

**PENGARUH KONSUMSI CUMI - CUMI ASIN (*Loligo Pealei*)
BERFORMALIN TERHADAP PERTUMBUHAN BERAT BADAN
DAN ORGAN DALAM TIKUS PUTIH WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

**OLEH :
MONIKA SANTY
NIM. 0410832011**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN
MALANG
2007**



RINGKASAN

Monika Santy. Skripsi Tentang Pengaruh Konsumsi Cumi – cumi Asin (*Loligo pealei*) Berformalin Terhadap Pertumbuhan Berat Badan dan Organ Dalam Tikus Putih Wistar (*Rattus norvegicus*) dibawah bimbingan **Ir. J.A. Sumardi, MS dan Dr. Ir. Hardoko, Ms.**

Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet pada makanan menimbulkan resiko yang sangat besar karena formalin bersifat karsinogenik apabila digunakan sebagai bahan pengawet pangan. Penggunaan formalin pada produksi hasil perikanan dengan proses pengolahan produk setengah basah dipasaran hampir semua jenis ikan dapat diolah dan diawetkan menjadi ikan asin, termasuk cumi - cumi, udang, daging kerang, teripang dan sebagainya (Hadiwiyoto, 1983). Cumi - cumi asin berformalin pada kisaran residunya yang ada di pasaran sebesar 0.2% -1.3 %. (Elvandari, 2007). Tujuan penelitian secara umum, penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian cumi - cumi asin berformalin terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam pada tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*). Secara khusus : Untuk mendapatkan pengaruh pemberian konsumsi cumi - cumi asin berformalin pada konsentrasi sebesar (5%, 10%, 15%, dan 20%) selama 2 bulan terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam pada tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) dan Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan Januari - Maret 2007.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh konsumsi cumi asin (*Loligo pealei*) berformalin dirancang dengan menggunakan dua faktor, yang terdiri dari faktor pertama adalah lamanya konsumsi ransum tepung cumi - cumi asin berformalin yaitu selama satu (A1) dan dua (A2) bulan, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi formalin yaitu: (B1). 0%; (B2). 5%; (B3). 10%; (B4) 15%; dan (B5). 20%, sehingga diperoleh perlakuan kombinasi = $2 \times 5 = 10$ perlakuan dan dengan ulangan 3 kali.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa (konsentrasi 20% : 0% lebih rendah bila dibandingkan dengan konsentrasi 0% : 20%) maka semakin rendah rata - rata jumlah pakan yang di konsumsi tikus. Hal ini memperlihatkan bahwa selera makan tikus berkurang dengan bertambahnya kadar tepung cumi asin berformalin dalam pakan. Sehingga besarnya persentase tepung cumi asin berformalin (0% : 20%) akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan tikus baik pada waktu pemeliharaan tikus selama 1 bulan maupun 2 bulan, tingginya kandungan formalin dalam ransum perlakuan konsumsi dalam jangka waktu yang lama mengakibatkan formalin terakumulasi dalam tubuh tikus sehingga terjadi kerusakan anatomi jaringan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsumsi cumi - cumi asin berformalin terhadap kesehatan dan efek yang ditimbulkan pada jaringan organ dalam tikus dalam jangka waktu yang lebih lama.

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan skripsi. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis panjatkan banyak terimakasih 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. Ir. Hartati Kartika Ningsih, MS dan Ir. Happy Nursam, MS selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penulisan laporan.
4. Kedua orang tua dan adikku yang selalu mendoakan dengan penuh kesabaran dan dorongan semangat.
5. Seluruh Staf Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas (PAU) dan Laboratorium Patologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta yang telah memberikan fasilitas selama penelitian.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang sifatnya membangun. Penulis berharap semoga karya tulis ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang berminat dan memerlukan.

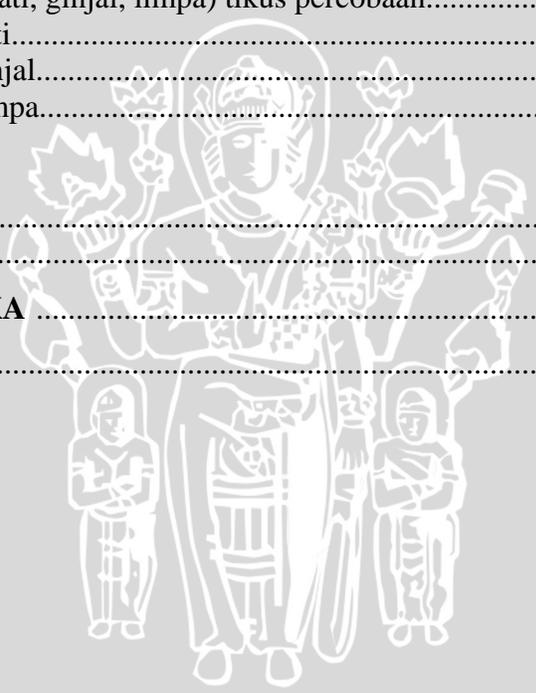
Malang, Agustus 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Kegunaan Penelitian	4
1.5. Hipotesa	4
1.6. Tempat dan Waktu	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Cumi - cumi (<i>Loligo Pealei</i>).....	5
2.1.1. Komposisi kimia cumi - cumi (<i>Loligo pealei</i>).....	5
2.1.2. Cumi- cumi asin.....	6
2.2. Formalin	8
2.2.1. Tinjauan Umum	8
2.2.2. Sifat fisik dan kimia formalin	9
2.2.3. Penyalahgunaan formalin sebagai pengawet makanan.....	11
2.2.4. Toksisitas formalin.....	12
2.2.5. Ambang batas penggunaan formalin	14
2.2.6. Mekanisme formalin dalam tubuh.....	14
2.2.7. Biotransformasi formalin.....	16
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	18
3.1. Bahan	18
3.1.1. Bahan yang diuji	18
3.1.2. Bahan untuk ransum pakan	18
3.1.3. Bahan untuk analisis kimia	19
3.2. Alat	19
3.3. Metode Penelitian	21
3.3.1. Prosedur penelitian	23
3.3.1.1. Preparasi bahan uji	23
3.3.1.2. Pembuatan ransum	24
3.3.1.3. Prosedur pelaksanaan percobaan	25
3.3.2. Parameter uji	27

3.3.2.1. Analisis proksimat tepung cumi - cumi asin, ransum standar dan ransum perlakuan	28
3.3.2.2. Analisis residu formalin dalam ransum	33
3.3.2.3. Jumlah ransum yang dikonsumsi dan berat tikus	35
3.3.2.4. Analisis organ	36
3.4. Analisis Data.....	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4. Pengaruh cumi-cumi berformalin pada ransum tikus	39
4.1.1 Ransum pakan tikus.....	39
4.1.1 Analisa proksimat ransum.....	39
4.1.3 Jumlah konsumsi tikus.....	46
4.1.4 Berat badan tikus.....	52
4.1.5 Laju pertumbuhan.....	55
4.2. Pengaruh konsumsi ransum pakan berformalin terhadap berat dan kondisi organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus percobaan.....	60
4.2.1 Organ Hati.....	60
4.2.2 Organ Ginjal.....	69
4.2.3 Organ Limpa.....	76
5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	84
5.2 Saran.....	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	90



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daftar komposisi kimia cumi - cumi (<i>Loligo Pealei</i>)	5
2. Komposisi garam kelas 1, 2, dan 3.....	7
3. Sifat - sifat umum formaldehid	10
4. Kandungan formalin pada makanan di Jakarta.....	12
5. Denah rancangan faktor perlakuan	22
6. Komposisi ransum pakan tikus	25
7. Komposisi gizi tepung cumi - cumi (<i>Loligo pealei</i>)	39
8. Analisis proksimat ransum standar dan ransum perlakuan.....	40
9. Kandungan formalin pada ransum perlakuan (%)......	43
10. Penurunan konsentrasi formalin setelah menjadi ransum pakan	45
11. Data rata-rata jumlah pakan yang dikonsumsi tikus 1 dan 2 bulan.....	50
12. Data rata - rata berat badan tikus pada pemberian pakan 1 dan 2 bulan.....	53
13. Data rata - rata laju pertumbuhan berat badan tikus pada pemberian pakan 1 dan 2 bulan.....	59
14. Data presentase perbandingan antara berat organ hati dengan berat badan.....	61
15. Hasil diagnosa pada hati tikus kontrol dan perlakuan.....	62
16. Presentase perbandingan antara berat organ ginjal dengan berat badan.....	69
17. Hasil diagnosa pada ginjal tikus kontrol dan perlakuan.....	70
18. Hasil diagnosa pada limpa tikus kontrol dan perlakuan.....	77
19. Presentase perbandingan antara berat organ limpa dengan berat badan.....	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia formaldehid.....	9
2. Proses pembuatan tepung cumi - cumi asin berformalin	23
3. Prosedur kerja penelitian.....	27
4. Prosedur pembuatan kurva standar formaldehid.....	35
5. Reaksi formaldehid dengan protein.....	41
6. Grafik jumlah konsumsi rata - rata selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.....	48
7. Histogram jumlah pakan yang dikonsumsi tikus.....	51
8. Grafik berat badan tikus selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.....	52
9. Histogram berat badan tikus selama pemeliharaan I bulan dan 2 bulan.....	54
10. Grafik laju pertumbuhan berat badan tikus selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.....	57
11. Histogram laju pertumbuhan berat badan tikus.....	58
12. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (1bulan).....	63
13. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (15%:5%) normal (1 bulan).....	63
14. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (10%:10%) normal (1 bulan).....	63
15. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (5%:15%)(1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	63
16. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (0%:20%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	64
17. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (2 bulan).....	64
18. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (15%:5%) normal (2 bulan).....	64
19. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (10%:10%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	64
20. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (15%:15%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).....	65

21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (0%:20%) (2 bulan) yang mengalami infiltrasi glikogen (IG).....	65
22. Histogram berat organ hati tikus.....	67
23. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol (1 bulan).....	71
24. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15%:5%) normal (1 bulan).....	71
25. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10%:10%) normal (1 bulan).....	71
26. Struktur histologis jaringan hati ginjal perlakuan (10%:15%) normal (1 bulan).....	71
27. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)	72
28. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (2 bulan).....	72
29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA).....	72
30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA).....	72
31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (5%:15%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA).....	73
32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0%:20%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA).....	73
33. Histogram berat organ ginjal tikus.....	75
34 Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (1 bulan).....	79
35. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15% : 5%) normal (1 bulan).....	79
36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10% : 10%) normal (1 bulan).....	79
37. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (5% : 15%) normal (1 bulan).....	79
38. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0% : 20%) normal (1 bulan).....	80
39. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (2 bulan).....	80
40. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15% : 5%) normal (2 bulan).....	80
41. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10% : 10%) normal (2 bulan).....	80

42. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (5% : 15%) normal (2 bulan)..... 81

43. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0% : 20%) normal (2 bulan)..... 81

