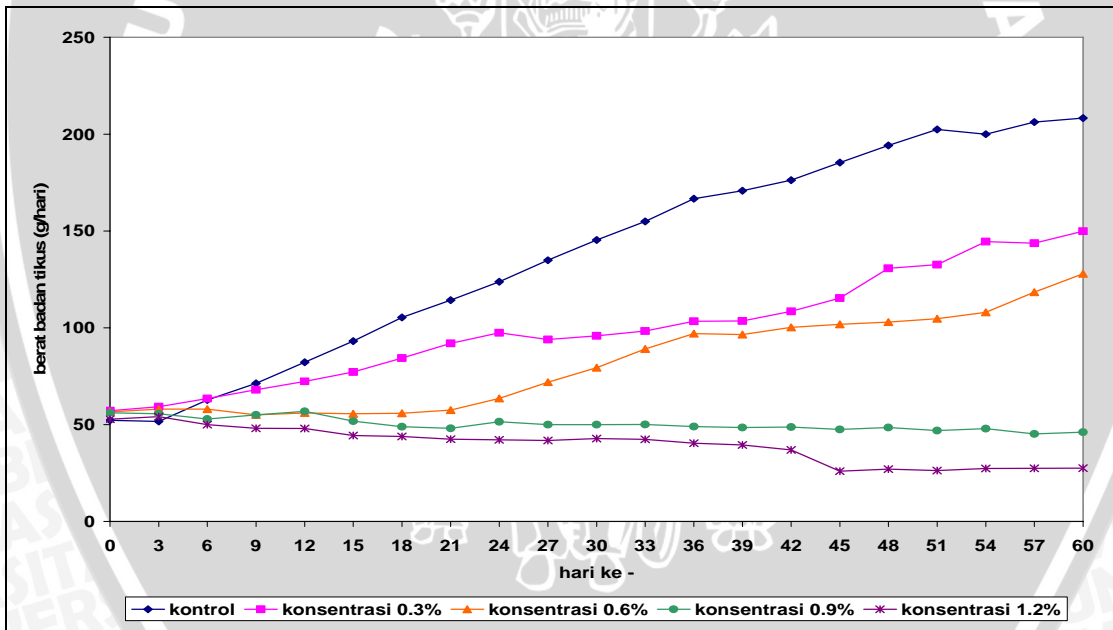
### 4.3.2 Berat badan tikus

Pengukuran berat badan tikus dilakukan untuk mengetahui berat badan tikus setelah diberi ransum perlakuan secara *ad libitum*. Cara menimbang, tikus dipegang pada bagian dada, telunjuk, dan ibu jari diletakkan dibawah rahang kemudian tikus dimasukkan dalam timbangan dan catat beratnya. Penimbangan dilakukan setiap 3 hari sekali. Perubahan berat tikus selama pemeliharaan selama 30 dan 60 hari dapat dilihat pada Lampiran 11 dan 12. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 9.





(A)



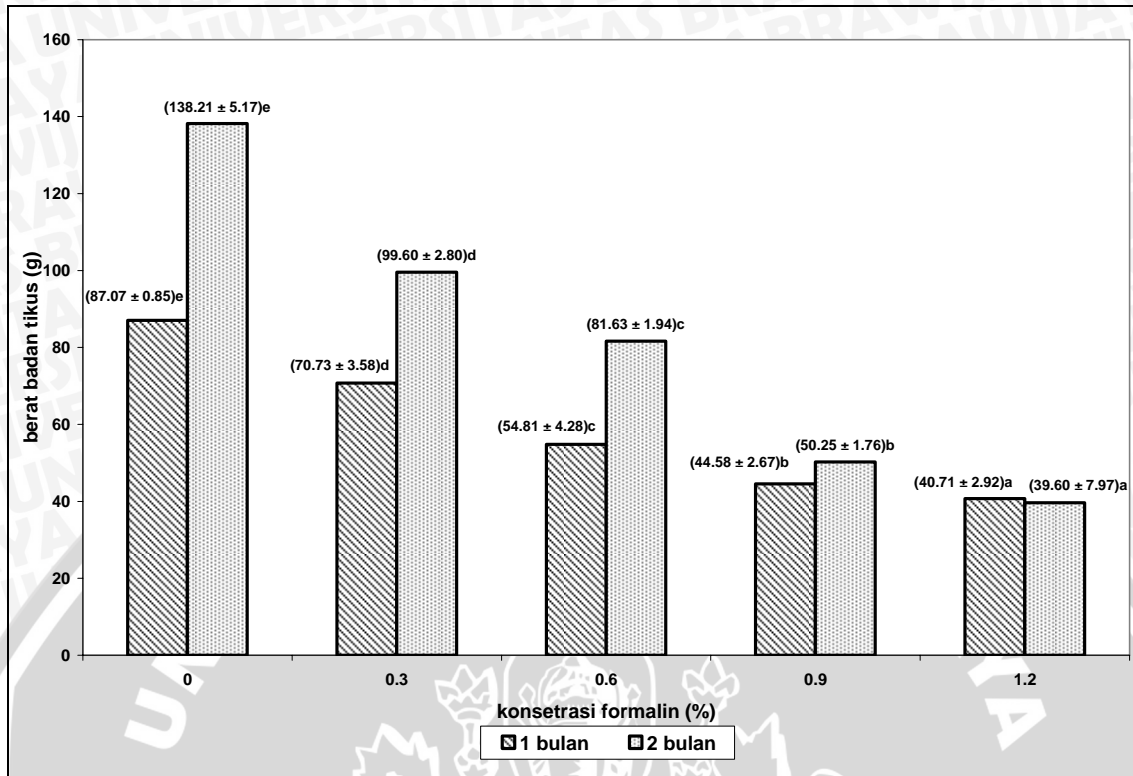
(B)

Gambar 9. Grafik berat badan tikus selama 1 bulan (A) dan 2 bulan (B).

Berdasarkan Gambar 9, dapat dilihat bahwa selama pemeliharaan hanya tikus kontrol yang berat badannya memenuhi standar NRC (1978), yaitu 100 g -150 g untuk yang berumur 1 bulan dan 200 g -250 g untuk tikus yang berumur 2 bulan. Tetapi pada

hari ke-0, tidak ada perbedaan yang nyata antar berat tikus ( $p>0,05$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat hasil analisis statistik berat badan tikus hari ke-0 pada Lampiran 18. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa tikus percobaan memiliki berat awal yang homogen sehingga penelitian ini dapat menggunakan RAL faktorial. Dari gambar 9 tersebut dapat dilihat tikus yang memiliki berat badan terendah dan mengalami penurunan adalah tikus perlakuan 1,2%. Hal ini sebanding dengan jumlah konsumsinya yang memiliki jumlah konsumsi terendah dibandingkan dengan tikus kontrol maupun tikus perlakuan lainnya. Hal ini terjadi pada pemeliharaan 1 bulan maupun 2 bulan sehingga dapat diketahui bahwa konsumsi ransum berformalin berpengaruh terhadap berat badan 1 bulan maupun 2 bulan pemeliharaan.

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 20), dapat dilihat bahwa konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat badan tikus ( $p<0,05$ ) dan terjadi interaksi antara konsentrasi formalin dengan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat badan tikus ( $p<0,05$ ). Berdasarkan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin, menunjukkan bahwa berat badan tikus kontrol berbeda nyata dengan berat badan tikus perlakuan, disamping itu juga terjadi perbedaan yang nyata antar berat badan tikus perlakuan (0,3%; 0,6%; 0,9%; dan 1,2%) dimana  $p<0,05$ . Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat badan tikus.

Pada Gambar 10, dapat dilihat bahwa berat badan tertinggi terdapat pada tikus kontrol, dan semakin tinggi konsentrasi formalin maka semakin kecil berat badan tikus. Perbedaan berat badan selama pemeliharaan disebabkan adanya penurunan jumlah konsumsi, dimana masing-masing tikus memiliki selera makan yang berbeda karena adanya ransum yang ditambahkan dengan formalin. Disamping itu, juga disebabkan nilai gizi pakan yang mengandung formalin menjadi rendah karena zat-zat gizi pada ransum yang telah berikatan dengan gugus aldehid dalam formalin sulit dicerna jadi mengganggu proses metabolisme makanan yang pada akhirnya dapat mengganggu kondisi kesehatan (Nurachman, 2006). Hal ini dapat mengganggu pertumbuhan tikus sehingga tubuh tikus menjadi kurus karena kondisi malnutrisi. Jadi semakin tinggi

konsentrasi formalin pakan dan semakin lama tikus mengkonsumsi ransum berformalin, maka semakin kurus tubuhnya.

Pertumbuhan (*growth*) merupakan peningkatan secara bertahap dari tubuh, organ dan jaringan dari masa konsepsi sampai remaja yang berkaitan dengan perubahan dalam besar, jumlah, ukuran dan fungsi tingkat sel, organ maupun individu, yang di ukur dengan ukuran berat (gram, pound, kilogram), ukuran panjang (cm, meter) dan keseimbangan metabolik. Kecepatan dari pertumbuhan berbeda pada setiap tahapan kehidupan karena dipengaruhi oleh kompleksitas dan ukuran dari organ serta rasio otot dan lemak dalam tubuh. Menurut Effendie (1997), laju pertumbuhan relatif adalah panjang/bobot yang dicapai dalam suatu periode tertentu yang dibandingkan dengan panjang/bobot tubuh awal periode. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan relatif adalah jumlah pakan yang tersedia, ukuran/berat awal, dan jumlah pakan yang dikonsumsi. Menurut Sitompul dan Bambang. G (1995), laju pertumbuhan relatif berat badan tikus dapat dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{LPR (g/hari)} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}$$

Ket :  $W_2$  = Berat badan pada hari ke-x

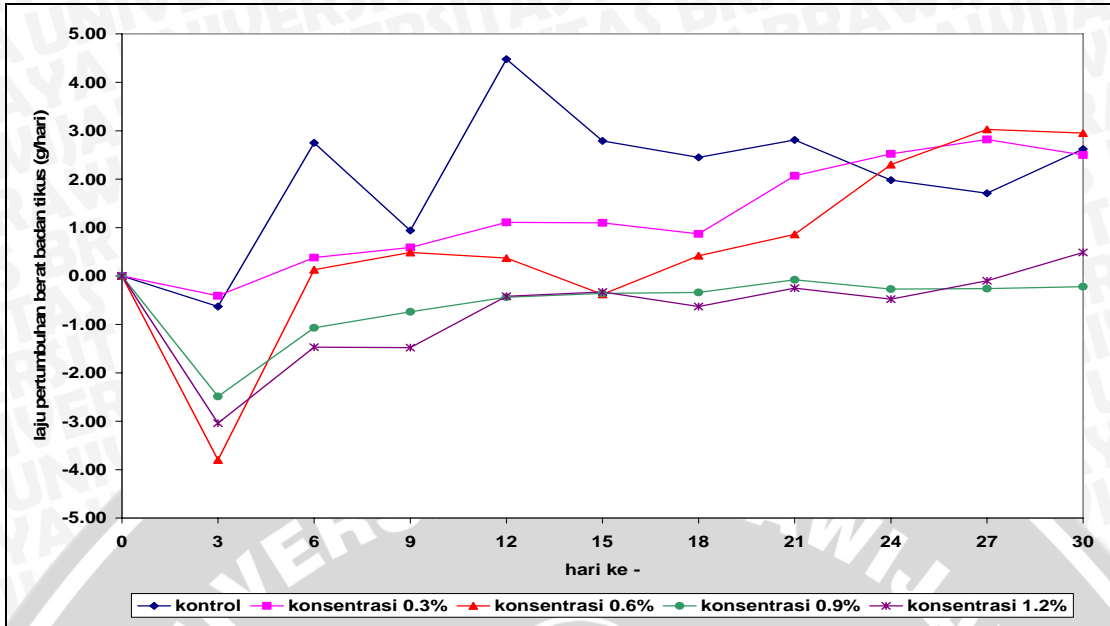
$W_1$  = Berat badan pada hari sebelumnya