44. Histogram berat organ limpa tikus..... 82



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi mineral <i>mix</i> dalam 1000 g	90
2. Komposisi vitamin "Superviton" setiap 2 kaplet	91
3. Perhitungan jumlah tepung cumi asin yang dibutuhkan sebagai pengganti kasein	92
4. Perhitungan kasar jumlah residu formalin yang berada pada ransum.....	94
5. Perhitungan pembuatan larutan formalin 7,5%.....	95
6. Kurva standar formaldehid.....	96
7. Hasil analisis jumlah pakan yang dikonsumsi tikus.....	97
8. Hasil analisis berat badan tikus.....	102
9. Hasil analisis laju pertumbuhan tikus.....	107
10. Hasil analisis berat organ dalam tikus hati.....	112
11. Hasil analisis berat organ dalam tikus limpa.....	117
12. Hasil analisis berat organ dalam tikus ginjal.....	122
13. Data berat organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus wistar (%).....	127
14. Hasil analisis homogenitas berat badan hari ke-0.....	128
15. Data berat badan tikus I bulan tiap tiga hari (g).....	130
16. Data laju pertumbuhan tikus tiap tiga hari (g/hari).....	131
17. Data pakan tikus tiap tiga hari (g /g berat badan/hari).....	132
18. Dokumentasi foto selama penelitian.....	133
19. Dokumentasi foto pembuatan tepung cumi-cumi asin.....	135
20. Dokumentasi foto analisa organ jaringan.....	137

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Beberapa hari terakhir kembali marak di beritakan penggunaan formalin dalam bahan makanan yang dijual di pasaran. Berdasarkan hasil penyelidikan Balai Pengawasan Obat dan Makanan (Balai POM) membuktikan bahwa tahu, mi basah, ayam potong, bakso, ikan asin, cumi dan jenis ikan lainnya adalah sebagian jenis makanan dengan kandungan formalin berkadar tinggi yang beredar dimasyarakat (Anonymous, 2006^a).

Cumi - cumi biasanya diolah dalam bentuk beku tetapi dapat juga diolah dalam berbagai cara pengolahan. Berdasarkan data statistik perikanan tahun 2000 produk Cephalopoda di Indonesia berjumlah 55.753 ton yang terdiri dari cumi - cumi 39.838 ton, sotong / bekuthak 11.945 ton dan gurita 1.985 ton (Mangunsong, 2003). Penggunaan formalin pada produksi hasil perikanan dengan proses pengolahan produk setengah basah dipasaran hampir semua jenis ikan dapat diolah dan diawetkan menjadi ikan asin, termasuk cumi - cumi, udang, daging kerang, teripang dan sebagainya (Hadiwiyoto, 1983). Cumi - cumi asin berformalin pada kisaran residunya yang ada di pasaran sebesar 0.2% -1.3 %. (Elvandari, 2007).

Proses pengasinan ikan asin meliputi penyiangan, pencucian, penggaraman dan pengeringan. Penggaraman dapat dilakukan dengan 4 cara yaitu penggaraman basah, penggaraman kering, pelumuran garam (*Kench salting*) dan penggaraman diikuti dengan proses perebusan. Garam merupakan faktor utama dalam proses penggaraman ikan. Sebagai bahan pengawet dalam proses penggaraman, kemurnian garam sangat mempengaruhi mutu ikan asin yang dihasilkan. Secara garis besar selama proses

penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari dalam tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi. Afrianto dan Liviawaty (1989),

Secara umum makanan yang mengandung formalin mempunyai ciri - ciri tidak mudah busuk dan selalu segar. Pada produk perikanan disinyalir sudah tersentuh formalin sejak ikan masih diatas kapal. Ikan tersebut menjadi tidak mudah busuk, kelihatan menjadi lebih bersih, sisik mengkilap, dagingnya agak kenyal dan tidak dihinggapai lalat (Anonymous, 2005^b). Alasan ekonomi menjadi pangkal dari penyalahgunaan zat kimia berbahaya ini, selain itu mudah untuk mendapatkan formalin dan harga yang murah (Anonymous, 2005^c).

Formalin adalah bahan kimia yang memiliki manfaat sekaligus membahayakan dengan pemakaian yang tidak tepat. Pada tahun 1993 masalah formalin dalam makanan menjadi berita utama (Winarno, 1993). Dalam International Programme on Chemical Safety (IPCS) disebutkan bahwa toleransi formaldehid yang dapat diterima oleh tubuh dalam bentuk air minum 0,1 mg/L atau dalam satu hari asupan yang dibolehkan adalah 0,2 mg/kg berat badan. Jika kadarnya dibawah itu maka bisa dikeluarkan dari dalam tubuh, sedangkan kalau lebih dari itu secara otomatis akan tertinggal dalam tubuh dan berikatan dengan protein tubuh yang dapat menyebabkan kanker (Wulan, 2005).

Penggunaan formalin tidak mengkhawatirkan sebagai pengawet makanan, namun juga tidak menyarankan formalin sebagai pengawet makanan. Pada saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein - protein dalam makanan. Jika semua formaldehid habis bereaksi maka sifat racun formalin hilang. (Nurachman, 2006). Namun menurut Judarwanto (2006), apabila tertelan ke dalam mulut maka dapat terjadi kerusakan hati, jantung, otak limpa, pankreas, sistem

susunan syaraf pusat dan ginjal. Menurut Koeman (1998), hati dan ginjal rentan terhadap pengaruh cukup banyak zat kimia. Kerentanan itu sebagian dapat diterangkan berdasarkan posisinya dalam sirkulasi cairan badan. Seperti diketahui, hati dapat mudah berhubungan melalui vena portae dengan zat yang diserap dari lambung usus dan ginjal, karena fungsi ekskresinya berhubungan erat sekali dengan darah dan zat yang terdapat di dalamnya.

1.2 Perumusan Masalah

Penggunaan formalin pada bahan pangan sangat di sesalkan karena formalin merupakan bahan kimia berbahaya yang bersifat karsinogenik (penyebab kanker) dan mutagen (menyebabkan fungsi sel dan jaringan). Pemakaian formalin pada bahan makanan sebagai bahan pengawet sekaligus pengeyal makanan. (Widyaningsih, 1996). Penggunaan formalin pada produksi hasil perikanan dengan proses pengolahan produk setengah basah dipasaran hampir semua jenis ikan dapat diolah dan diawetkan menjadi ikan asin, termasuk cumi - cumi, udang, daging kerang, teripang dan sebagainya (Hadiwiyoto, 1983). Cumi - cumi asin berformalin pada kisaran residunya yang ada di pasaran sebesar 0.2% -1.3 %. (Elvandari, 2007).

Berdasarkan gambaran diatas, permasalahan yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah : Apakah pemberian cumi - cumi asin berformalin pada konsentrasi (5%, 10%, 15%, dan 20%) selama 2 bulan akan menimbulkan pengaruh terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum, penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian cumi - cumi asin berformalin terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam pada tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*).

Adapun tujuan penelitian secara khusus :

1. Untuk mendapatkan pengaruh pemberian konsumsi cumi - cumi asin berformalin pada konsentrasi sebesar (5%, 10%, 15%, dan 20%) selama 2 bulan terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam pada tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*).
2. Untuk memperoleh konsentrasi cumi - cumi asin berformalin yang akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan sehingga terjadi kerusakan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*).

1.4 Kegunaan Penelitian

Memberikan informasi / bukti bagi peneliti dan masyarakat tentang ada / tidaknya pengaruh mengkonsumsi cumi - cumi asin berformalin pada kisaran residu yang terdapat dipasaran terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam pada tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*).

1.5 Hipotesis

Diduga bahwa pada pemberian cumi - cumi asin berformalin pada konsentrasi (5%, 10%, 15%, dan 20%) selama 2 bulan terhadap pertumbuhan berat badan dan organ dalam tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) dan Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan Januari - Maret 2007.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cumi - cumi (*Loligo pealeii*)

2.1.1 Komposisi kimia cumi - cumi (*Loligo pealeii*)

Cumi - cumi mengandung beberapa komponen gizi yang penting antara lain protein, lemak, karbohidrat, air dan vitamin serta beberapa mineral seperti kalsium, besi, fosfor yang dibutuhkan manusia. Adapun komposisi kimia cumi - cumi (*Loligo pealeii*) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Daftar komposisi kimia cumi - cumi (*Loligo pealeii*)

Komponen	Prosentase / 100 gram
Energi	278 Kal
Protein	13,1 gr
Lemak	1,5 gr
Abu	2 gr
Air	84,2 gr
Karbohidrat	0 gr
Kalsium	13 mg
Fosfor	170 mg
Besi	0,2 mg
Vitamin B ₁₂	2,5 µg
Vitamin C	0 mg
Thiamin	0,05 mg

Sumber : Holland *et al.* (2001).

Nilai kalori dari cumi - cumi diukur setelah pengeringan dan kemudian dihitung nilai kalorinya untuk kebutuhan komponen makanan bagi konsumsi manusia dan ditunjukkan dalam satuan prosentase per 100 gram. Dalam perhitungan nilai kalori dari protein, lemak dan karbohidrat, untuk koefisien air adalah 1 gram lemak adalah 9 kal, untuk 1 gram protein adalah 4 kal dan untuk 1 gram karbohidrat adalah 4 kal.

karbohidrat dihitung dari perbedaan pengukuran setelah substraksi dari 100 persen jumlah kandungan protein, lemak, air dan abu. (Dabrowski, 1970).

Mutu cumi - cumi (*Loligo pealei*) merupakan salah satu produk perikanan yang mudah rusak. Hal ini disebabkan oleh kandungan air yang cukup tinggi yaitu sekitar 70 - 80%. Proses pembusukan pada ikan terutama disebabkan oleh aktivitas enzim yang terdapat didalam tubuh ikan itu sendiri. Aktivitas mikroorganisme atau proses oksidasi lemak oleh oksigen dari udara (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Kandungan gizi yang banyak terkandung dalam cumi - cumi ini , membuat spesies ini menjadi pilihan yang baik untuk konsumsi makanan manusia semua umur, tidak hanya untuk anak - anak dan balita. Seperti halnya makanan laut yang lain yang mengandung 25% protein dengan kandungan rata - rata 19g/100g. Dalam sebuah penelitian, kisaran kandungan dalam spesies ini mencapai 13,4 - 21,5% yang merupakan batas bawah dan atas dari kandungan rata - rata makanan laut. (Anonymous, 2004).

2.1.2 Cumi - cumi asin

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1989), proses pembuatan ikan asin meliputi penyiangan, pencucian, penggaraman dan pengeringan. Penggaraman dapat dilakukan dengan 4 cara yaitu penggaraman basah, penggaraman kering, pelumuran garam (*Kench salting*) dan penggaraman diikuti dengan proses perebusan. Garam merupakan faktor utama dalam proses penggaraman ikan. Sebagai bahan pengawet dalam proses penggaraman, kemurnian garam sangat mempengaruhi mutu ikan asin yang dihasilkan. Secara garis besar selama proses penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari dalam tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi.

Cairan ini dengan cepat akan mengencerkan larutan garam. Bersamaan dengan keluarnya cairan dari dalam tubuh ikan, partikel garam memasuki tubuh ikan. Lama kelamaan kecepatan proses pertukaran garam dan cairan tersebut semakin lambat dan sampai akhirnya terhenti sama sekali setelah terjadi keseimbangan konsentrasi garam di dalam dan di luar tubuh ikan. Untuk mendapatkan ikan asin yang bermutu baik harus digunakan garam murni, yaitu garam dengan kandungan NaCl cukup tinggi (95%) dan sedikit sekali mengandung elemen - elemen yang dapat menimbulkan kerusakan (Magnesium dan Calcium), seperti yang sering dijumpai pada garam rakyat. Afrianto dan Liviawaty (1989).

Menurut Murniyati dan Sunarman (2000), penggaraman ikan merupakan cara pengawetan ikan yang banyak dilakukan diberbagai negara. Ikan yang diawet dengan garam kita sebut ikan asin. Garam yang dipakai adalah garam dapur (NaCl), baik yang berupa kristal maupun yang berupa larutan. Fungsi pengawet yang dilakukan oleh garam berjalan melalui: menunda autolisis, dan membunuh bakteri secara langsung.

Tabel 2. Komposisi garam kelas 1, 2 dan 3

Unsur	Kandungan (%)		
	Garam kelas 1	Garam kelas 2	Garam kelas 3
NaCl	96	95	91
CaCl ₂	1	0,9	0,4
MgSO ₄	0,2	0,5	1
MgCl ₂	0,2	0,5	1,2
Bahan tak larut	-	Sangat sedikit	0,2
Air	2,6	3,1	0,2

Sumber: Murniyati dan Sunarman. (2000)

Tepung ikan memiliki kandungan protein yang tinggi dan komposisi asam amino yang cukup seimbang, sehingga tepung ikan merupakan bagian penting terutama untuk

makanan ayam, babi, maupun ikan. Bahkan berdasar hasil percobaan yang telah dilakukan, ternyata ikan dapat tumbuh lebih cepat bila dalam makanannya di tambahkan tepung ikan sebesar 10 - 40%, Komposisi tepung ikan tidak hanya tergantung pada spesies ikan yang digunakan, tetapi juga dipengaruhi oleh bentuk dan kualitas bahan baku yang digunakan (Afrianto dan Liviawaty,1989).

2.2 Formalin

2.2.1 Tinjauan umum

Formalin adalah nama dagang dari larutan formaldehid dalam air dengan kadar 36 - 40%. Biasanya mengandung alkohol (metanol) sebanyak 10 - 15% yang berfungsi sebagai stabilisator supaya formaldehidnya tidak mengalami polimerisasi. Di pasaran biasanya diperoleh dalam bentuk sudah diencerkan, dengan kadar formaldehid 30, 20 dan 10%. Disamping dalam bentuk cairan, ada juga dalam bentuk tablet yang masing-masing mempunyai berat 5 gram (Anonymous, 2005^c).

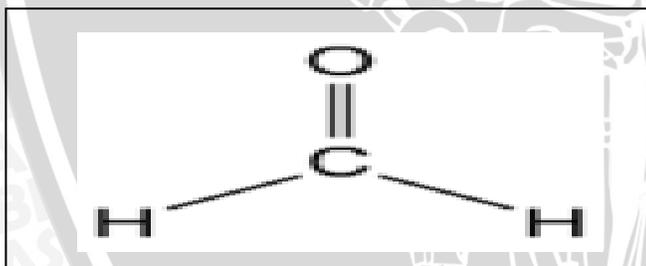
Formalin berasal dari larutan formaldehid dalam air dan pelarut lain, umumnya methanol yang berfungsi sebagai stabilisator, mempunyai cara yang unik dalam sifatnya sebagai desinfektan. Formaldehid membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam tubuh bakteri dehidrasi (kekurangan air), sehingga sel bakteri akan kering dan membentuk lapisan baru di permukaan, artinya formalin tidak saja membunuh bakteri tetapi membentuk lapisan baru yang melindungi lapisan dibawahnya, supaya tahan terhadap serangan bakteri lain (Anonymous, 2005^a).

Formalin biasanya di perdagangkan dipasaran dengan nama berbeda - beda antara lain : *formol, morbicid, methanal, formic aldehyde, methyl oxide, oxymethylene, methylene aldehyde, oxomethane, formoform, formalith, kersan, methylene glycol,*

paraforin, polyoxymethylene glycols, superlysoform, tetraoxymethylene, trioxane
(Anonymous, 2005^b).

2.2.2. Sifat fisik dan kimia formalin

Menurut Winarno (1993), formaldehid mudah larut dalam air sampai kadar 55%, sangat efektif dalam suasana alkalis, serta bersifat sebagai zat pereduksi yang kuat, mudah menguap karena titik didihnya rendah yaitu -21°C . 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 H_2CO . Untuk membatasi polimerisasinya, larutan ini ditambah beberapa persen metanol (Wikipedia, 2006). Adapun struktur kimia formaldehid dapat dilihat pada Gambar 1 dan sifat - sifat umum formaldehid pada Tabel 2.



Gambar 1. Struktur kimia formaldehid
(Harrison, 2005)

Tabel 3. Sifat - sifat umum formaldehid

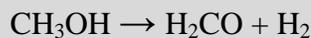
Sifat - Sifat Umum Formaldehid	
Rumus molekul	CH ₂ O
Densitas dan fase	1 g / m ³ , gas
Kelarutan dalam air	>100 g / 100 ml (20 ⁰ C)
Kelarutan dalam ethanol,acethon dan DMSO	>100 g / 100 ml
Kelarutan dalam ether, benzene dan pelarut organik	Larut
Kelarutan dalam kloroform	Tidak larut
Titik cair	-117 °C (156 °K)
Titik didih	-19,3 °C (253,9 °K)

Sumber : Anonymous (2006^c)

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 250⁰C dan menghasilkan formaldehid, berdasarkan persamaan kimia :



Katalis yang menggunakan perak biasanya dijalankan dalam hawa yang lebih panas, kira-kira 650⁰C, dalam keadaan begini akan ada dua reaksi kimia sekaligus yang menghasilkan formaldehid : satu seperti yang di atas, sedangkan satu lagi adalah reaksi dehidrogenasi. Reaksinya seperti di bawah ini:



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).

2.2.3. Penyalahgunaan formalin sebagai pengawet makanan

Formalin bisa mengawetkan bahan makanan dalam jangka waktu yang cukup lama, selain itu bahan ini juga murah dan mudah didapat sehingga formalin merupakan bahan pengawet yang benar - benar ekonomis dan efisien (Anonymous, 2005^d).

Sebenarnya makanan berformalin dapat dibedakan secara kasat mata. Sebab secara umum makanan tersebut mempunyai ciri yang tidak mudah busuk dan selalu segar. Pada ikan biasanya cairan formalin membuat hewan laut tersebut mempunyai insang yang lebih merah, daging yang lebih kenyal dan lebih awet (Anonymous, 2006^a).

Formalin merupakan salah satu bahan pengawet yang akhir - akhir ini menjadi berita yang demikian gencar. Padahal penggunaannya pada makanan bukan hal baru dan sudah lama (Anonymous, 2005^c). 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 tahu yang tidak mengandung formalin.
- Tahu : tahu yang bentuknya sangat bagus, kenyal, tidak mudah hancur, awet beberapa hari dan tidak mudah basi (Wikipedia, 2006) .

Tabel 4. 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

Sumber : BBPOM (2005)

2.2.4. Toksisitas formalin

Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia. Jika kandungannya dalam tubuh tinggi, akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat didalam sel sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan iritasi lambung, alergi, bersifat karsinogenik dan bersifat mutagen (menyebabkan perubahan fungsi sel / jaringan). Formalin bila menguap diudara, berupa gas yang tidak berwarna, dengan bau yang tajam menyedapkan, sehingga dapat merangsang hidung, mata dan tenggorokan. (Anonymous, 2006^d).

Formalin sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit dan tertelan. Akibat yang ditimbulkan dapat berupa luka bakar pada kulit, iritasi pada saluran pernafasan dan bahaya kanker pada manusia (Anonymous, 2006^b). Dampak formalin dapat dibedakan menjadi dua yaitu akut dan kronik. Efek pada kesehatan manusia secara akut: iritasi, alergi, kemerahan, mata berair, mual, muntah, rasa terbakar, sakit perut dan pusing. Sedangkan efek secara kronik terlihat setelah terkena dalam jangka waktu yang lama dan berulang yaitu ; iritasi kemungkinan parah, mata berair, gangguan pada pencernaan, hati, ginjal, pankreas, sistem saraf pusat (Anonymous, 2005^b).

Menurut Winarno (1993), bahwa konsumsi formalin dosis tinggi dapat mengakibatkan *konvulsi* (kejang - kejang), *haematuri* (kencing darah) dan *haematomesis* (muntah darah) yang berakhir dengan kematian. Injeksi formalin dengan dosis 100 gram dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 3 jam. Selain itu formalin tidak termasuk dalam daftar bahan makanan yang diijinkan (*additive*) pada Codex Alimentarius, maupun yang dikeluarkan oleh Depkes, jadi termasuk yang dilarang dalam makanan.

Pemakaian formalin pada bahan makanan dapat menyebabkan keracunan pada tubuh manusia. Gejala yang bisa timbul antara lain sukar menelan, sakit perut akut disertai dengan muntah - muntah, diare berdarah, timbulnya depresi susunan saraf atau gangguan peredaran darah. Formalin juga bersifat karsinogenik golongan 11 A. Golongan 1A adalah yang sudah pasti menyebabkan kanker. Sedangkan golongan 11 A baru dalam taraf duga, karena data hasil uji pada manusia masih kurang lengkap (Astawan, 2006).

Penggunaan formalin pada bahan pangan sangat di sesalkan karena formalin merupakan bahan kimia berbahaya yang bersifat karsinogenik (penyebab kanker) dan mutagen (menyebabkan fungsi sel dan jaringan). Kandungan formalin yang tinggi dalam tubuh menyebabkan iritasi lambung, alergi, keracunan dan bahkan kematian. Pelarangan penggunaannya sebagai pengawet bahan pangan telah tertuang dalam Peraturan Menteri Kesehatan (Menkes) Nomor 1168/Menkes/PER/X/1999 karena dapat membahayakan kesehatan (Anonymous, 2006^c).

2.2.5. Ambang batas penggunaan formalin

Formalin yang boleh masuk dalam tubuh melalui makanan pada orang dewasa adalah sebanyak 1.5 mg hingga 14 mg per hari (Anonymous, 2005^d).

Formaldehid secara alami sudah ada dalam bahan makanan mentah dalam kisaran 1 mg/kg hingga 90 mg/kg. *American Conference of Governmental and Industrial Hygienist* (ACGIH) menetapkan ambang batas (*treshhold limit value/TLV*) untuk *formaldehyde* 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, sedangkan yang berbahaya bagi kesehatan pada kadar 20 ppm.