$t_2$  = Hari ke-x

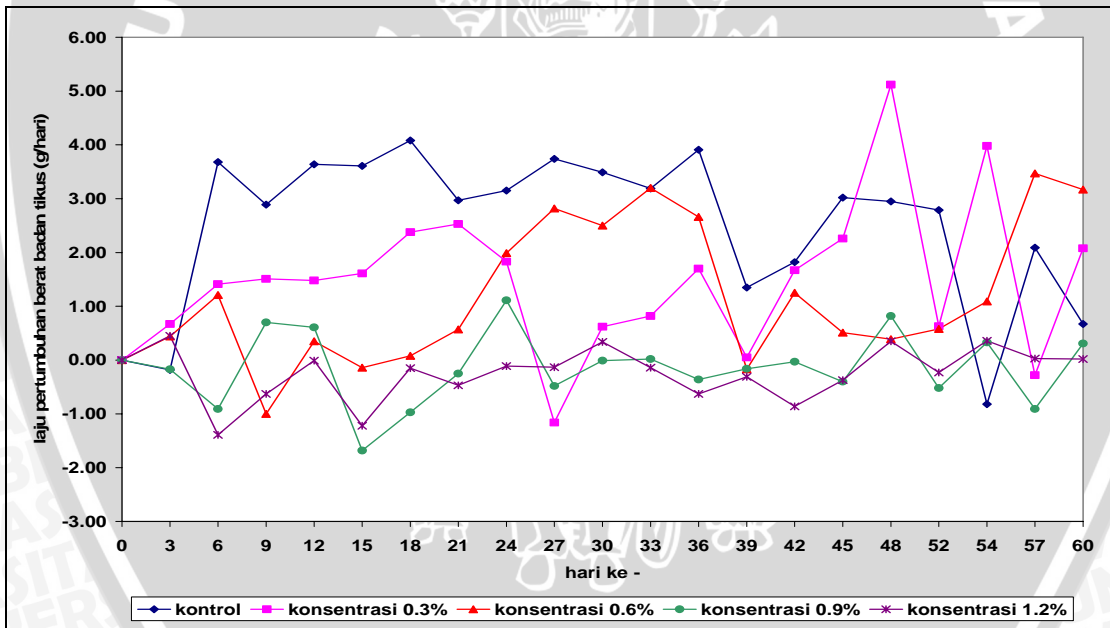
$t_1$  = Hari sebelumnya

Data laju pertumbuhan berat badan tikus tiap dapat dilihat pada Lampiran 15 dan 16.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 11.



(A)



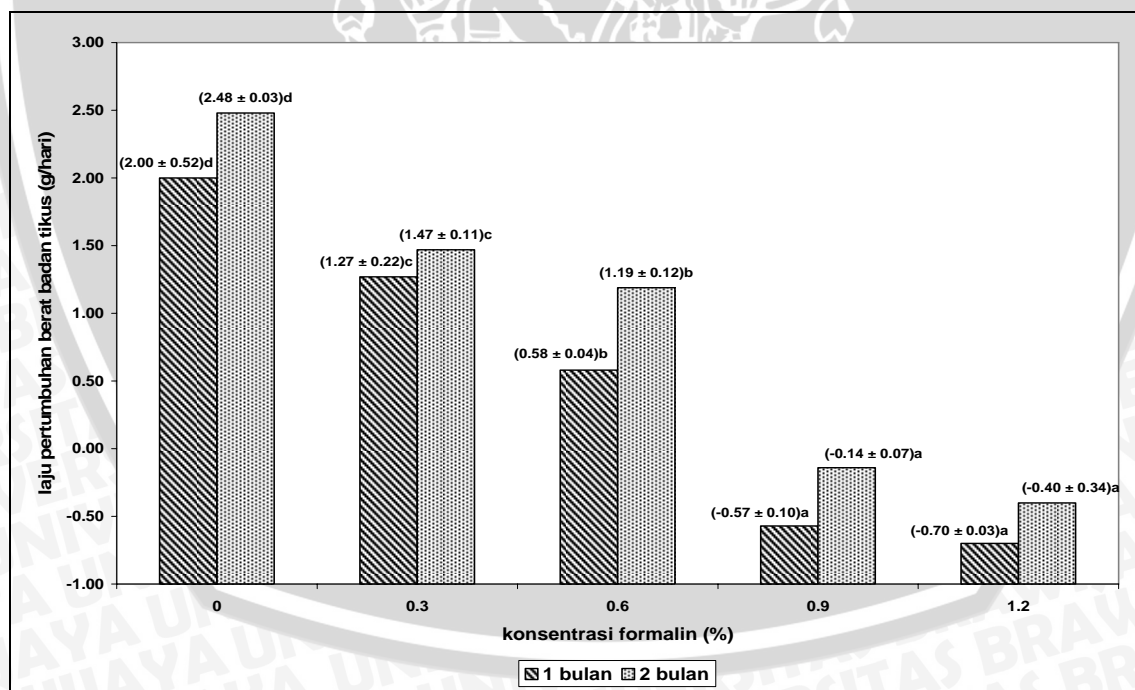
(B)

Gambar 11. Grafik laju pertumbuhan berat badan tikus selama 1 bulan (A) dan 2 bulan (B).

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 21), menunjukkan bahwa konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin memberikan pengaruh yang nyata terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus ( $p < 0,05$ ). Tetapi tidak terjadi interaksi

antara konsentrasi formalin dengan lama konsumsi ransum berformalin terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus ( $p > 0,05$ ). Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa banyaknya jumlah ransum yang dikonsumsi berpengaruh terhadap pertumbuhan tikus, apalagi jika ransum tersebut mengandung formalin menyebabkan laju pertumbuhannya lambat. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 11, dimana terlihat jelas adanya fluktuasi laju pertumbuhan berat badan tikus perlakuan dan kontrol.

Berdasarkan uji BNJ untuk konsentrasi formalin pakan, dapat dilihat bahwa laju pertumbuhan berat badan tikus kontrol berbeda nyata terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus perlakuan ( $p < 0,05$ ). Tetapi laju pertumbuhan berat badan tikus perlakuan 0,9% tidak berbeda nyata dengan tikus perlakuan 1,2% ( $p > 0,05$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Histogram pengaruh konsentrasi formalin pakan dan lama konsumsi ransum pakan berformalin terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus.

#### 4.4 Pengaruh Konsumsi Ransum Berformalin Terhadap Berat dan Anatomi Jaringan Organ Hati, Ginjal dan Limpa Tikus

Pengamatan berat organ bertujuan untuk mengetahui apakah organ berkembang normal atau tidak. Perkembangan tidak normal bisa berupa pembengkakan (*hipertrofi*) ataupun pengkerutan (*atrofi*). Tetapi jika hanya dilihat berdasarkan berat organnya saja, tidak dapat diketahui apakah organ berkembang normal atau tidak karena semakin tinggi berat badan, maka semakin tinggi juga berat organ, dan begitu juga sebaliknya. Untuk itu dibuat perbandingan berat organ dengan berat badan. Perkembangan organ yang abnormal pada tikus, baik membengkak (*hipertrofi*) atau mengkerut (*atrofi*) disebabkan adanya gangguan fungsi. Pembengkakan terjadi karena adanya kerja yang lebih berat dari biasanya pada otot, atau adanya timbunan air dan lemak yang biasanya sering terjadi pada hati, ginjal dan jantung. (Djojopranoto, 1963). Untuk mengetahui sebab terjadinya perkembangan organ yang abnormal, maka dilakukan pemeriksaan histopatologi (anatomi jaringan) pada organ.

##### 4.4.1 Hati

Hati berkembang sebagai pertumbuhan dari dinding usus dan berhubungan erat dengan saluran pencernaan (Develander dan Ramaley, 1980). Price dan Wilson (1985) menambahkan, bahwa hati mempunyai dua suplai darah yaitu: dari saluran cerna dan limpa. Hati merupakan organ parenkim yang ukurannya terbesar, mempunyai fungsi yang banyak dan kompleks, antara lain : (a). berperan dalam metabolisme karbohidrat, protein dan lemak, (b). penyimpanan vitamin, besi dan tembaga, (c). konyugasi dan ekstraksi steroid adrenal dan gonad, dan (d). detoksifikasi sejumlah zat endogen dan eksogen. Data perbandingan berat hati dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi dapat dilihat pada Tabel 10.



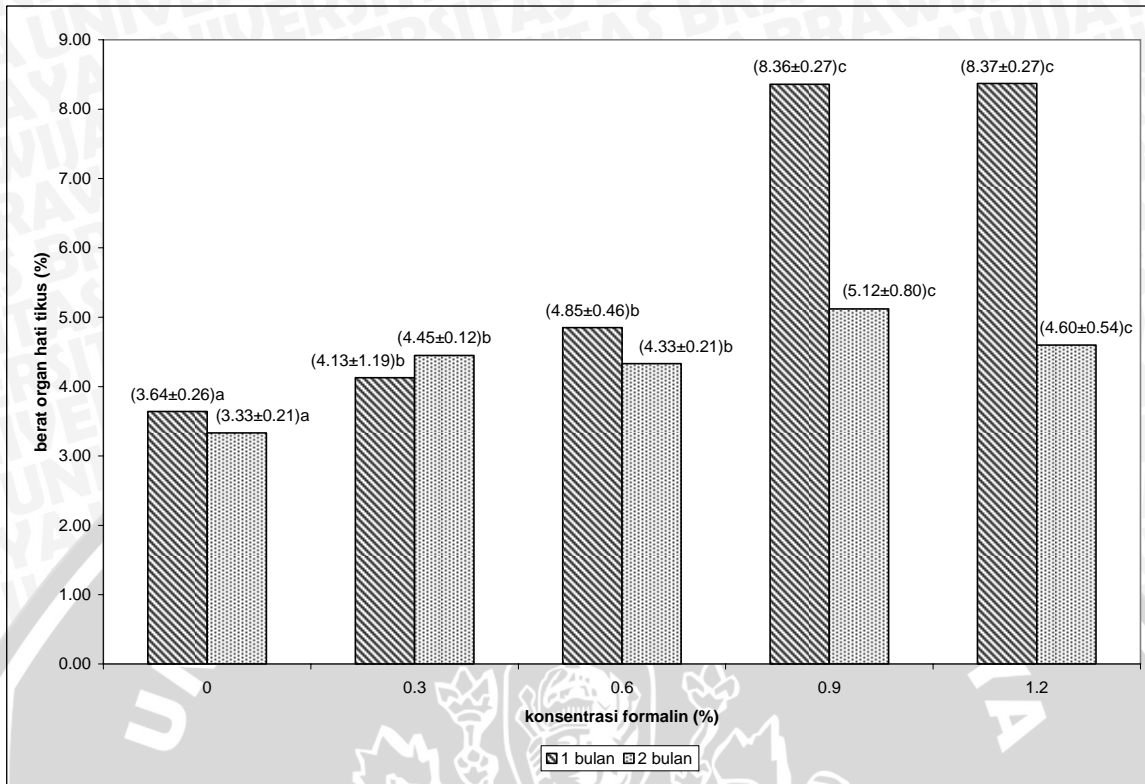
Tabel 10. Data perbandingan berat organ hati dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi

Lama konsumsi (bulan)	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ hati (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Perbandingan berat organ hati dan berat badan (%)*
1	0 (kontrol)	4,47±0,15	123,10±9,48	(3,64±0,26)a
	0,3	4,07±0,06	98,60±5,60	(4,13±0,19)b
	0,6	3,73±0,25	76,97±4,42	(4,85±0,05)b
	0,9	3,30±0,17	39,53±3,23	(8,36±0,27)c
	1,2	2,97±0,15	35,50±2,65	(8,37±0,27)c
2	0 (kontrol)	6,87±0,55	208,30±1,30	(3,33±0,21)a
	0,3	6,67±0,25	149,93±7,63	(4,45±0,12)b
	0,6	5,53±0,06	127,87±6,25	(4,33±0,21)b
	0,9	2,37±0,40	46,13±0,68	(5,12±0,80)c
	1,2	1,73±0,12	38,17±6,67	(4,60±0,54)c

Keterangan : ulangan = 3

$$* = \frac{\text{berat organ hati (g)}}{\text{berat badan sebelum dibedah (g)}} \times 100 \%$$

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 22), dapat dilihat bahwa konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat organ hati tikus ( $p < 0,05$ ). Terjadi interaksi antara konsentrasi pakan dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ hati tikus ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa berat hati mengalami kenaikan yang disebabkan karena pengaruh konsumsi ransum berformalin sehingga hati tikus mengalami pembengkakan yang dianggap sebagai faktor kerusakan hati tikus (Djojopranoto, 1963). Berdasarkan uji BNJ (Beda Nyata Jujur), untuk konsentrasi formalin, menunjukkan bahwa berat organ hati kontrol berbeda nyata dengan perlakuan 0,3%; 0,6%; 0,9%; dan 1,2% ( $p < 0,05$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ hati tikus

Data pemeriksaan anatomi jaringan organ hati dapat dilihat pada Tabel 11, sedangkan foto jaringan organ hati dapat dilihat pada Gambar 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23,24, dan 25.