Menurut Rismana (2004), formaldehid merupakan salah satu bahan kimia golongan aldehyde yang umum digunakan. Golongan aldehyde ini bekerja dengan cara denaturasi dan umum di gunakan dalam campuran air dengan konsentrasi 0,5%. Daya aksi berada dalam kisaran jam, tetapi untuk kasus formaldehid, daya aksi akan semakin jelas dan kuat bila pelarut air di ganti dengan alkohol. Formaldehid pada konsentrasi dibawah 1,5% tidak dapat membunuh ragi dan jamur, dan memiliki ambang batas konsentrasi kerja 0,5 ml/m³ atau 0,5 mg/l serta bersifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker).

2.2.6. Mekanisme formalin dalam tubuh

Formaldehid dapat masuk dalam tubuh setelah kita menghirup, meminum ataupun memakannya atau pula ketika formaldehid kontak langsung dengan kulit. Formaldehid dengan cepat terserap dari hidung dan bagian paru - paru. Begitu juga dengan formaldehid yang termakan atau terminum, ini juga akan dengan cepat terserap. Sedangkan untuk kontak dengan kulit, hanya bagian kecil saja yang terserap. Sekali

terserap, formaldehid dimetabolisme dengan sangat cepat. Hampir setiap jaringan dalam tubuh mempunyai kemampuan untuk memetabolisme formaldehid. Salah satunya membentuk asam format dan dikeluarkan melalui urine. Tubuh juga diperkirakan bisa memetabolisme formaldehid bereaksi dengan DNA atau protein untuk membentuk molekul yang lebih besar sebagai bahan tambahan DNA atau protein untuk tubuh. Formaldehid tidak disimpan dalam jaringan lemak (Anonymous, 1999^a).

Menurut Yuswanto (2006), formalin yang berada di makanan tidak berbahaya karena metabolisme formalin yang masuk ke tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO₂ dan air seni dalam waktu 1,5 menit. Secara alami setiap liter darah manusia mengandung 3 ml formalin. Sedangkan formalin yang masuk bersama makanan akan didegradasi menjadi CO₂ dan dibuang melalui alat pernapasan. Jadi meski formalin dikonsumsi dalam jangka waktu yang cukup lama, tidak akan terjadi proses akumulasi dan menyebabkan toksifikasi.

Formaldehid yang masuk ke dalam sistem sirkulasi darah tidak berbentuk sebagai molekul yang utuh, kecuali jika dosis formaldehid yang masuk ke dalam tubuh melebihi kemampuan jaringan untuk memetabolisme senyawa tersebut (Anonymous, 1999^b).

Umumnya formaldehid masuk dalam sistem sirkulasi darah dalam bentuk senyawa metabolit berupa *formate* dan karbondioksida (CO₂). Selanjutnya senyawa metabolit dari formaldehid diedarkan ke seluruh tubuh, tidak ada organ tertentu yang menimbulkan efek toksik dari formaldehid, tetapi senyawa metabolit dari formaldehid akan berikatan dengan makromolekul di dalam tubuh. Formaldehid akan mengalami metabolisme dalam hati dan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urine atau melalui saluran pernafasan dalam bentuk karbondioksida (Krishnan *et al*, 1994)

Penelitian yang dilakukan oleh Heck *et al* (1993), menemukan bahwa tikus yang di papar dengan formaldehid melalui saluran pernafasan sebesar 8 ppm selama 6 jam mengalami peningkatan konsentrasi radioaktivitas atom ^{14}C -formaldehid dalam darah selama beberapa hari setelah pemaparan (waktu tinggal 55 jam). Data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya peningkatan kadar formaldehid dalam bentuk utuh dalam darah setelah mengalami pemaparan di karenakan atom ^{14}C -formaldehid berikatan dengan makromolekul dalam tubuh. Lamanya waktu tinggal kemungkinan disebabkan hasil metabolisme formaldehid menjadi formate dan CO_2 tidak langsung diekskresi melalui urine dan paru - paru.

2.2.7 Biotransformasi formalin

Transformasi metabolik zat kimia didalam organisme kebanyakan terjadi melalui proses enzimatis. Organ terpenting untuk transformasi metabolik (biotransformasi) adalah hati. Tetapi proses ini juga terjadi dalam organ lain, diantaranya adalah ginjal, paru - paru dan kulit. Proses metabolisme biasanya terjadi melalui dua fase, fase 1 adalah senyawa asing (xenobiotika) yang umumnya bersifat racun mengalami oksidasi, reduksi atau hidrolisis (Koeman, 1988). Fungsi fase 2 ialah mengubah struktur senyawa asing untuk memasukkan gugus fungsional yang sesuai bagi reaksi konjugasi fase kedua (Donatus, 2001)

Zat - zat kimia yang masuk kedalam tubuh manusia akan mengalami beberapa proses biologik. Proses biologik ini pada umumnya merupakan aksi tubuh mengurangi toksitas zat kimia asing (xenobiotika). Transformasi metabolik adalah suatu proses dimana zat kimia diubah menjadi derivat lain (metabolit) dalam tubuh manusia. Proses ini pada umumnya akan menyebabkan terbentuknya metabolit yang lebih larut dalam

air, tidak larut dalam lemak, dan mempunyai polaritas tinggi sehingga mudah diekskresikan oleh tubuh (Siswanto, 2002)

Proses biotransformasi formaldehid dalam tubuh dapat melalui beberapa jalur. Formaldehid mengalami biotransformasi menjadi *formate* atau CO_2 . Proses biotransformasi ini dikatalisis oleh enzim glutation berlangsung dengan cara pengikatan karbon elektrofil yang terdapat pada formaldehid oleh gugus sulfihidril nukleofil yang terdapat pada GSH. Enzim *Formaldehyde Dehydrogenase* (FDH) dan *S-Formil Glutathione Hydrolase* (SFGH) mengkatalisasi perubahan formaldehid menjadi *formate*. Selanjutnya *formate* dioksidasi menjadi karbondioksida atau membentuk *Na Formate* untuk diekskresikan melalui paru dan ginjal (Anonymous, 1999^b).

Jalur metabolisme lainnya adalah formaldehid membentuk ikatan dengan *Tetra hydrofolate* (TH_4). TH_4 merupakan enzim kofaktor pada transfer karbon tunggal dalam berbagai proses oksidasi. Pada reaksi ini unit karbon tunggal dari formaldehid berikatan dengan atom N^5 atau N^{10} dari *tetrahydrofolate* (Bolt, 1987).

Formaldehid diekskresi dari tubuh sebagai senyawa metabolit terutama dalam bentuk karbon dioksida (CO_2). Penelitian yang dilakukan oleh Heck *et al* (1993), dengan menggunakan tikus sebagai hewan uji yang dipapar dengan formaldehid di ketahui bahwa 67 % formaldehid dalam bentuk metabolit diekskresi melalui feses dan sebanyak 32% diekskresikan melalui paru dalam bentuk CO_2 . Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Bary and Tome (1991), yang menambahkan formaldehid dalam ransum pakan kambing ditemukan bahwa formaldehid juga diekskresikan melalui air susu kambing tersebut.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

3.1.1 Bahan yang diuji

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cumi - cumi asin (*Loligo pealei*). Spesifikasi cumi - cumi yang digunakan yaitu dalam kondisi yang masih segar dengan panjang 10 – 12 cm ukuran berat ($\pm 0,395$ gram/ekor). Untuk bahan pembuatan cumi - cumi asin adalah garam, formalin, air dan cumi - cumi segar, yang diperoleh dari pasar ikan di Brak, Muncar - Banyuwangi. Selanjutnya direndam dengan larutan formaldehid 7,5% (v/v) selama 12 jam kemudian diproses menjadi tepung cumi. Larutan formaldehid 7,5%, dengan cara mengencerkan larutan formaldehid 37% sebanyak 84,3 ml hingga volumenya mencapai nilai 500 ml.

3.1.2 Bahan untuk ransum pakan

Pada penelitian ini terdapat 2 macam ransum tikus percobaan, yaitu ransum standar dan ransum perlakuan. Adapun bahan - bahan yang digunakan dalam pembuatan ransum pakan 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 Pusat Antar Universitas (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 $37^\circ C$ 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 Alat

Alat yang digunakan untuk membuat tepung antara lain alat pengukus, baskom plastik, blender, ayakan, loyang alumunium dan kompor. Alat yang digunakan untuk membuat ransum pakan tikus antara lain timbangan, blender, baskom plastik, cetakan pelet, loyang, alat penggiling daging dan oven.

Alat yang digunakan untuk analisis proksimat seperti timbangan analitik "Mettler Toledo" dengan kapasitas maximum 210 g dan minimum 0,01 g, kertas saring, erlenmeyer "Pyrex - Iwaki glass" 250 ml, gelas piala, gelas ukur "Pyrex - Iwaki glass" 100 ml, buret, mortar, rangkaian alat destruksi, pipet volume 25 ml, statif, bola hisap, spatula, labu destruksi, labu destilasi, peralatan untuk ekstraksi lemak (*soxhlet*), oven "Blender", desikator "Nikko" dan muffle "Nabertherm".

Alat yang digunakan untuk analisis residu formalin antara lain timbangan analitik, mortar, pipet volume 10 ml, pipet volume 25 ml, beaker glass 500 ml, kertas saring, spectrophotometer "Genesis 20" dengan panjang gelombang 520 -1000 nm.

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.

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 dari pada tikus Sprague - Dowley dan sangat mudah menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Sifatnya sangat jinak asalkan tidak diganggu (Astuti, 1986). 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.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Percobaan eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan tersebut dengan cara memberi perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen dan menyelidiki kontrol untuk pembandingan (Nasir, 1988).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh konsumsi cumi asin (*Loligo pealeii*) berformalin dirancang dengan menggunakan dua faktor, yang terdiri dari faktor pertama adalah lamanya konsumsi ransum tepung cumi - cumi asin berformalin yaitu selama satu (A1) dan dua (A2) bulan, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi formalin yaitu: (B1). 0%; (B2). 5%; (B3). 10%; (B4) 15%; dan (B5). 20%, sehingga diperoleh perlakuan kombinasi = $2 \times 5 = 10$ perlakuan dan dengan ulangan 3 kali. Secara skematis seperti tabel berikut:

1. (B1) : tikus yang diberi ransum standar 0% (kontrol)
2. (B2): tikus yang diberi ransum perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung cumi berformalin 15% : 5%.
3. (B3): tikus yang diberi ransum perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung cumi berformalin 10% : 10%.
4. (B4): tikus yang diberi ransum perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung cumi berformalin 5% : 15%.
5. (B5): tikus yang diberi ransum perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung cumi berformalin 0% : 20%.

Adapun denah rancangan faktor perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Denah rancangan faktor perlakuan

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

Tikus yang digunakan adalah sama yaitu berasal dari satu populasi (jenis, berat, umur, dan jenis kelamin) dan semua media atau tempat percobaan serta keadaan lingkungan adalah homogen. Berdasarkan perlakuan yang dilakukan maka penelitian ini dapat dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial.

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 :

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

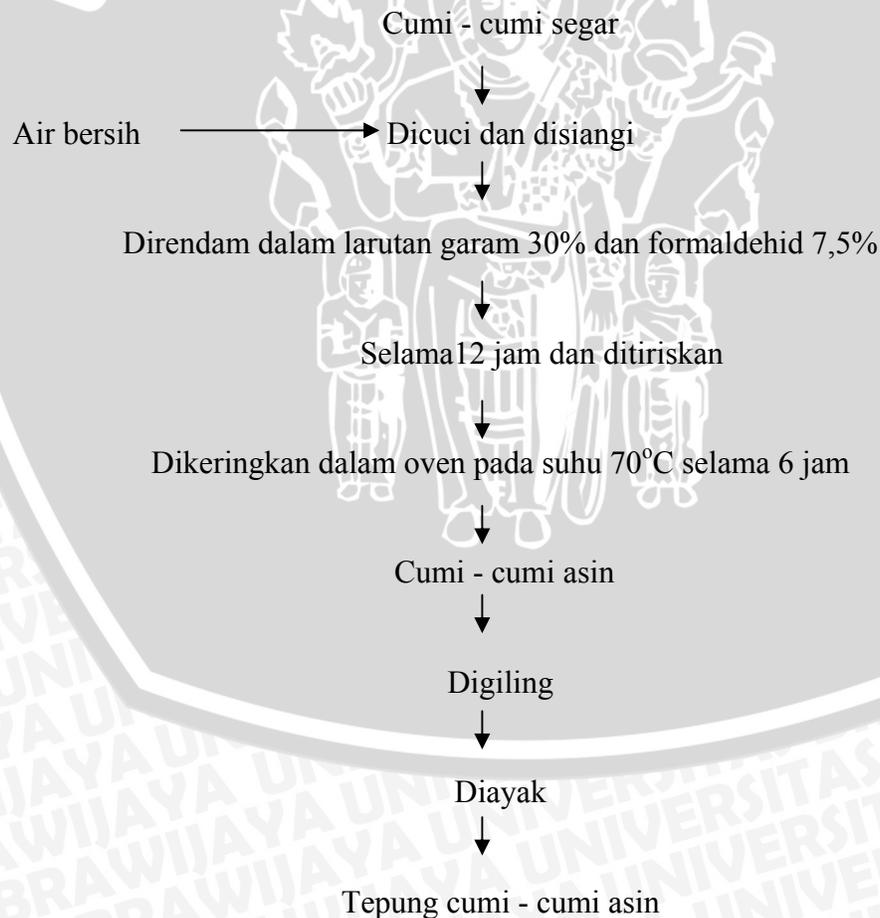
- Keterangan :
- Y_{ijk} = nilai pengamatan
 - μ = nilai tengah umum
 - α_i = pengaruh faktor pertama level ke- i
 - β_j = pengaruh faktor kedua level ke- j
 - $(\alpha\beta)_{ij}$ = interaksi faktor pertama dan kedua
 - ε_{ijk} = galat percobaan faktor pertama, kedua dan ulangan

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan uji *Tukey*. Digunakannya uji *Tukey* adalah dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan yang terjadi diantara faktor perlakuan yang digunakan beserta interaksinya.

3.3.1. Prosedur penelitian

3.3.1.1 Preparasi bahan uji

Sebelum dilakukan penelitian, langkah pertama dalam penelitian ini adalah preparasi bahan uji yaitu pembuatan tepung cumi - cumi asin dengan merendam cumi - cumi asin dalam larutan garam 30% dan formalin 7,5% selama 12 jam. Prosedur pembuatan tepung cumi - cumi asin berformalin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur pembuatan tepung cumi - cumi asin berformalin

3.3.1.2 Pembuatan ransum

Dalam penelitian ini terdapat 2 jenis ransum tikus percobaan, yaitu ransum standar dan ransum perlakuan. Komposisi ransum standar yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti ransum *Standart National Research Council* (NRC) (1978). Adapun komposisi ransum standar ini adalah kasein, minyak jagung, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) makanan, mineral mix, vitamin mix, air, dan tepung maizena (lihat Lampiran 1).

Komposisi ransum perlakuan, yaitu ransum standar dengan kasein 20% disubstitusi dengan 5%, 10%, 15%, dan 20% tepung cumi asin (lihat Tabel 6), yang disetarakan kandungannya berdasarkan base kalori. Penyetaraan kalori dilakukan dengan menghitung kalori pada tepung cumi asin dengan menggunakan perbandingan protein : lemak : karbohidrat = 4 : 9 : 4 (Yuniati, 2004). Perhitungan substitusi kasein dengan tepung cumi asin dapat dilihat pada Lampiran 3.

Cara pembuatan kedua jenis ransum sama, yaitu semua bahan ransum dimasukkan satu per satu, dicampur dan diaduk secara merata. Bahan - bahan yang telah tercampur rata dibentuk menjadi pellet kemudian dioven selama 21 jam, suhu 60°C dan selanjutnya diukur residu formalin yang terkandung didalamnya.

Pada penelitian ini antara ransum standar dan ransum perlakuan disetarakan kalorinya karena dengan menyetarakan kalorinya maka jumlah asupan kalori yang bisa di dapat oleh tikus kontrol dan tikus perlakuan selama pemeliharaan akan sama, sehingga didapatkan satu faktor saja yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan organ dalam tikus perlakuan selama pemeliharaan, faktor tersebut adalah konsentrasi formalin pada ransum perlakuan. Pembuatan ransum perlakuan dilakukan dengan mengganti proporsi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan menyetarakan kandungan

kalorinya berdasarkan base kalori, ransum dibuat tiap 7 hari sekali, ransum standar dan perlakuan setelah dikemas dalam plastik disimpan pada suhu kamar. Komposisi ransum standar dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Komposisi ransum pakan tikus

Bahan	Jenis ransum pakan				
	Ransum standar (%) [*]	Ransum perlakuan (%)			
		15 : 5	10 : 10	5 : 15	0 : 20
Kasein : Tepung cumi asin	20 : 0	15 : 5	10 : 10	5 : 15	0 : 20
Minyak jagung	5	5	5	5	5
CMC makanan	5	5	5	5	5
Mineral <i>mix</i> ¹	4	4	4	4	4
Vitamin <i>mix</i> ²	1	1	1	1	1
Air	5	5	5	5	5
Tepung maizena	60	60	60	60	60

Keterangan: 1) Lampiran 1, 2) Lampiran 2.

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

3.3.1.3 Prosedur pelaksanaan percobaan

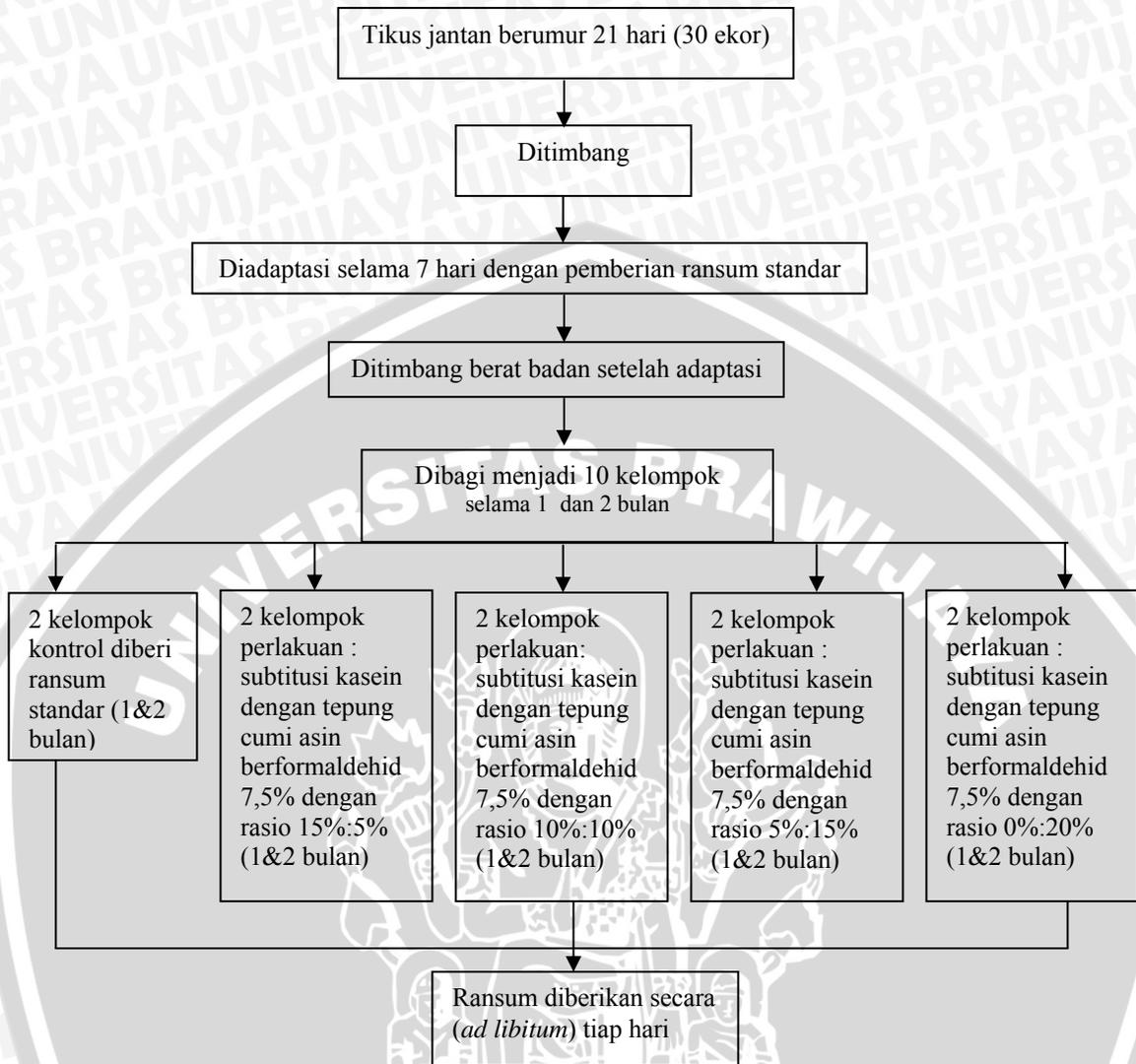
Secara garis besar prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3. Mula - mula tikus putih jantan berumur 21 hari berat badan awal rata - rata $44.70 \pm 0,24$ g diadaptasi selama 7 hari dengan lingkungan pemeliharaan dengan cara menempatkan setiap tikus dalam kandangnya (dikandangkan secara individu) 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 pakan dan air minum serta jumlah feses yang dihasilkan.