Tabel 11. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ hati tikus

Faktor		Jumlah tikus (ekor)		
Lama Konsumsi (bulan)	Konsentrasi (%)	Normal (TAP)	Mengalami degenerasi vakuola (DV)	Mengalami infiltrasi glikogen (IG)
1	0 (kontrol)	3	0	0
	0,3	3	0	0
	0,6	3	0	0
	0,9	2	1	0
	1,2	0	3	0
2	0 (kontrol)	3	0	0
	0,3	2	1	0
	0,6	0	2	1
	0,9	0	3	0
	1,2	0	3	0

KETERANGAN :

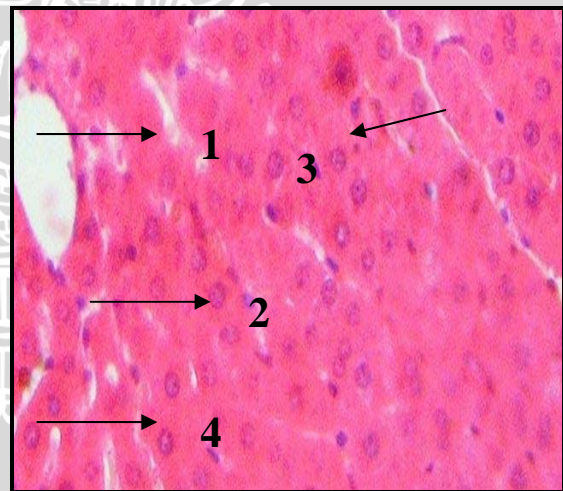
TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ

DV = Adanya bentukan vakuola lemak yang berbatas jelas pada sitoplasma sel hati

IG = Infiltrasi glikogen pada sitoplasma sel hati

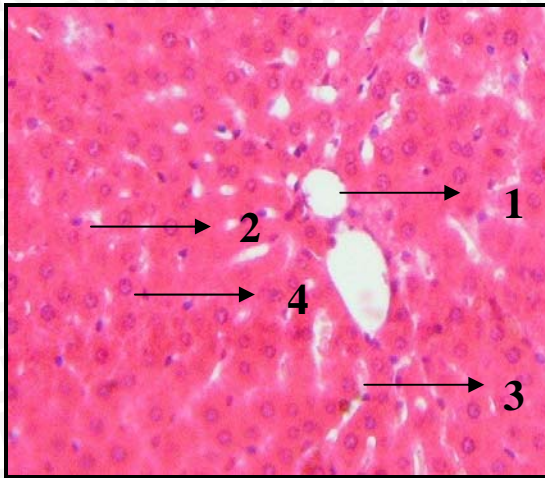


Gambar 14. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol, 1 bulan (normal)

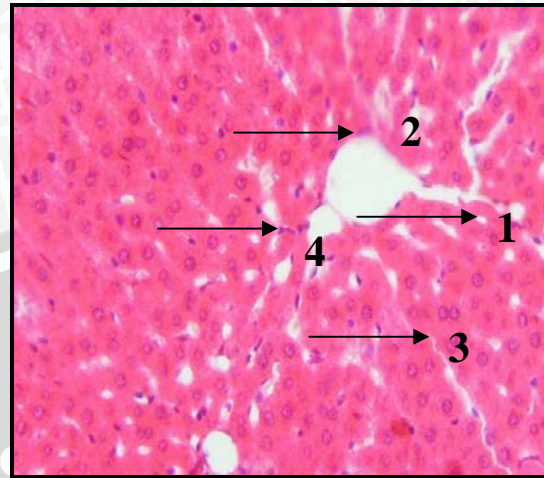


Gambar 15. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,3%, 1 bulan (normal)

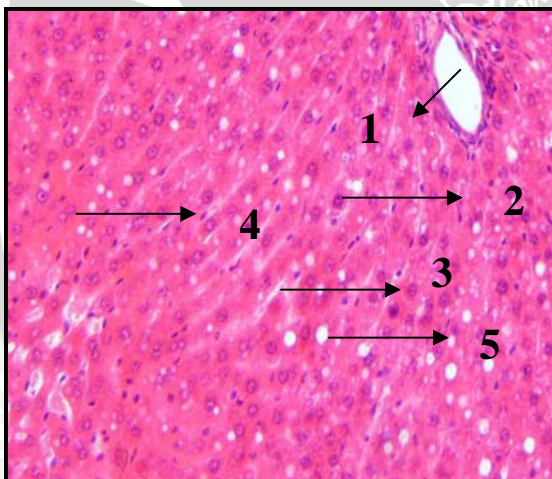
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Vakuola sentralis, 2. Inti, 3. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 4. Sel hepatosit; 5. Timbunan lemak trigliserida, 6. Timbunan glikogen



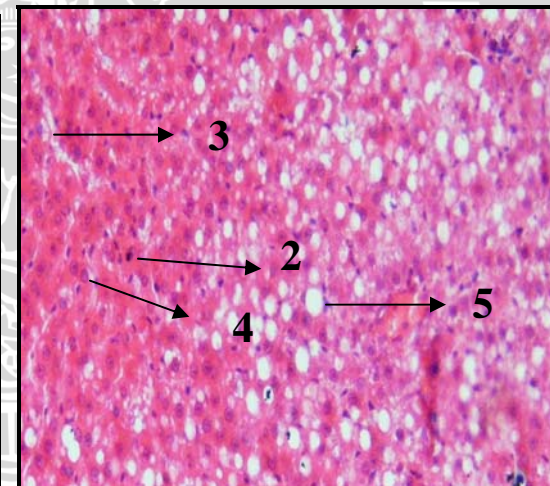
Gambar 16. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,6%, 1 bulan (normal)



Gambar 17. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9%, 1 bulan (normal)

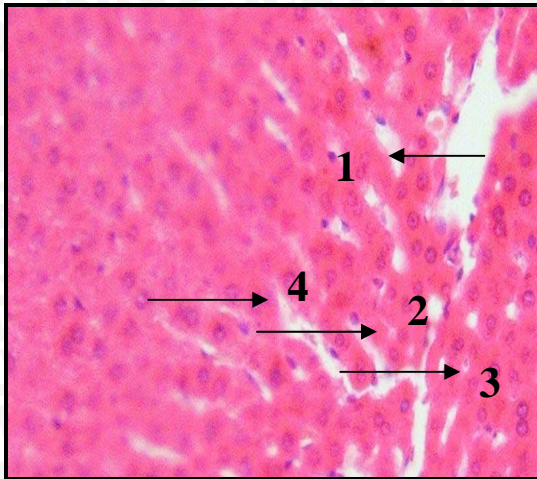


Gambar 18. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9%, 1 bulan (mengalami degenerasi vakuola/ DV)

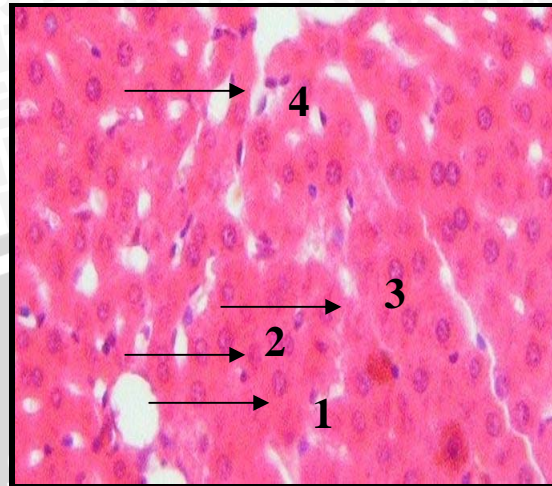


Gambar 19. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 1,2%, 1 bulan (mengalami degenerasi vakuola /DV)

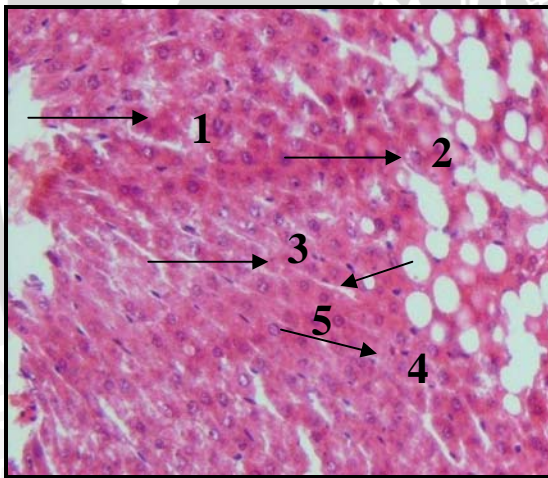
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Vakuola sentralis, 2. Inti, 3. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 4. Sel hepatosit; 5. Timbunan lemak trigliserida, 6. Timbunan glikogen



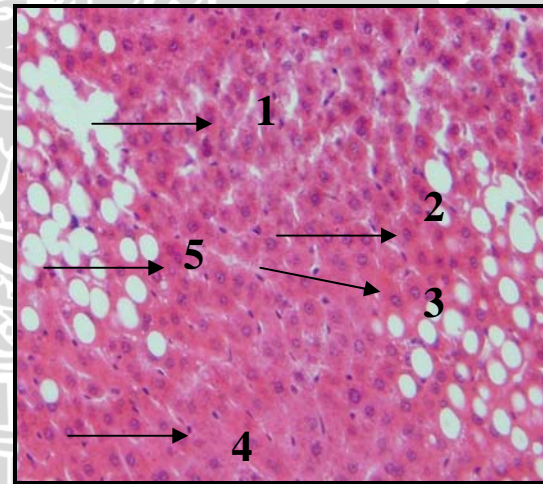
Gambar 20. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol, 2 bulan (normal)



Gambar 21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,3% , 2 bulan (normal)

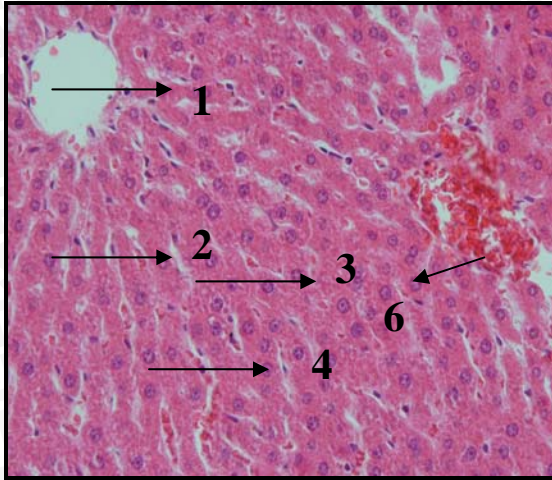


Gambar 22. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,6%, 2 bulan (mengalami degenerasi vakuola /DV)

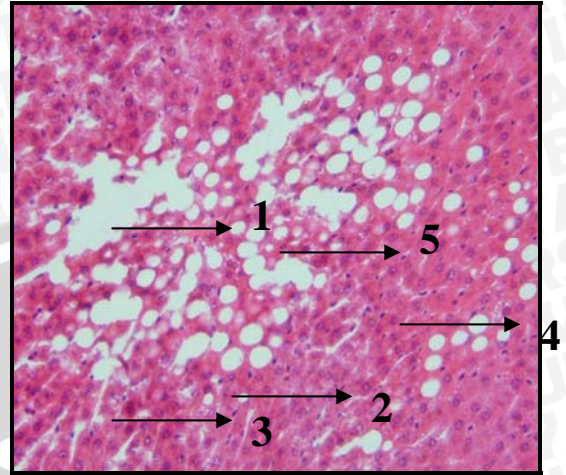


Gambar 23. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9%, 2 bulan (mengalami degenerasi vakuola /DV)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Vakuola sentralis, 2. Inti, 3. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 4. Sel hepatosit; 5. Timbunan lemak trigliserida, 6. Timbunan glikogen