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*, dimana tikus diberi kebebasan untuk makan dan minum sesuai dengan keinginannya. Pemberian ransum setiap harinya sebesar 15 gram tiap ekor tikus. Menurut Astuti (1986), rata - rata kebutuhan makanan tikus dewasa perharinya sebesar 15 gram. Kemudian tikus ditimbang berat badannya. Penimbangan berat badan ini dilakukan tiap tiga hari sekali.

Setelah masa adaptasi, tikus dibagi menjadi 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 (B1) merupakan kelompok kontrol (0% Cumi asin : 20% kasein) ; (B2) (bahan baku cumi asin telah di rendam formalin 7,5% selama 12 jam) dengan perbandingan kasein : tepung cumi asin 15% : 5% ; (B3) (bahan baku cumi asin telah di rendam formalin 7,5% selama 12 jam) dengan perbandingan kasein : tepung cumi asin 10% : 10%; (B4) (bahan baku cumi asin telah di rendam formalin 7,5% selama 12 jam) dengan perbandingan kasein : tepung cumi asin 5% : 15% dan (B5) (bahan baku cumi asin telah di rendam formalin 7,5% selama 12 jam) dengan perbandingan kasein : tepung cumi asin 0% : 20%. sehingga diperoleh perlakuan kombinasi = $2 \times 5 = 10$ perlakuan dan dengan ulangan 3 kali.

Pemberian ransum secara (*ad libitum*). Kemudian tikus dipelihara selama 1 dan 2 bulan dan dilakukan penimbangan berat badan setiap 3 hari sekali. Pada hari terakhir pemeliharaan dilakukan pembedahan untuk mengamati bagian - bagian organ dalam tikus, yaitu hati, ginjal dan limpa untuk dianalisa lebih lanjut dan ditimbang beratnya.



Gambar 3. Prosedur kerja penelitian.

3.3.2 Parameter uji

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini meliputi analisis proksimat tepung cumi asin, analisis proksimat ransum standar (kasein 20%) dan ransum perlakuan (kasein diganti dengan 5%, 10%, 15%, dan 20% tepung cumi asin berformalin) yang bertujuan untuk mengetahui kandungan gizi dan kalori pada ransum standar dan perlakuan sehingga diharapkan tikus mendapatkan asupan gizi dan kalori yang sesuai, jumlah ransum yang dikonsumsi, uji residu formalin ransum, penimbangan berat badan

setiap 3 hari sekali dan penimbangan berat organ dalam serta uji anatomi organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus wistar (*Rattus norvegicus*) pada akhir bulan pertama dan kedua.

3.3.2.1 Analisis proksimat tepung cumi asin, ransum standar dan ransum perlakuan.

a. Kadar air (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar air adalah metode *Thermogravimetri*. Prinsip dari metode ini adalah sampel dipanaskan pada suhu (100 - 105)⁰C sampai diperoleh berat yang konstan. Pada suhu ini semua air bebas (yang tidak terikat pada zat lain) dapat dengan mudah diuapkan, tetapi tidak demikian halnya dengan air yang terikat.

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) penentuan kadar air dengan menggunakan metode *Termogravimetri* adalah sebagai berikut:

- o Timbang sampel yang berupa serbuk sebanyak 2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu (100 - 105)⁰C selama semalam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya.
- o Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan, dengan perhitungan:

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

$$\text{Dry bases (db)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat akhir} - \text{berat botol timbang}} \times 100\%$$

Dimana : wb = perhitungan kadar air berdasarkan berat basah

db = perhitungan kadar air berdasarkan berat kering

Tujuan pengujian kadar air ini adalah untuk mengetahui kandungan air yang tersimpan dalam bahan. Informasi kandungan air ini sangat penting karena untuk

membebaskan bahan dari air bebas yang terdapat dalam ruang-ruang antar sel dan intergranular dan pori - pori yang ada dalam bahan. Selain itu pengeringan ini juga berguna untuk membebaskan bahan dari air yang terikat secara lemah karena terserap (teradsorsi) pada permukaan koloid makro molekuler seperti protein, pektin pati, selulosa.

Hasil analisis kadar air terhadap tepung cumi berformalin dan ransum terdapat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

b. Kadar protein (Sudarmadji *et al.*, 1997)

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:

- o Timbang 1 g bahan dan masukkan dalam labu *Kjeldahl*. Kemudian tambahkan 7,5 g $K_2S_2O_4$, 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 :

$$\% \text{ kadar N} = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH sampel})}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100 \times 6,25$$

Tujuan analisa kadar protein dalam bahan makanan ini adalah sebagai berikut :

1. menera jumlah kandungan nitrogen dalam bahan makanan
2. menentukan tingkat kualitas protein dipandang dari sudut pandang gizi

menelaah protein sebagai salah satu bahan kimia misalnya secara biokimiawi, fisiologis, rheologis, ensimatis dan telaah lain yang lebih mendasar.

Hasil analisis kadar protein terhadap tepung cumi berformalin dan ransum terdapat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

c. Kadar lemak (Apriyantono *et al.*, 1989)

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar lemak adalah metode *Goldfishch*.

Prinsip penentuan kadar lemak adalah ekstraksi atau pemisahan lemak dari contoh dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak (*ethyl ether*) ke dalam contoh (Murachman *et al.*, 1980).

Menurut Apriyantono *et al.*, (1989) prosedur penentuan kadar lemak dengan menggunakan metode *Goldfish* adalah sebagai berikut:

- Sampel kering halus ditimbang sebanyak 2 gr (A).
- dibungkus dengan kertas saring yang sudah dikeringkan dan diketahui beratnya (B).
- dipasang pada sample tube dan dipasang pada bagian bawah kondensor bagian bawah *goldfish*.
- dimasukkan pelarut pada gelas piala dan dipasang pada kondensor sampai tidak dapat diputar lagi.
- dialirkan air pendingin, pemanas dinaikkan sampai menyentuh gelas piala.
- dinyalakan listriknya pada ekstraksi 3 - 4 jam.
- sample dikeringkan didalam oven pada suhu 105⁰C sampai berat konstan.
- ditimbang (C).

Rumus perhitungan :

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

Tujuan analisa kadar lemak dalam bahan makanan ini dikelompokkan dalam tiga tujuan yaitu :

1. penentuan kuantitatif atau penentuan kadar lemak atau minyak yang terdapat dalam bahan makanan
2. penentuan kualitas minyak (murni) sebagai bahan makanan yang berkaitan dengan proses ekstraksinya, atau ada tidaknya perlakuan pemurnian lanjutan misalnya penjernihan, penghilangan bau, penghilangan warna, dan sebagainya. Penentuan tingkat kemurnian minyak ini sangat berkaitan dengan kekuatan daya simpannya, sifat gorengnya, baunya maupun rasanya.

3. penentuan sifat fisis maupun kimiawi yang khas atau mencirikan sifat minyak tertentu.

Hasil analisis kadar lemak terhadap tepung cumi berformalin dan ransum terdapat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

d. Kadar karbohidrat (Winarno, 1998)

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 (1998), 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 *Carbohydrate by Difference*. Ditambahkan bahwa yang dimaksud dengan *proximat analysis* adalah suatu analisis dimana kandungan karbohidrat termasuk serat kasar diketahui bukan melalui analisis tetapi melalui perhitungan :

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

Tujuan analisis kadar karbohidrat adalah untuk mengetahui kadar karbohidrat pada tepung cumi asin berformalin dan ransum perlakuan setelah disubstitusi dengan tepung cumi sehingga diharapkan tikus percobaan mendapat asupan gizi dan kalori yang sesuai.

Hasil analisis kadar karbohidrat terhadap tepung cumi berformalin dan ransum terdapat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

e. Kadar abu (Sudarmadji *et al.*, 1997)

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.*, 1997)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1997). Prosedur penentuan kadar abu dengan menggunakan metode pemanasan adalah sebagai berikut: timbang 2 gram sampel dalam krus porselen yang telah kering telah diketahui beratnya, kemudian pijarkan dalam *muffle* sampai diperoleh abu berwarna keputih - putihan dengan suhu (550 - 660)⁰ C. Masukkan krus yang berisi abu ke dalam desikator dan ditimbang kadar abu setelah dingin.

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

Tujuan analisa kadar abu ini adalah sebagai berikut :

1. untuk menentukan baik tidaknya statu proses pengolahan
2. untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan
3. penentuan abu total sangat berguna sebagai parameter nilai gizi bahan makanan.

Hasil analisis kadar abu terhadap tepung cumi berformalin dan ransum terdapat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

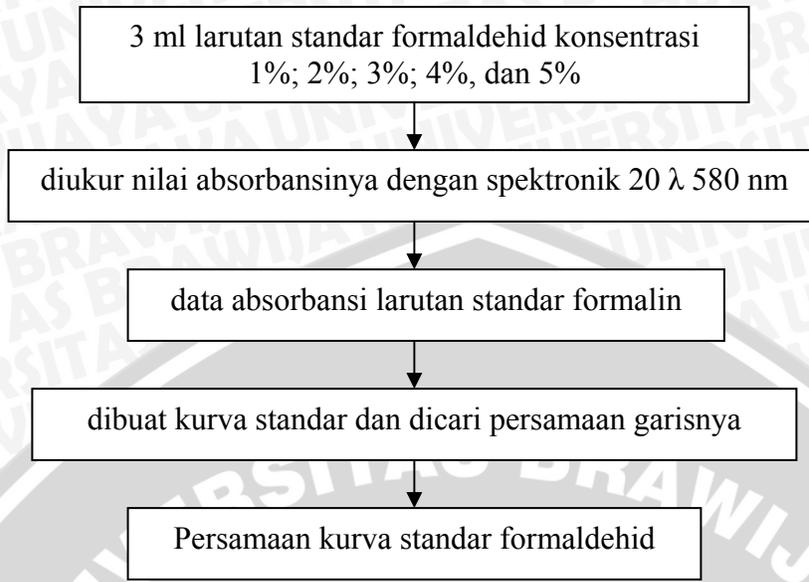
3.3.2.2 Analisis formalin terhadap ransum perlakuan (Barbour and Packers, 1962)

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%). Adapun prosedur preparasi sampel dan uji formalin adalah sebagai berikut. Langkah awal yang dilakukan mengekstraksi sampel yaitu mencampur 20 gram 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 standar absorbansi formaldehid, yang dilakukan menurut metode Sastrohamidjodo (1992) sebagai berikut:

Prosedur pembuatan kurva standar menurut Sastrohamidjodo (1992) adalah 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 spektronik 20 dengan panjang gelombang 580 nm.
3. Buat kurva dari nilai-nilai absorbansi yang diperoleh, hingga didapatkan persamaan garis liniernya. Hasil skema kerja pembuatan kurva standar dapat dilihat pada Gambar 4 sedangkan kurva standar formaldehid dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 4. Prosedur pembuatan kurva standar formaldehid

3.3.2.3 Jumlah ransum yang di konsumsi dan berat badan tikus

Prinsip pemberian ransum pakan adalah berdasarkan prosentase berat badan tikus. Menurut Wasito (1992), konsumsi pakan untuk tikus adalah 5% dari berat badan tikus. Ransum pakan diberikan pada tikus secara *ad libitum* (bebas makan). Jumlah ransum yang dikonsumsi dapat diketahui dengan menghitung selisih ransum yang diberikan dengan sisa ransum yang dimakan oleh tikus.