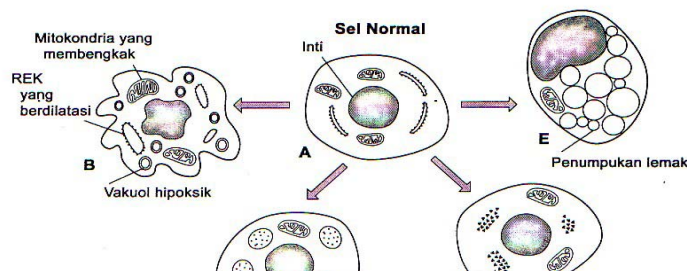
Gambar 24. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 0,9%, 2 bulan (mengalami infiltrasi glikogen /IG)



Gambar 25. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan 1,2%, 2 bulan (mengalami degenerasi vakuola /DV)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Vakuola sentralis, 2. Inti, 3. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 4. Sel hepatosit; 5. Timbunan lemak trigliserida, 6. Timbunan glikogen

Perlemakan hati (degenerasi vakuola) terjadi karena penimbunan lemak berlebih pada sitoplasma sel hati. Jika dibandingkan dengan jaringan hati normal dapat dilihat terdapat banyak lubang-lubang kecil dalam sitoplasma. Lubang-lubang kecil yang terlihat seperti rongga kosong tersebut ternyata berisi lemak yang larut pada saat pembuatan preparat. Disamping itu, sinusoid-sinusoid jaringan hati mengalami penyempitan dan vena sentralis terdesak akibat adanya pembengkakan sel karena timbunan trigliserida. Menurut Djojopranoto (1963), perlemakan hati dapat terjadi karena beberapa sebab antara lain: anoxia (infeksi yang disertai panas tinggi), intoksifikasi bermacam-macam zat kimiawi, terlalu banyak makan, kelaparan ("starvation"), diabetes.



Gambar 26. Pembengkakan sel, vakuolisasi dan penyimpanan dalam sitoplasma (Damjanov, 2000)

Perlemakan hati ini dapat mengakibatkan gangguan fungsi organ. Perlemakan hati yang akut akan mengakibatkan kematian sel (nekrosis) jika penyebabnya tidak dihilangkan. Penyebab dalam hal ini adalah kandungan formalin dalam pakan. Sel yang mati, jika tidak segera diperbaharui (regenerasi) akan tertutup oleh kapsula jaringan penghubung fibrosa yang pada akhirnya akan diisi oleh garam-garam kalsium yang diendapkan dari darah (kalsifikasi). Kalsifikasi ini membuat hati menjadi keras dan berkapur dan akhirnya dapat mengakibatkan sirosis hati (Djojopranoto, 1963). Tetapi, berdasarkan data pemeriksaan antomi jaringan hati, belum terdapat organ hati tikus yang mengalami nekrosis karena belum terlihat adanya perubahan – perubahan pada inti. Menurut Djojopranoto (1963), proses nekrosis adalah proses yang dinamis, jadi memerlukan waktu untuk mengadakan berbagai perubahan morfologi. Jika pada degenerasi adalah pada sitoplasma, sedangkan nekrosis, tanda-tanda kematian sel adalah pada intinya. Price dan Wilson (1985), menambahkan bahwa tahapan perubahan pada inti, meliputi: (a). inti sel menyusut dan bentuknya tidak teratur (piknosis), (b). inti sel hancur dan meninggalkan zat-zat kromatin yang tersebar di dalam sel (karioreksis), dan (c). inti sel kehilangan kemampuannya untuk diwarnai dan menghilang (kariolisis).

Penyebab terjadinya degenerasi karena adanya intoksikasi zat-zat kimia yang dapat mengakibatkan cedera pada sel, khususnya pada mitokondria dan retikulum

endoplasma yang dapat mengakibatkan gangguan produksi energi melalui oksidasi, sehingga sel yang cedera tidak mampu mengeliminasi air dan trigliserida (Djojopranoto, 1963). Padahal, hati selain berperan dalam metabolisme juga berperan dalam proses detoksifikasi dan ekskresi zat-zat kimia maupun obat-obatan. Disamping itu, formaldehid dalam kadar kecil juga dihasilkan sebagai metabolit kebanyakan organisme, termasuk manusia (Wikipedia, 2006).

Menurut Yuswanto (2006), proses alam juga menghasilkan zat formalin yang selanjutnya terserap oleh sayur-sayuran, buah dan daging hewan sehingga buah-buahan dan sayuran juga mengandung zat formalin sebagai hasil proses biologis alami. Daging sapi mengandung formalin kira-kira 30 mg, dan kerang laut mengandung formalin kira-kira 100 mg per kg. Tetapi jika makanan berformalin dengan konsentrasi yang tinggi dikonsumsi oleh manusia, maka tubuh tidak dapat menoleransinya. Selain itu, sulitnya pencernaan protein pada makanan yang berformalin dapat mengakibatkan hati sulit membentuk enzim-enzim yang dapat digunakan untuk biotransformasi formaldehid menjadi *formate* dan  $\text{CO}_2$ , yang dapat diekresikan keluar tubuh.

Pada Gambar 24, dapat dilihat bahwa hati mengalami infiltrasi glikogen. Jika dibandingkan dengan organ hati yang normal, dapat dilihat bahwa dalam sitoplasma terdapat timbunan glikogen yang berwarna merah akibat perwarnaan. Menurut Susanto (2006), infiltrasi berbeda dengan degenerasi karena yang tertimbun dalam sitoplasma adalah produk metabolit yang berlebih, misalnya glikogen. Djojopranoto (1963) menambahkan bahwa infiltrasi glikogen ini tidak mengakibatkan gangguan fungsi.

#### 4.4.2 Ginjal



Ginjal melakukan fungsi vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan internal dengan mengekskresikan solut dan air secara selektif, selain itu ginjal merupakan suatu unit organ dalam tubuh yang mempunyai peranan dalam mengekskresikan bahan – bahan kimia asing tertentu (obat-obatan dan sebagainya) hormon-hormon dan metabolit lain. Kalau kedua ginjal karena sesuatu hal gagal melakukan fungsinya, maka kematian akan terjadi dalam waktu 3 sampai 4 minggu kemudian. Fungsi vital ginjal dilakukan dalam organ dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus, diikuti dengan proses reabsorpsi sejumlah cairan dan air yang dibutuhkan di sepanjang tubulus ginjal. Kelebihan cairan dan air akan diekskresikan ke luar tubuh dalam bentuk urin (Price dan Wilson, 1982). Data perbandingan berat ginjal dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi dapat dilihat pada Tabel 12.

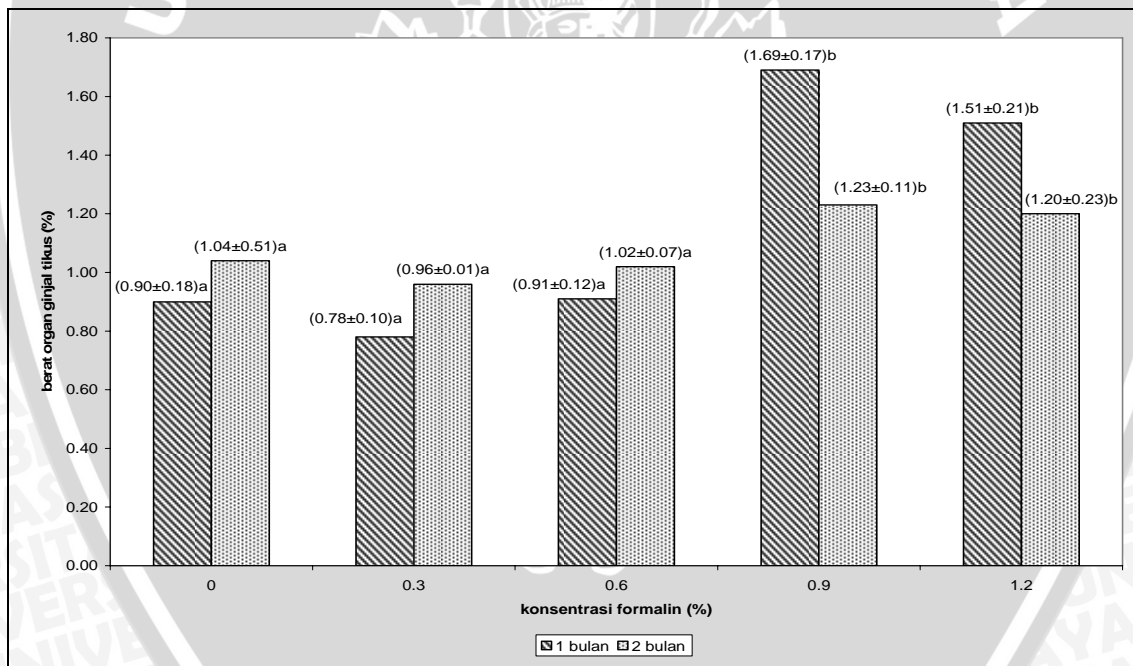
Tabel 12. Data perbandingan berat organ ginjal dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi

Lama konsumsi (bulan)	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ ginjal (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Perbandingan berat organ ginjal dan berat badan (%)*
1	0 (kontrol)	1,10±0,20	123,10±9,48	(0,90±0,18)a
	0,3	0,77±0,06	98,60±5,60	(0,78±0,10)a
	0,6	0,70±0,10	76,97±4,42	(0,91±0,12)a
	0,9	0,67±0,06	39,53±3,23	(1,69±0,17)b
	1,2	0,53±0,06	35,50±2,65	(1,51±0,21)b
2	0 (kontrol)	2,17±0,12	208,30±1,30	(1,04±0,05)a
	0,3	1,43±0,06	149,93±7,63	(0,96±0,01)a
	0,6	1,30±0,10	127,87±6,25	(1,02±0,07)a
	0,9	0,57±0,06	46,13±0,68	(1,23±0,11)b
	1,2	0,47±0,15	38,17±6,67	(1,20±0,23)b

Keterangan : ulangan = 3

$$* = \frac{\text{berat organ ginjal (g)}}{\text{berat badan sebelum dibedah (g)}} \times 100\%$$

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 23), dapat dilihat bahwa konsentrasi formalin memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat organ ginjal tikus ( $p < 0,05$ ), tetapi lama konsumsi ransum berformalin tidak memberikan pengaruh nyata pada berat organ ginjal tikus ( $p > 0,05$ ). Terjadi interaksi antara konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ ginjal tikus ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin, menunjukkan bahwa berat organ ginjal kontrol tidak berbeda nyata dengan berat organ ginjal perlakuan 0,3% dan 0,6% ( $p > 0,05$ ), sedangkan berat organ ginjal perlakuan 0,9% tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1,2% ( $p > 0,05$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 27.



Gambar 27. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ ginjal tikus.

Data pemeriksaan anatomi jaringan organ ginjal dapat dilihat pada Tabel 13, sedangkan foto jaringan organ ginjal dapat dilihat pada Gambar 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, dan 38.

Tabel 13. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ ginjal tikus

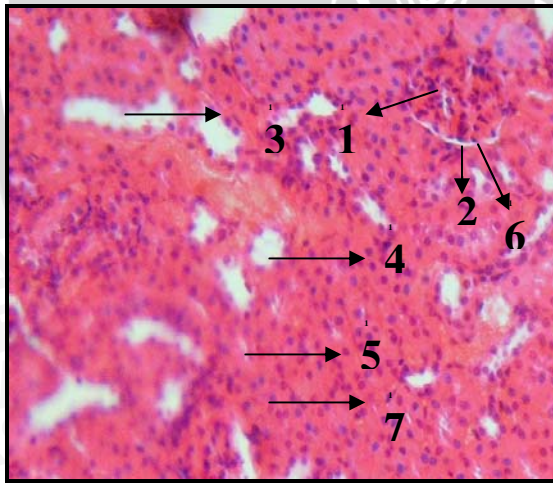
Faktor		Jumlah tikus (ekor)	
Lama Konsumsi (bulan)	Konsentrasi (%)	Normal (TAP)	Mengalami nekrosis kalsifikasi (N,CA)
1	0 (kontrol)	3	0
	0,3	3	0
	0,6	3	0
	0,9	3	0
	1,2	3	0
2	0 (kontrol)	3	0
	0,3	3	0
	0,6	2	1
	0,9	0	3
	1,2	0	3

**KETERANGAN :**

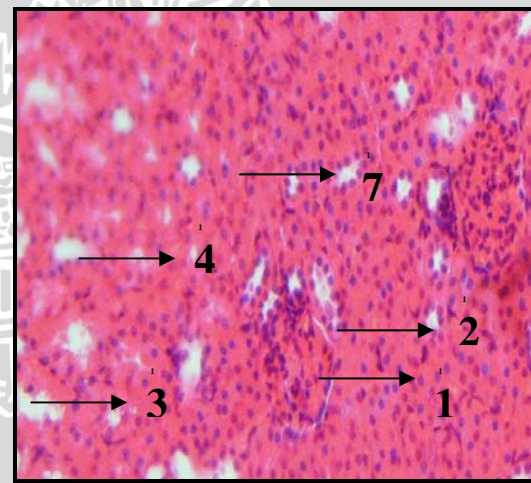
TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ

N = Nekrosis (kematian sel yang ditandai dengan lisis atau piknotik pada inti dan sitoplasma eosinofilik) pada epitel tubuli ginjal

CA = Timbunan massa kalsium yang berwarna kebiruan pada daerah tubuli ginjal yang mengalami nekrosis

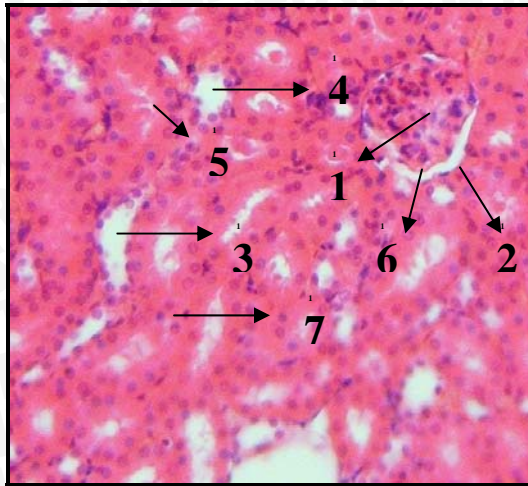


Gambar 28. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol, 1 bulan (normal)

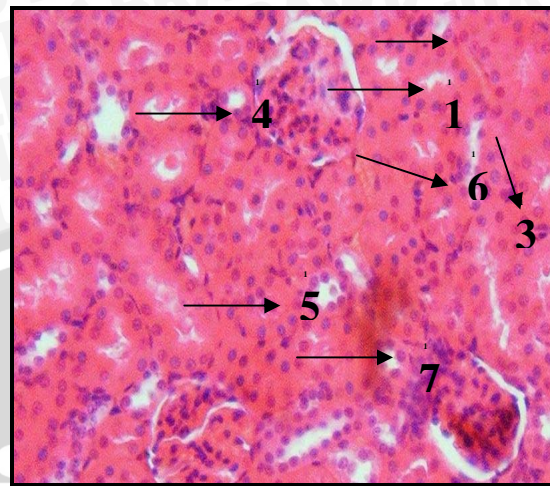


Gambar 29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,3%, 1 bulan (normal)

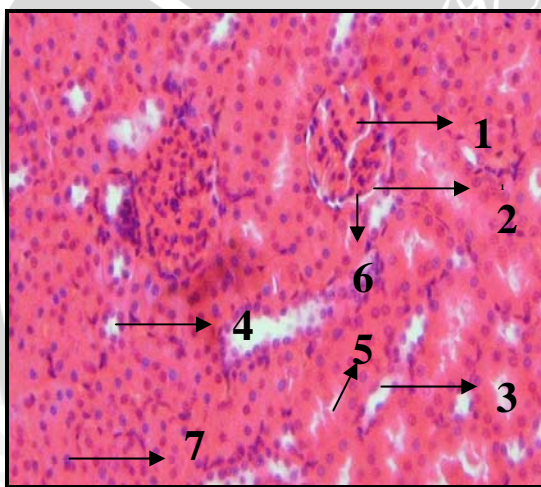
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2. Kapsul Bowman; 3. Pancaran meduler; 4. Tubula berpilin proksimal; 5. Tubula berpilin distal; 6. Lapisan parietal; 7. Inti sel normal; 8. Timbunan masa kalsium; 9. Inti sel mengalami piknosis; 10. Inti sel mengalami karioreksis; 11. Inti sel mengalami kariolisis.



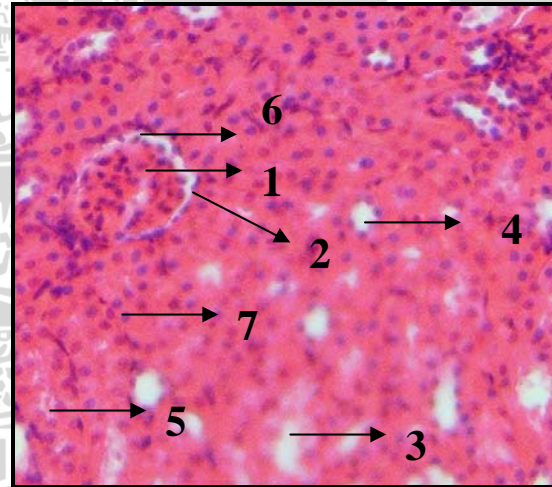
Gambar 30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6%, 1 bulan (normal)



Gambar 31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,9%, 1 bulan (normal)

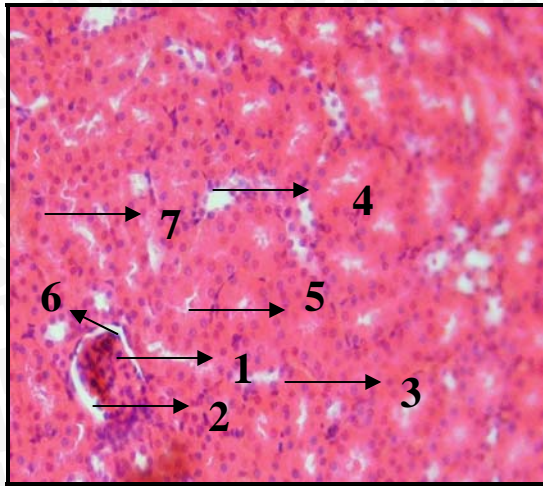


Gambar 32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 1,2%, 1 bulan (normal)

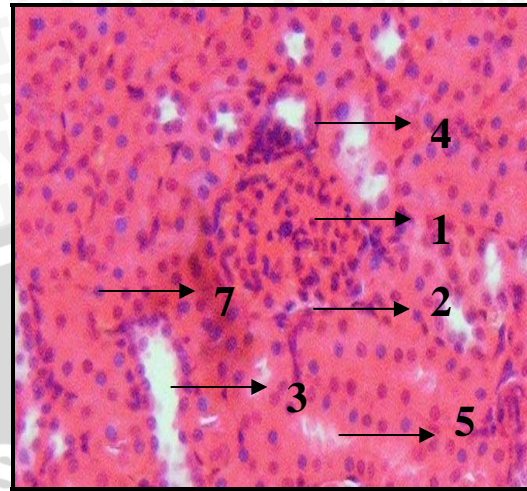


Gambar 33. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol, 2 bulan (normal)

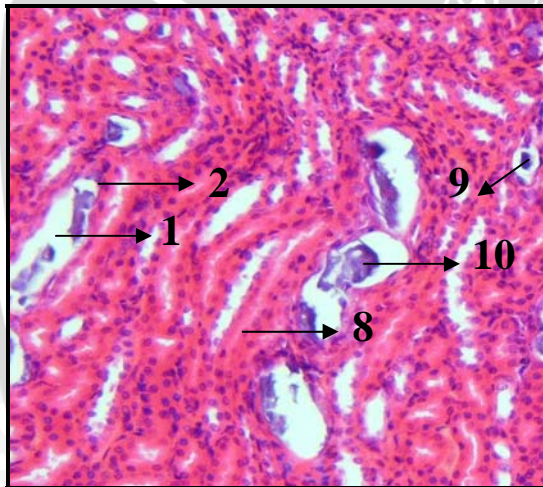
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2. Kapsul Bowman; 3. Pancaran meduler; 4. Tubula berpilin proksimal; 5. Tubula berpilin distal; 6. Lapisan parietal; 7. Inti sel normal; 8. Timbunan masa kalsium; 9. Inti sel mengalami piknosis; 10. Inti sel mengalami karioreksis; 11. Inti sel mengalami kariolisis.



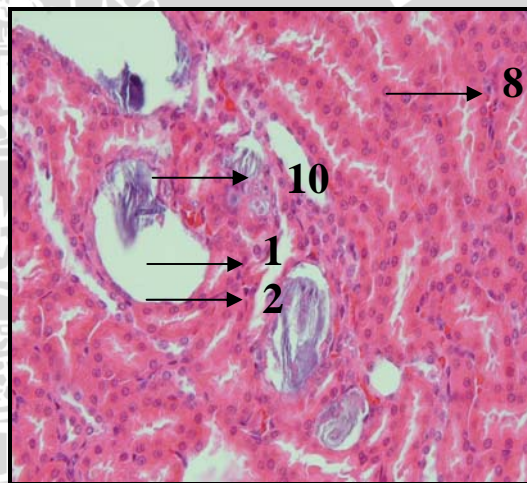
Gambar 34. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,3%, 2 bulan (normal)



Gambar 35. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6%, 2 bulan (normal)

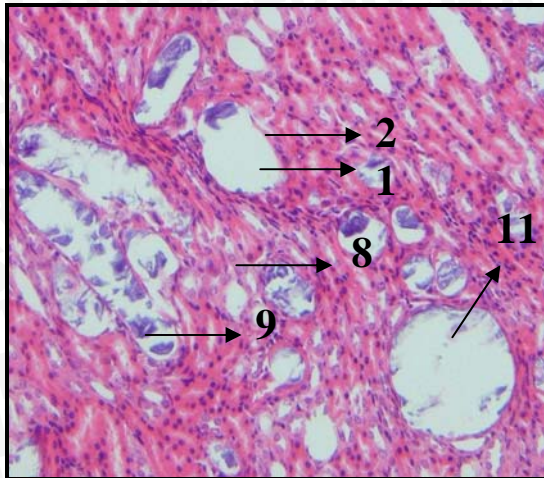


Gambar 36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,6%, 2 bulan (mengalami nekrosis dan kalsifikasi)



Gambar 37. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 0,9%, 2 bulan (mengalami nekrosis dan kalsifikasi)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2. Kapsul Bowman; 3. Pancaran meduler; 4. Tubula berpilin proksimal; 5. Tubula berpilin distal; 6. Lapisan parietal; 7. Inti sel normal; 8. Timbunan masa kalsium; 9. Inti sel mengalami piknosis; 10. Inti sel mengalami karioreksis, 11. Inti sel mengalami kariolisis.