Berat badan tikus dapat diketahui dengan menimbang tikus. 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.

Tujuan penghitungan jumlah ransum yang di konsumsi dan penimbangan berat badan tikus adalah untuk mengetahui pengaruh konsumsi ransum pakan berformalin terhadap pertumbuhan tikus wistar.

Hasil data berat badan tikus dapat dilihat pada Lampiran 8 dan Tabel 12 untuk data rata - rata berat badan tikus pada pemberian pakan 1 dan 2 bulan (g).

3.3.2.4 Analisis organ (Suntoro, 1983)

Tujuan analisis organ tikus wistar adalah untuk mengetahui pengaruh konsumsi ransum pakan berformalin terhadap kesehatan, khususnya organ dalam tikus wistar (hati, ginjal dan limpa).

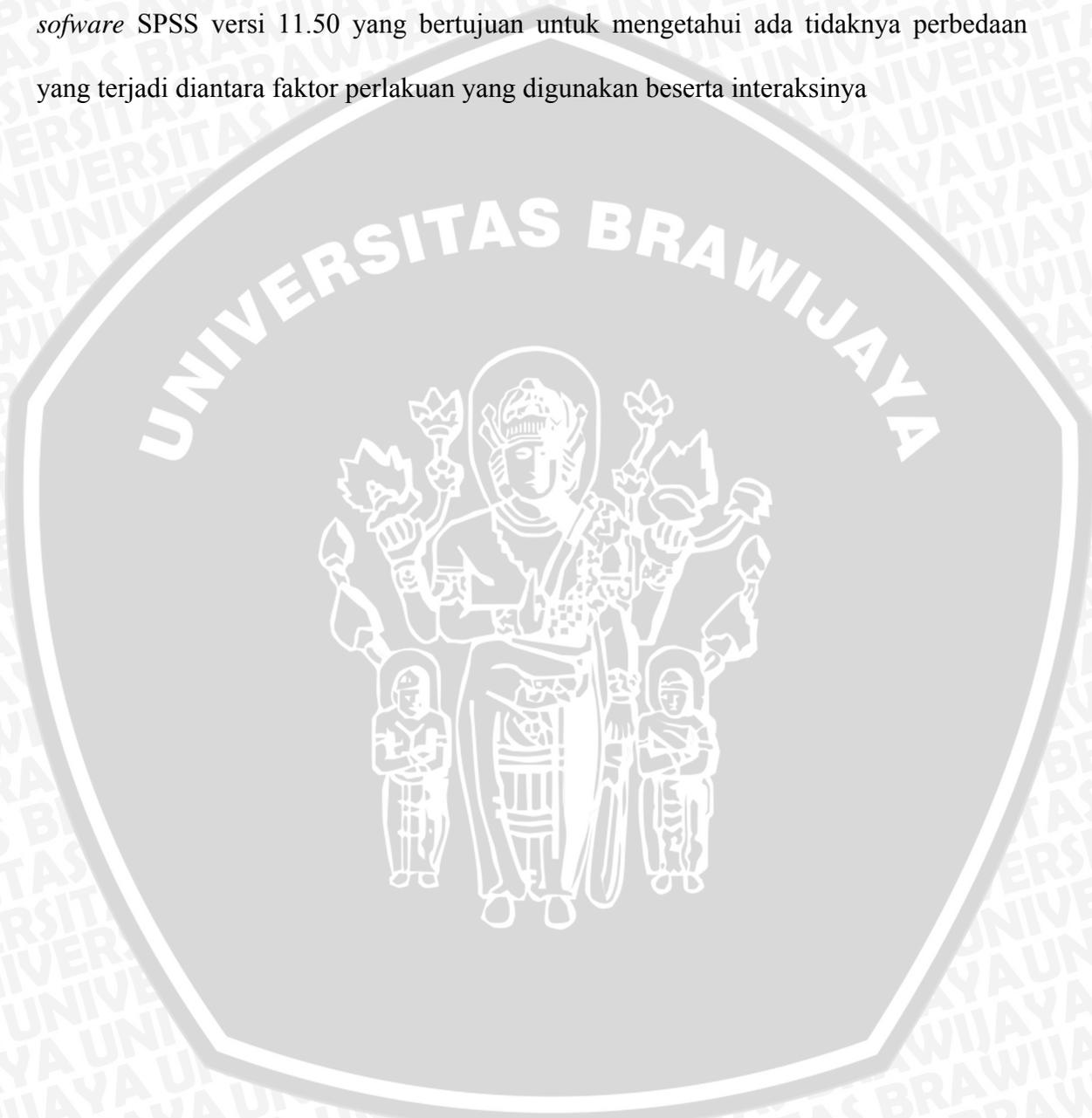
Tikus dibunuh dengan pemotongan vena jugularis di leher dan dibedah pada bagian perut dengan menggunakan gunting dan pinset. Organ hati, ginjal dan limpa diambil dan ditimbang beratnya dengan menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan ke dalam botol organ yang telah berisi formalin 10%. Untuk 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). Tahapan pembuatan preparat organ dengan metode parafin meliputi:

- Fiksasi dengan merendam jaringan dalam larutan Bouin selama 24 jam
- Pencucian dengan menggunakan alkohol 50% untuk menghilangkan sisa - sisa bahan fiksatif
- Dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam alkohol dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (alkohol 50, 70, 90, dan 100%) untuk menghilangkan air dalam jaringan.

- Pemurnihan dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan alkohol : xylol dengan perbandingan (3:1), (1:1), (1:3) dan kemudian dalam xylol murni proses ini berfungsi untuk menghilangkan sisa - sisa dehidron.
- Infiltrasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan xylol : parafin (parafin 42 - 62 °C) dengan perbandingan (3:1), (1:1), (1:3) kemudian dalam parafin murni untuk mengisi rongga - rongga dalam jaringan
- Embedding dilakukan dengan memasukkan jaringan dalam parafin keras (56 - 58 °C) untuk menyelubungi jaringan dan mempermudah dalam pengirisan.
- Pengirisan dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 - 6 Mm. Hasil pengirisan berupa pita - pita yang berisi jaringan
- Perempelan 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 proses ini dilakukan dengan merendam preparat dalam xylol untuk menghilangkan sisa - sisa parafin dalam jaringan
- Pewarnaan dilakukan secara simultan dengan menggunakan hematoxilin – eosin.
- Penutupan preparat yang selesai diwarnai lalu ditutup dengan kaca penutup menggunakan perekat enteilan
- Pengamatan preparat dilakukan dibawah mikroskop cahaya binokuler perbesaran 400x dan 1000x dan untuk memperjelas penampakan preparat, dilakukan pemfotoan jaringan dengan mikroskop fotomikrografi. (Suntoro, 1983).

3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan uji Tukey HSD menggunakan *software* SPSS versi 11.50 yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang terjadi diantara faktor perlakuan yang digunakan beserta interaksinya



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Cumi - Cumi Berformalin Pada Ransum Tikus

4.1.1 Ransum pakan tikus.

Ransum pakan yang dikonsumsi tikus percobaan adalah ransum perlakuan yang berbentuk pellet dan diberikan secara *ad libitum* (bebas makan) selama 2 bulan. Jumlah ransum yang dikonsumsi tikus dapat diketahui dengan menghitung selisih ransum yang diberikan dengan sisa ransum yang dimakan oleh tikus. Penghitungan jumlah ransum yang dikonsumsi tikus dihitung setiap hari selama 2 bulan dapat dilihat pada Lampiran 7 dan untuk data rata - rata jumlah ransum pakan yang dikonsumsi oleh tikus selama perlakuan dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 7. Komposisi gizi tepung cumi - cumi (*Loligo pealei*)

Parameter Uji	Kadar proksimat tepung cumi (%)		
	Tanpa direndam formalin *)	Direndam Dengan formalin 7,5% **)	Kasein***)
Protein	68,95 ± 0,152	72,00 ± 0,560	88,53
Lemak	4,06 ± 0,052	4,53 ± 0,565	0
Air	10,98 ± 0,024	10,05 ± 0,288	11,47
Abu	6,23 ± 0,014	6,81 ± 0,019	0
Karbohidrat (<i>by different</i>)	9,80 ± 0,137	6,5 ± 0,076	0

*) Anonymous (2005^e)

**) 2 Ulangan

***) PT: New Zeland (2005)

4.1.2 Analisa proksimat ransum

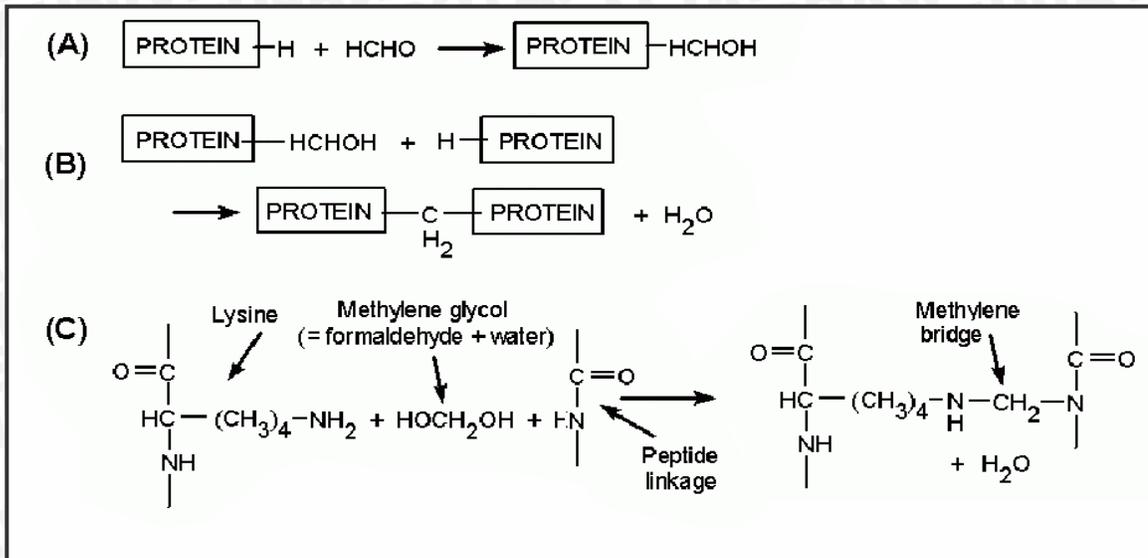
Analisis proksimat pada ransum pakan tikus, baik itu ransum standar, dan ransum perlakuan. Tujuannya adalah untuk mengetahui jumlah komposisi gizi yang terdapat dalam setiap ransum pakan yang dikonsumsi, yang berfungsi sebagai zat nutrisi (protein, air, lemak, karbohidrat, dan abu) Tabel 8.