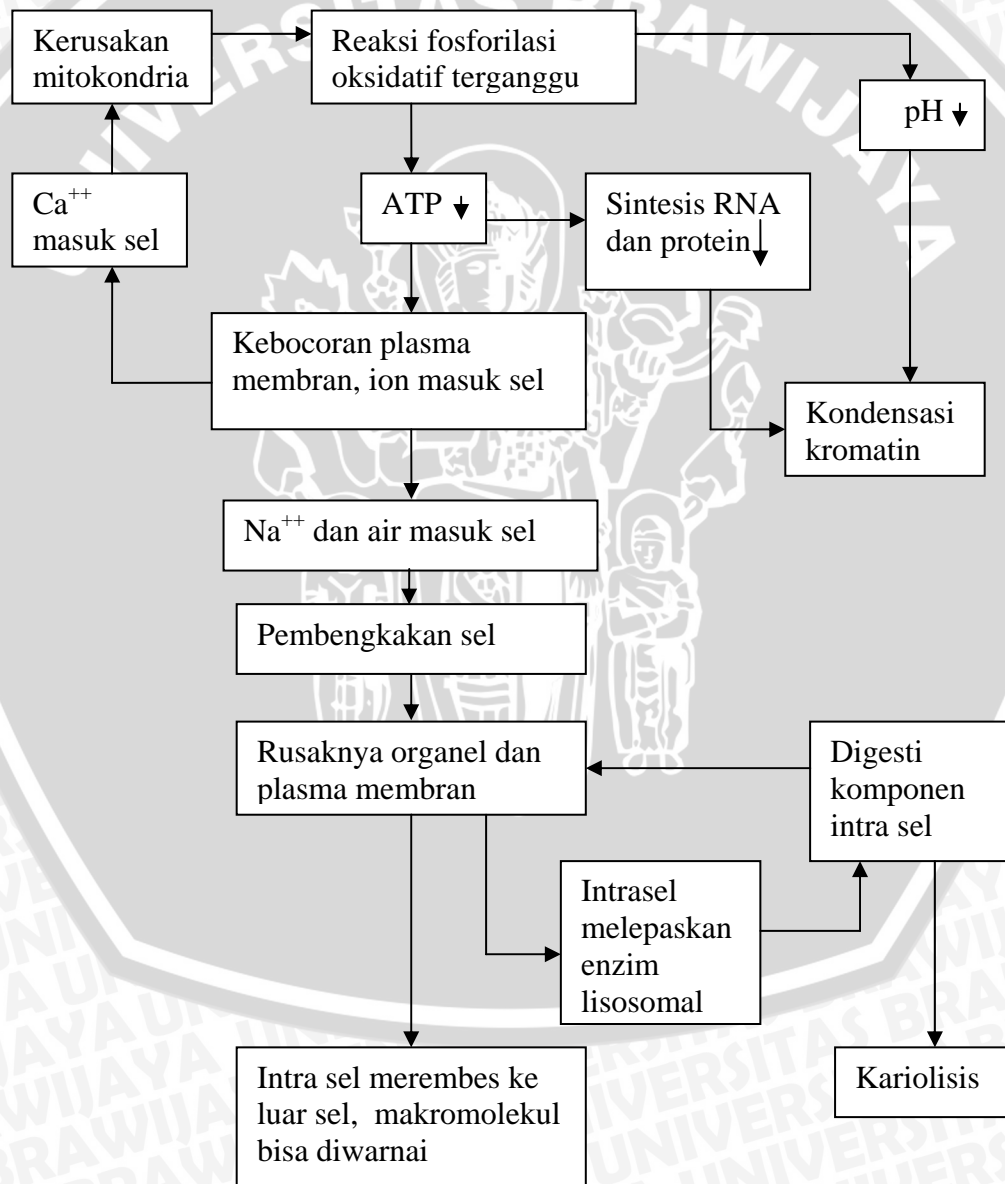


Gambar 36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan 1,2%, 2 bulan (mengalami nekrosis dan kalsifikasi)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2. Kapsul Bowman; 3. Pancaran meduler; 4. Tubula berpilin proksimal; 5. Tubula berpilin distal; 6. Lapisan parietal; 7. Inti sel normal; 8. Timbunan masa kalsium; 9. Inti sel mengalami piknosis; 10. Inti sel mengalami karioreksis, 11. Inti sel mengalami kariolisis.

Berdasarkan hasil pemeriksaan anatomi jaringan ginjal pada Tabel 13, dapat dilihat bahwa terdapat organ ginjal tikus (terutama tikus perlakuan 0,9% dan 1,2%) yang mengalami nekrosis. Menurut Djojopranoto (1963), nekrosis adalah kematian sel atau sekelompok sel, atau sebagian dari alat-alat tubuh, dimana organismenya masih hidup. Price dan Wilson (1985), menambahkan bahwa bagian inti merupakan bagian sel yang paling jelas menunjukkan bahwa sel mengalami nekrosis, walaupun sering diikuti dengan perubahan pada sitoplasma. Tahapan perubahan pada inti, meliputi: (a). inti sel menyusut dan bentuknya tidak teratur (piknosis), (b). inti sel hancur dan meninggalkan zat-zat kromatin yang tersebar di dalam sel (karioreksis), (c). inti sel kehilangan kemampuannya untuk diwarnai dan menghilang (kariolisis). Pada Gambar 36, 37, dan 38, dapat dilihat bahwa inti mengalami ketiga tahapan perubahan yang menunjukkan

bahwa jaringan organ ginjal tersebut telah mengalami nekrosis. Tubuh akan merespon terjadinya nekrosis pada suatu jaringan dengan peradangan, sehingga jaringan yang mati akhirnya dihancurkan dan dibuang, membuka jalan bagi proses perbaikan (regenerasi). Jika tidak segera dihancurkan atau dibuang, maka jaringan tersebut biasanya akan ditutup dengan jaringan fibrosa dan akhirnya akan mengendapkan garam-garam kalsium. Hal ini dapat mengakibatkan jaringan organ berkapur (kalsifikasi).



Gambar 39. Diagram mekanisme nekrosis (Bowen and Lockshin, 1981)

Menurut Susanto (2006), penyebab terjadinya nekrosis antara lain : Hipoksia (kurangnya suplai O<sub>2</sub> dalam darah), bahan kimia, perubahan fisik (suhu rendah, suhu tinggi, perubahan mendadak tekanan atmosfer, radiasi dan tenaga listrik), agen mikrobiologi (kuman, jamur, protozoa dan cacing), mekanisme imun, gangguan genetik, ketidakseimbangan nutrisi, dan psikologis. Kegagalan proses detoksifikasi formaldehid dalam hati yang menyebabkan formaldehid masih terikat dalam protein. Ekskresi urea dari deaminasi asam amino dari hati ke ginjal, memungkinkan melibatkan protein yang masih mengikat formaldehid. Hanya molekul-molekul yang memiliki diameter lebih kecil yang dapat melewati pori-pori membran filtrasi glomerulus, sedangkan molekul-molekul protein yang besar tidak ditemukan dalam filtrat dan urin, sehingga protein yang masih terikat formaldehid tersebut tertimbun di epitel tubuli ginjal dan pada akhirnya menimbulkan nekrosis. Djojopranoto (1963), menambahkan jika nekrosis pada jaringan epitel tubulus ginjal tidak segera disembuhkan akan mengakibatkan kerusakan dari epitel tubulus ginjal tersebut dan pada akhirnya akan mengakibatkan payah ginjal.

#### **4.4.3 Limpa**

Limpa adalah suatu massa besar sel-sel limfoid dan retikuloendotel yang terletak dalam aliran darah. Sinusoid-sinusoid limpa terisi darah bukan cairan limfe. Struktur limpa memungkinkan interaksi yang erat antara limfosit, makrofag, dan benda-benda yang dibawa aliran darah (Price dan Wilson, 1985). Medicastore (2007) menambahkan bahwa limpa berperan dalam sistem kekebalan untuk melawan infeksi, membuang bahan-bahan yang tidak diperlukan dari dalam darah dan menentukan sel yang abnormal atau terlalu tua atau sel yang mengalami kerusakan dan kemudian menghancurkannya.



Data perbandingan berat limpa dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi dapat dilihat pada Tabel 14.

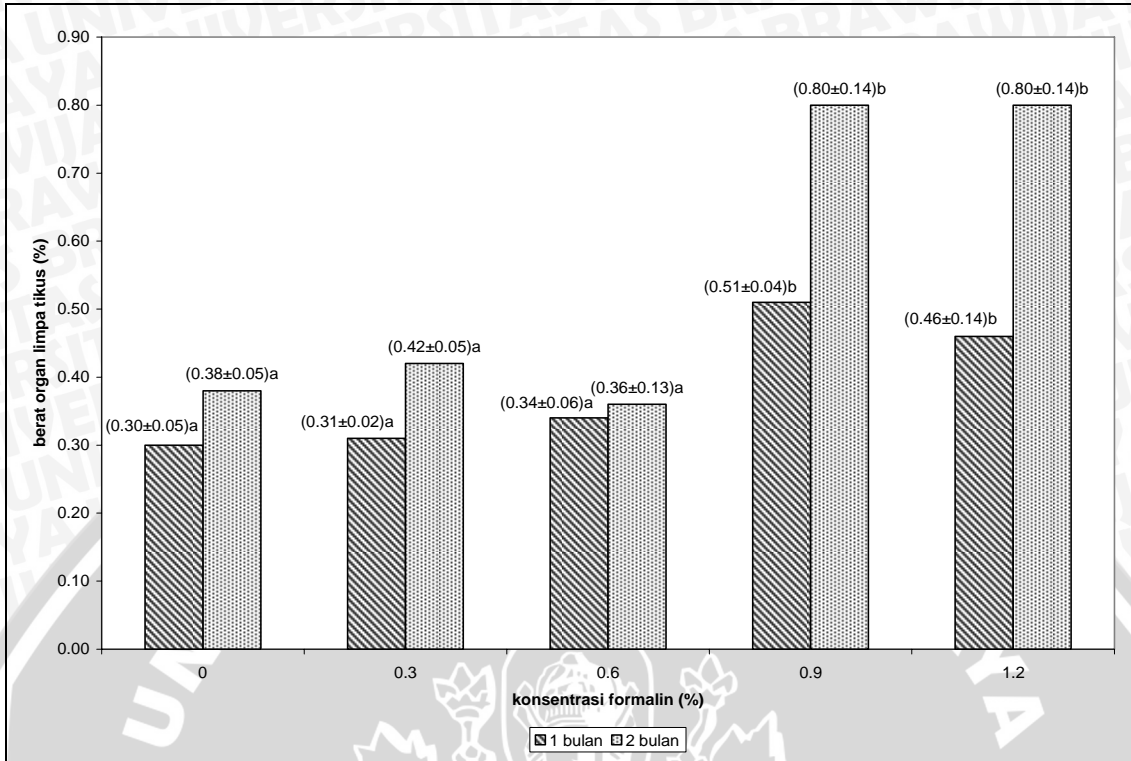
Tabel 14. Data perbandingan berat organ limpa dengan berat badan tikus pada akhir konsumsi

Lama konsumsi (bulan)	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ limpa (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Perbandingan berat organ limpa dan berat badan (%) *
1	0 (kontrol)	0,37±0,06	123,10±9,48	(0,30±0,05)a
	0,3	0,30±0,00	98,60±5,60	(0,31±0,02)a
	0,6	0,27±0,06	76,97±4,42	(0,34±0,06)a
	0,9	0,20±0,00	39,53±3,23	(0,51±0,04)b
	1,2	0,17±0,06	35,50±2,65	(0,46±0,14)b
2	0 (kontrol)	0,80±0,10	208,30±1,30	(0,38±0,05)a
	0,3	0,63±0,06	149,93±7,63	(0,42±0,05)a
	0,6	0,47±0,15	127,87±6,25	(0,36±0,13)a
	0,9	0,37±0,06	46,13±0,68	(0,80±0,14)b
	1,2	0,30±0,00	38,17±6,67	(0,80±0,14)b

Keterangan : ulangan = 3

$$* = \frac{\text{berat organ limpa (g)}}{\text{berat badan sebelum dibedah (g)}} \times 100\%$$

Dari hasil analisis statistik (Lampiran 24), dapat dilihat bahwa konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat organ limpa tikus ( $p < 0,05$ ). Terjadi interaksi antara konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ limpa tikus ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin, menunjukkan bahwa berat organ limpa tikus kontrol tidak berbeda nyata dengan berat organ limpa tikus perlakuan 0,3% dan 0,6% ( $p > 0,05$ ), sedangkan berat organ limpa tikus perlakuan 0,9% tidak berbeda nyata dengan tikus perlakuan 1,2% ( $p > 0,05$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 40.



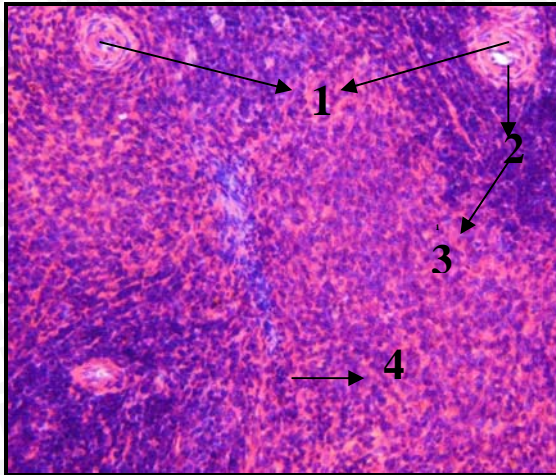
Gambar 40. Histogram pengaruh konsentrasi formalin dan lama konsumsi ransum berformalin terhadap berat organ limpa tikus.

Data pemeriksaan anatomi jaringan organ limpa dapat dilihat pada Tabel 15, sedangkan foto jaringan organ limpa dapat dilihat pada Gambar 41, 41, 43, 45, 46, 47, 48, 49, dan 50.

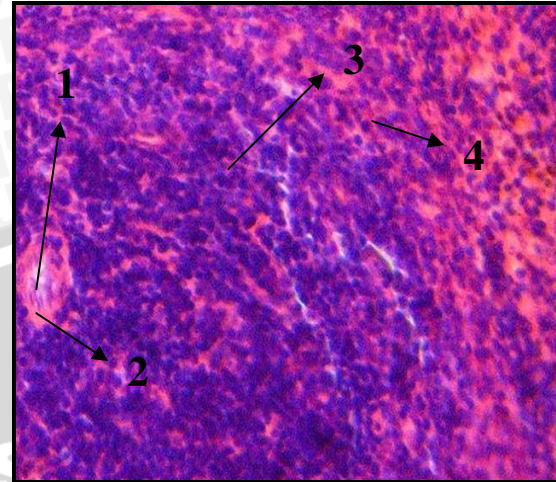
Tabel 15. Data pemeriksaan anatomi jaringan organ limpa tikus

Faktor		Jumlah tikus (ekor)	
Lama Konsumsi (bulan)	Konsentrasi (%)	Normal (TAP)	Tidak normal
1	0 (kontrol)	3	0
	0,3	3	0
	0,6	3	0
	0,9	3	0
	1,2	3	0
2	0 (kontrol)	3	0
	0,3	3	0
	0,6	3	0
	0,9	3	0
	1,2	3	0

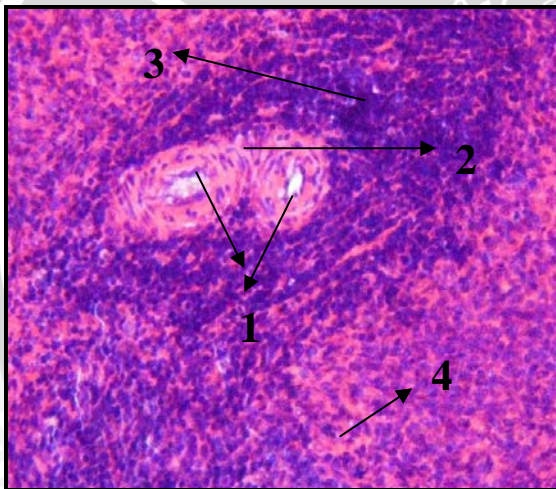
KETERANGAN : TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ



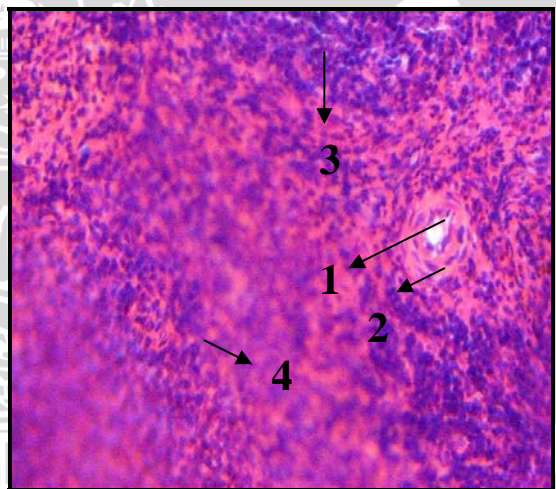
Gambar 41. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol, 1 bulan (normal)



Gambar 42. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,3%, 1 bulan (normal)

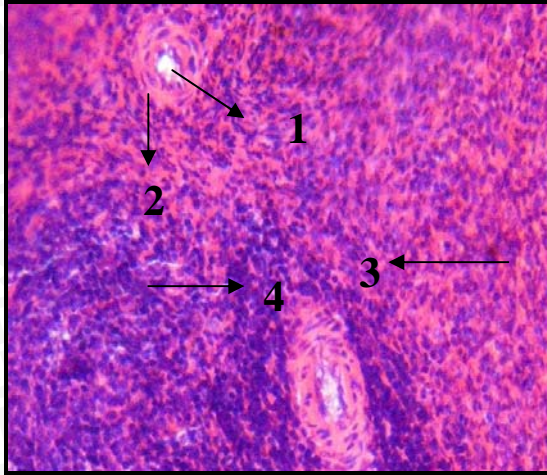


Gambar 43. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,6%, 1 bulan (normal)

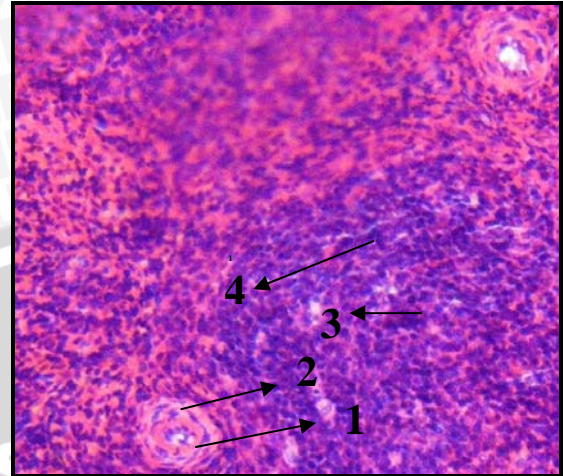


Gambar 44. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,9%, 1 bulan (normal)

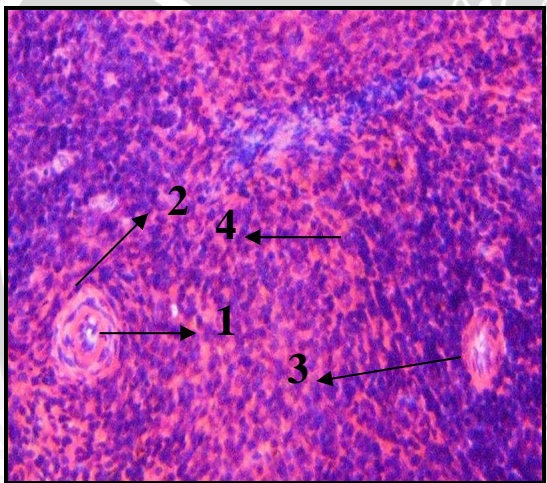
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X 1. Pusat pembedihan; 2. Pulpa putih; 3. Pulpa merah; 4. Inti.



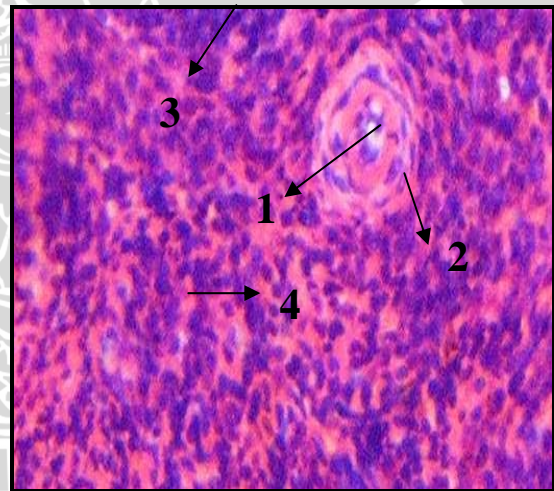
Gambar 45. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 1,2%, 1 bulan (normal)



Gambar 46. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol, 2 bulan (normal)

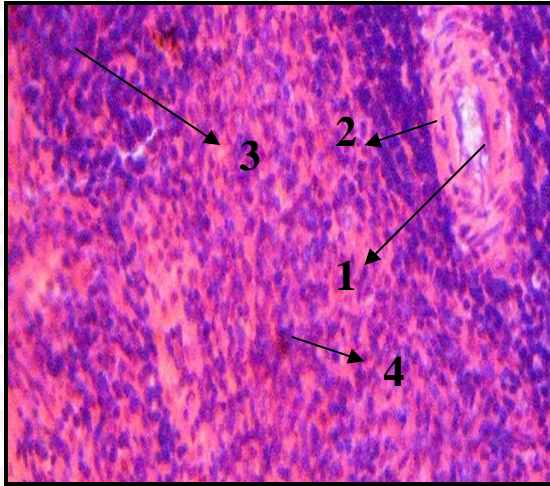


Gambar 47. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,3%, 2 bulan (normal)

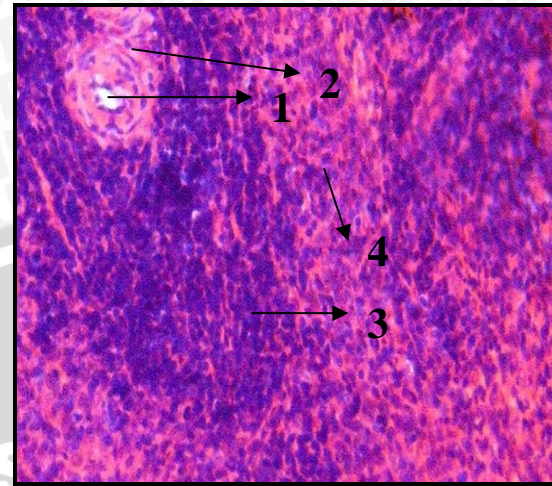


Gambar 48. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,6%, 2 bulan (normal)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X 1. Pusat pembedihan; 2. Pulpa putih; 3. Pulpa merah; 4. Inti.



Gambar 49. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0,9%, 2 bulan (normal)



Gambar 50. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 1,2%, 2 bulan (normal)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X 1. Pusat pembenihan; 2. Pulpa putih; 3. Pulpa merah; 4. Inti.

Dari hasil pemeriksaan anatomi jaringan limpa pada Tabel 15, dapat dilihat bahwa pada semua jaringan limpa perlakuan tidak terjadi perubahan morfologi atau dapat dikatakan semua jaringan limpa masih normal. Tetapi, jika dilihat dari perbandingan berat organ limpa dan berat badan pada Tabel 14, menunjukkan bahwa terjadi pembesaran limpa terutama pada perlakuan 0,9% dan 1,2%. Pembesaran limpa ini terjadi karena limpa terlalu banyak menangkap sel-sel yang abnormal dari dalam darah untuk dihancurkan dan dibuang oleh limpa. Sel-sel yang abnormal ini dapat disebabkan karena adanya peradangan atau cedera pada sel atau jaringan organ, dimana limpa merupakan organ yang berperan dalam proses regenerasi jaringan yang rusak (Medicastore, 2007).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsumsi ransum yang mengandung formalin dengan konsentrasi yang setara dengan produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%) berpengaruh terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus wistar. Pemberian ransum berformalin dengan konsentrasi yang berbeda dan lama konsumsinya menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap pertumbuhan berat badan dan anatomi jaringan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar. Semakin tinggi konsentrasi formalin yang ditambahkan dalam ransum dan waktu konsumsi yang semakin lama maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan kondisi jaringan organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus wistar. Tikus yang mengkonsumsi ransum berformalin dengan konsentrasi 1,2% selama 2 bulan menunjukkan laju pertumbuhan berat badan yang terendah dan memiliki resiko paling tinggi terhadap terjadinya kerusakan pada anatomi jaringan (perlemakan hati dan nekrosis) pada organ dalam ( hati, ginjal, limpa). Kerusakan pada anatomi jaringan organ dalam tikus wistar disebabkan karena tingginya kandungan formalin pada ransum perlakuan dan dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama sehingga formalin terakumulasi dalam tubuh tikus dan mengakibatkan terjadinya degenerasi vakuola dan nekrosis pada jaringan organ dalam tikus (hati,ginjal).

### 5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsumsi makanan berformalin terhadap ada tidaknya metabolit formaldehid dalam urin dan feses tikus wistar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, N. 2006. Awas Formalin di Plastik Makanan. [http://www.republika.co.id/koran\\_detail.asp?id=231858&kat\\_id1=&kat\\_id2](http://www.republika.co.id/koran_detail.asp?id=231858&kat_id1=&kat_id2). Diakses tanggal 11 Agustus 2006 pukul 18:50. 3 hal.
- Anonymous. 1999. Toxicological Profile For Formaldehyde. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp111>. Diakses tanggal 16 Januari 2006 pukul 14:00. 166-267 pp.
- \_\_\_\_\_. 2005<sup>a</sup>. Penanganan Ikan dengan Formalin. <http://www.dkp.go.id/content.php>. Diakses tanggal 14 September 2006 pukul 19:40. 1 hal.
- \_\_\_\_\_. 2005<sup>b</sup>. Mengenal Formalin. <http://www.suarapembaruan.com/news/2005/12/30/utama/ut04.html>. Diakses tanggal 5 Januari 2006 pukul 14 :25. 2 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>a</sup>. Waspada Penggunaan Formalin pada Makanan. [http://www.dinkes-kotasamarang.go.id/index.php?option=com\\_content&task=view&id=22&Itemid=2.htm](http://www.dinkes-kotasamarang.go.id/index.php?option=com_content&task=view&id=22&Itemid=2.htm). Diakses tanggal 23 Juli 2006 pukul 09:20. 1 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>b</sup>. Kiat Menghindari Bahaya Formalin pada Makanan. <http://cyberwoman.cbn.net.id/detil.asp?kategori=Health&newsno=917>. Diakses tanggal 3 Februari 2006 pukul 09:03. 2 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>c</sup>. Awas, Bahan Berbahaya. [http://republika.co.id/koran\\_detail.asp?id=147302&kat\\_id=318&kat\\_id=&kat\\_id?=htm](http://republika.co.id/koran_detail.asp?id=147302&kat_id=318&kat_id=&kat_id?=htm). Diakses tanggal 27 Maret 2006 pukul 19:57. 2 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>d</sup>. Misteri Zat Mayat di Dalam Makanan. Forum Keadilan Nomor 36. Edisi 8 Januari 2006.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>e</sup>. Di Balik Kenikmatan Ikan Asin. <http://www.liputan6.com/view/8,112401,1,0,1135810032.html>. Diakses tanggal 27 Maret 2006 pukul 20:01. 2 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>f</sup>. Waspada Formalin dan Boraks. <http://www.litbang.depkes.go.id/aktual/formalin/formalin110106.htm>. Diakses tanggal 27 Maret 2006 pukul 20:11. 2 hal.
- \_\_\_\_\_. 2006<sup>g</sup>. Awas Formalin di Plastik Makanan. [http://www.republika.co.id/koran\\_detail.asp?id=231858&kat\\_id1=&kat\\_id2](http://www.republika.co.id/koran_detail.asp?id=231858&kat_id1=&kat_id2). Diakses tanggal 11 Agustus 2006 pukul 18:50. 3 hal.

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 229 hal.
- Astuti, M. 1986. Uji Gizi I. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 57 hal.
- Barbour B. and C. Packers. 1962. Collected Method Pacific Fisheries Technologists. p.7a. Kanada
- Barry, J.L. and Tome D. 1991. Formaldehyde Content of Milk in Goats Fed Formaldehyde Treated Soybean Oilmeal. Food Additive Contam 8: 633-640 pp.
- BBPOM. 2005. Awas Formalin di Plastik Makanan. [http://www.republika.co.id/koran\\_detail.asp?id=231858&kat\\_id1=&kat\\_id2](http://www.republika.co.id/koran_detail.asp?id=231858&kat_id1=&kat_id2). Diakses tanggal 11 Agustus 2006 pukul 18:50. 3 hal.
- Bolt, H.M. 1987. Experimental Toxicology of Formaldehyde. J Cancer Res Clin Oncol 113. 305-309 pp.
- Bowen I.D and R A Lockshin. 1981. Cell Death in Biology and Pahtology. Britis Library in Cataloguing Data. London. Chapman and Hall. Hlm 9-29.
- Casanova Schimitz M, Raymond MD, Heck H d'A. 1984. Oxidation Of Formaldehyde Ald Acetaldehyde By NAD Dependent Dehydrogenases In Rat Nasal Mucosal Homogenates. Biochem Pharmacol 33:1137-1142.
- Damjanov 2000. Histopatologi. Alih Bahasa B U Pendit. (Ed) M Himawan. Jakarta. Widya Medika. Hlm 1-20.
- Develander, G dan J.A Ramaley. 1980. Dasar-dasar Histologi. Edisi Kedelapan. Alih Bahasa : Dr. Ir. Wisnu Gunarso. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hal 287
- Djojopranoto, M. 1963. Buku Peladjaran Patologi. Djilid 1. Dasar-dasar Patologi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. 183 hal.
- Effendie, M. I. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta. 163 hal.
- Harrison, K. Methanal. 2005. <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=101>. Diakses tanggal 9 Januari 2006 pukul 14:59. 1pp
- Heck, H, Chin T.Y., and Schmitz, M.C. 1983. Distribution of [<sup>14</sup>C] Formaldehyde in Rats After Inhalation Exposure. In: Gibson J.E, ed. Formaldehyde toxicity. Hemisphere Publishing Corporation. Washington, DC. 26-37 pp.



- Instanref. 2006. Chemical, Toxicity, Safety and Enviromental Analysis Information for Formaldehyde. <http://instrantref.com/formald.htm>. Diakses tanggal 4 Februari 2006 pukul 11:43. 2pp
- Judarwanto, W. 2006. Ancaman Formalin Bagi Kesehatan. <http://www.distan.pemda-diy.go.id/index.php?option=content&task=view&id=186.htm>. Diakses tanggal 23 Juli 2006 pukul 07:27. 4 hal.
- Kiernan, J.A. 2000. Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde and Glutaraldehyde : What They are and What They Do. <http://publish.uwo.cankiernan/formglut.htm>. Diakses tanggal 21 Juni 2006 pukul 08.45. 1-2 pp
- Krishnan, K, and Andersen, M.E. 1994. Physiologically Based Pharmacokinetic Modelling In Zoxicology. In :Hayes AW, ed. Principles And Methods of Toxicology. Raven Press Ltd. New York. 149-188 pp
- Maulany, R. 2006. Bahaya Formalin dalam Makanan. <http://www.ranesi.nl/tema/pengetahuan/kesehatan050926>. Diakses tanggal 14 September 2006 pukul 12:32. 1 hal.
- Medicastore. 2007. Pembesaran Limpa. [http://www.medicastore.com/med/detail\\_pyk.php?=&iddtl=163&idktg=12&idobat=&UID=20070417074058124.81.53.2.htm](http://www.medicastore.com/med/detail_pyk.php?=&iddtl=163&idktg=12&idobat=&UID=20070417074058124.81.53.2.htm). Diakses tanggal 17 April 2007 pukul 07:42. 3 hal
- Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 216 Hal.
- Nasional Research Council (NRC). 1978. Nutrient Requirements of Sciences. Washington DC.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 622 hal.
- Nurachman, Z. 2006. Formalin. Gatra 21 Januari 2006. hal 2.
- Price, S.A dan L.M Wilson.1982. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Bagian 2. Edisi 2. Alih Bahasa : Adji Dharma. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 486 hal
- \_\_\_\_\_.1985. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Bagian 1. Edisi 2. Alih Bahasa : Adji Dharma. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 645 hal

- Sitompul, S. M dan Bambang G. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. UGM Press. Yogyakarta.72 hal.
- Small, N.E. 2004. Using Activities for Reaction Kinetics. <http://chemical.good.uk/people/jack/Projects/proj2003.net/small.LAP.doc>. Diakses pada tanggal 18 Juli 2006 pukul 10:11. 7 pp
- Soentoro, S.H. 1983. Metode Pewarnaan. Bharathara Karya Aksara. Yakarta. 394 hal.
- Sudarmadji, S, B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta. 160 hal.
- Suryati, E. 2006. Formalin Sebabkan Gangguan Menstruasi & Infertilitas Wanita. <http://cybermed.cbn.net.id/detil.asp?kategori=Health&newsno=3478>. Diakses tanggal 11 Agustus 2006 pukul 19:09. 2 hal.
- Susanti, W. 2004. Pengaruh Konsentrasi Dan Pemberian Tepung Agar-agar (*Gracilaria* sp) Terhadap Kadar Lipid Serum Darah Tikus Putih Wistar (*Rattus novergicus*). Skripsi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak diterbitkan. Hal 47.
- Susanto, T. 2006. Patologi Umum dan Mekanisme Penyakit. [http://elearning.unej.ac.id/claroline/course\\_description12cidReq=IKUd302.htm](http://elearning.unej.ac.id/claroline/course_description12cidReq=IKUd302.htm). Diakses tanggal 17 April 2007 pukul 08:01. 22 hal
- Syam, A.F. 2006. Formalin Sangat Berbahaya untuk Kesehatan Manusia. [http://www.imterna.or.id/special/spe\\_foralin.html](http://www.imterna.or.id/special/spe_foralin.html). Diakses tanggal 4 Februari 2006 pukul 12:10. 1 pp.
- Tox Probe, 2006. Formaldehyde. [http://www.Toronto.ca/health/pdf/cr\\_appendix.b\\_Formaldehyde.pdf](http://www.Toronto.ca/health/pdf/cr_appendix.b_Formaldehyde.pdf). Diakses tanggal 8 Januari 2006 pukul 11:45.1-3pp
- Waddil, C.T. 2006. Facts About Formaldehyde. [http://www.healthgoodscom/Education/Healthy\\_HomeInformation/Indoor\\_Air\\_Quality/facts\\_formaldehyde.htm](http://www.healthgoodscom/Education/Healthy_HomeInformation/Indoor_Air_Quality/facts_formaldehyde.htm). Diakses tanggal 4 Februari 2006 pukul 10:49. 2-3pp.
- Wasito. 1991/1992. Hewan Model Dalam Uji Gizi. Pusat Antar Universitas. Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 175 hal.
- Widaryana, I. D. M. 2006. Formalin Yang Kontroversial. <http://www.distan.pemandiy.go.id/index.php?option=content&task=view&id=186.htm>. Diakses tanggal 27 Maret 2006 pukul 20:07. 3 hal.
- Widaya, H. T. P. 2006<sup>a</sup>. Awas Formalin di Plastik Makanan. [http://www.republika.co.id/koran\\_detail.asp?id=231858&kat\\_id1=&kat\\_id2](http://www.republika.co.id/koran_detail.asp?id=231858&kat_id1=&kat_id2). Diakses tanggal 11 Agustus 2006 pukul 18:50. 3 hal.

\_\_\_\_\_.2006<sup>b</sup>. Formalin Terbukti Picu Kanker.  
<http://cybermed.cbn.net.id/detil.asp?kategori=Health&newsno=3481>. Diakses  
tanggal 1 Agustus 2006 pukul 19:27.2 hal.

Wikanta, T. Khaerani dan L. Rahayu. 2003. Pengaruh Pemberian Natrium Alginat Pada Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Volume 8 Nomor 6. hal 22-23.

Wikipedia. 2006. Formaldehyde.<http://en.wikipedia.org/wiki/Formaldehyde>. Diakses  
tanggal 5 Januari 2006 pukul 11:52. 6 pp.

Winarno, F. G. 1988. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 249 hal.

Winarno, F. G. 1993. Formalin – Boraks : Dalam Tahu, Mie dan Bakso. Harian Suara Pembaruan. Edisi Mei 1993. 15 hal.

Yitnosumanto, S. 1993. Percobaan Analisis dan Interpretasinya. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 299 Hal.

Yuswanto. 2006. Formalin di Makanan Tak Berbahaya.  
[http://www.jawapos.co.id/index.php?act=detail\\_radar&id=113163.&](http://www.jawapos.co.id/index.php?act=detail_radar&id=113163.&). Diakses  
tanggal 20 Januari 2006 pukul 09:32. 2 hal.