Tabel 8 . Analisis proksimat ransum standar dan ransum perlakuan

Parameter Uji	Jenis Ransum				
	Standar (%)	Perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)			
		15 : 5	10 : 10	5 : 15	0 : 20
Protein	21,99±0,69	20,36±0,77	19,69±0,23	15,83±0,33	14,27±0,32
Lemak	4,98±0,03	5,02±0,31	5,35±0,32	5,56 ± 0,22	5,79 ±0,50
Air	10,13±0,68	12,36±0,3	11,73±0,27	13,82±0,38	13,45±0,18
Abu	3,49±0,78	3,72±0,22	4,02±0,06	5,35±0,73	6,94±0,28
Karbohidrat	58,12±0,56	58,22±0,38	58,37±0,34	58,64±0,45	58,73±0,02

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa proporsi zat gizi yang dibutuhkan oleh tikus telah sesuai dengan standar *National Research Council* (NRC). Pada ransum standar, kandungan protein lebih tinggi dari pada ransum perlakuan. Hal ini disebabkan pada ransum perlakuan ditambahkan tepung cumi - cumi yang juga mengandung formalin. Cumi - cumi mengandung 25% protein dengan kandungan rata - rata 19g/100g. Dalam sebuah penelitian, kisaran kandungan dalam spesies ini mencapai 13,4% - 21,5% yang merupakan batas bawah dan atas dari kandungan rata - rata makanan laut. (Anonymous, 2004).

Kadar protein tertinggi terdapat pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin standar, sedangkan ransum berformalin sebesar 0% : 20%, mengandung kadar protein yang terendah. Namun demikian proses pengolahan tidak dapat menghilangkan residu formalin seluruhnya, hal ini disebabkan karena sebagian formaldehid berikatan dengan protein dalam daging cumi - cumi asin. Menurut Kiernan (2000), kelompok aldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom karbon pada protein membentuk ikatan silang $-CH_2-$ yang dinamakan dengan jembatan metilen. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi formaldehid dengan protein (Kiernan, 2000)

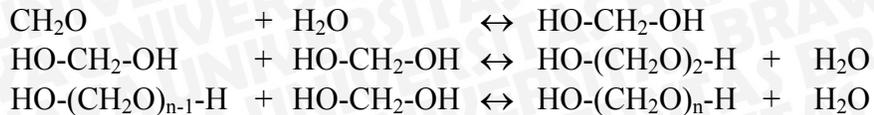
Pada Gambar. (A) merupakan reaksi penambahan formaldehid pada protein, (B) reaksi formaldehid dengan molekul protein yang lain membentuk ikatan silang metilen dan (C) menjelaskan lebih detail tentang ikatan silang rantai samping dari lisin dengan atom nitrogen dari peptida. Berdasarkan hal tersebut menjelaskan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

Pada ransum perlakuan, kandungan lemak lebih rendah dari pada ransum standar. Kadar lemak terendah terdapat pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20%. Menurut Sudarmadji *et al* (2003). Salah satu proses pengolahan yang tidak mempengaruhi kandungan lemak yaitu pemanasan. Hal ini dipengaruhi oleh sifat lemak yang mempunyai titik didih tinggi sekitar 200°C. Sehingga tingginya suhu pemanasan sekitar 98°C dalam pengovenan dan suhu 45°C dalam pengeringan dengan sinar matahari tidak berpengaruh terhadap lemak.

Kandungan air pada ransum perlakuan lebih tinggi dari pada ransum standar. Kadar air tertinggi terdapat pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20%, sedangkan ransum standar mengandung kadar protein yang terendah. Menunjukkan antara kontrol dan semua perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda. Hal ini disebabkan karena kadar air kontrol memang lebih rendah bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kenaikan kadar air dipengaruhi perbedaan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dalam setiap perlakuan.

Hal ini disebabkan cumi - cumi mempunyai kadar air tinggi 84,2% (Anonymous, 2006^d). Meskipun diolah menjadi cumi - cumi asin, kandungan airnya tetap cukup tinggi sehingga mudah rusak. Pemakaian formalin sebagai pengawet dalam pembuatan cumi - cumi asin dapat memperpanjang daya simpan, selain itu juga menyebabkan produk tidak mudah hancur saat pengemasan dan didistribusikan. Secara umum cumi - cumi asin mengandung formalin mempunyai ciri - ciri yang sama antara lain bau formalin menyengat, berwarna lebih pucat dan teksturnya sangat kenyal. Semakin tingginya kadar air produk tersebut disebabkan karena adanya reaksi pembentukan air.

Perlakuan konsentrasi larutan formalin berpengaruh nyata terhadap kadar air, yaitu semakin tinggi kadar formalin yang digunakan pada saat perendaman maka makin tinggi pula kadar air dalam cumi - cumi asin mentah. Semakin tingginya kadar air produk tersebut disebabkan karena adanya reaksi pembentukan air. Dalam Small (2004) dijelaskan reaksi antara formaldehid dan air akan menghasilkan metilen glikol selanjutnya dapat berpolimerisasi membentuk polisimetilen dan air, lebih jelasnya dapat dilihat pada reaksi berikut :



Pembentukan air pada reaksi tersebut menyebabkan semakin tingginya kadar air seiring dengan peningkatan jumlah formalin yang diberikan. Tingginya kadar air tersebut menyebabkan berat cumi asin akan menjadi lebih berat sehingga selain sebagai pengawet juga digunakan untuk menjaga beratnya.

Kandungan abu pada ransum perlakuan lebih tinggi dari pada ransum standar, kadar protein abu tertinggi terdapat pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20%. Tingginya kadar abu dapat disebabkan oleh beberapa hal yaitu, adanya perbedaan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dalam setiap perlakuan untuk penambahan tepung cumi asin berformalin. Pengurangan kadar air juga dapat meningkatkan kadar abu suatu bahan. Menurut Muchtadi (1989). Dengan mengurangi kadar airnya, bahan pangan yang mengandung mineral - mineral akan meningkat.

Tabel 9 . Kandungan formalin pada ransum perlakuan (%)

Jenis ransum perlakuan (%)	Parameter Uji	
	Kadar formaldehid (%)	Kadar formalin (%)
15 : 5	0,17 ± 0,020	0,06 ± 0,08
10 : 10	0,32 ± 0,005	0,12 ± 0,002
5 : 15	0,53 ± 0,104	0,19 ± 0,038
0 : 20	0,65 ± 0,099	0,24 ± 0,036

Keterangan : ulangan = 3

Kandungan formalin tertinggi terdapat pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20% sebesar 0,65%, sedangkan ransum perlakuan yang mengandung kadar protein yang terendah adalah

15%: 5% sebesar 0,17%. Kadar formalin yang berada dipasaran \pm 0,2% sedangkan berdasarkan hasil analisis kuantitatif kadar formalin pada ransum perlakuan sebesar 0,06% - 0,24 %. Hal ini disebabkan pada ransum perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dimana semakin tinggi konsentrasi perendaman formalin maka semakin tinggi pula residunya dalam cumi.

Penambahan formalin dalam pembuatan cumi asin hanya mengurangi bobot sebesar 30% setelah pengeringan, sedangkan tanpa formalin bobot yang berkurang mencapai 60% setelah pengeringan (Anonymous, 2006^d). Semakin tinggi konsentrasi larutan formalin yang digunakan maka makin tinggi pula residu dalam cumi - cumi asin baik sebelum maupun sesudah diolah.

Secara umum penambahan tepung cumi asin berformalin sebagai substitusi protein akan meningkatkan kandungan protein, air, abu, dan formalin dalam perlakuan ransum yang diberikan pada tikus. Sehingga dapat diketahui bahwa semakin tinggi proporsi tepung cumi yang terdapat pada ransum maka semakin tinggi pula konsentrasi formalin yang terkandung dalam ransum dan walaupun pada proses pembuatan ransum dilakukan proses pengeringan pada suhu 60°C selama 21 jam tidak menyebabkan residu formalin yang terdapat pada ransum perlakuan hilang seluruhnya melainkan hanya berkurang sebagian kecil saja, data penurunan konsentrasi formalin pada ransum perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10 . Penurunan konsentrasi formalin setelah menjadi ransum pakan

Jenis ransum (kasein : tepung cumi berformalin) (%)	Konsentrasi formalin sebelum menjadi ransum (%) (X_1)	Konsentrasi formalin setelah menjadi ransum pakan (%) (X_2)	Penurunan konsentrasi formalin (%) (X)
20 : 0	0	0	0
15 : 5	0,070 ± 0,008	0,064 ± 0,008	8,758 ± 0,577
10 : 10	0,130 ± 0,002	0,117 ± 0,002	10,032 ± 0,021
5 : 15	0,218 ± 0,042	0,195 ± 0,038	10,520 ± 0,231
0 : 20	0,269 ± 0,042	0,239 ± 0,037	11,159 ± 0,577

Keterangan : ulangan = 3

Menurut Elvandari (2007), penurunan konsentrasi formalin dapat dihitung dengan rumus :

$$X = \frac{X_1 - X_2}{X_1} \times 100\%$$

Ket : X = penurunan konsentrasi formalin (%)

X_1 = konsentrasi formalin awal

X_2 = konsentrasi formalin pakan

Penurunan konsentrasi formalin dapat terjadi karena titik didih formalin berada diatas 60°C, Formaldehid memiliki gugus karbonil, dimana atom karbonnya bermuatan positif sehingga atom karbon dari formaldehid bersifat elektrolit. (Casanova - Schimitz *et al.*, 1984)

Menurut Instanref, (2006) jika formaldehid dalam bentuk larutan seperti formalin, titik didihnya meningkat menjadi 96°C. Tingginya residu formalin yang terdapat pada ransum perlakuan selain disebabkan oleh tingginya titik didih formalin juga disebabkan karena ikatan memiliki kandungan protein yang tinggi sehingga mudah berikatan dengan formalin.

4.1.3. Jumlah konsumsi tikus

Jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tikus percobaan dapat diketahui dengan menghitung selisih antara jumlah pakan yang diberikan dengan sisa pakan masing-masing tikus dan dapat dilihat pada Lampiran 7.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa waktu pemberian pakan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah konsumsi pakan tikus ($P>0,05$). Terdapat interaksi antara waktu pemberian pakan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin terhadap pakan tikus ($P<0,05$). Dari hasil analisis ragam antara jumlah konsumsi dengan lama konsumsi ransum pakan rata-rata tikus, menunjukkan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap jumlah konsumsi pakan tikus ($P<0,05$).

Hasil analisis ini menjelaskan bahwa turunnya jumlah pakan yang dikonsumsi tikus disebabkan oleh tingginya tepung cumi asin berformalin dalam pakan. Sedangkan perbedaan waktu pemberian pakan tidak berpengaruh kuat terhadap perbedaan jumlah pakan yang dikonsumsi. Menurut Lu (1995). Adanya suatu zat kimia dalam makanan dapat mengganggu selera makan akibatnya dapat menurunkan konsumsi makanan dimana konsumsi makanan merupakan salah satu respon bertingkat sehingga respon akan meningkat bersama meningkatnya dosis atau asupan.

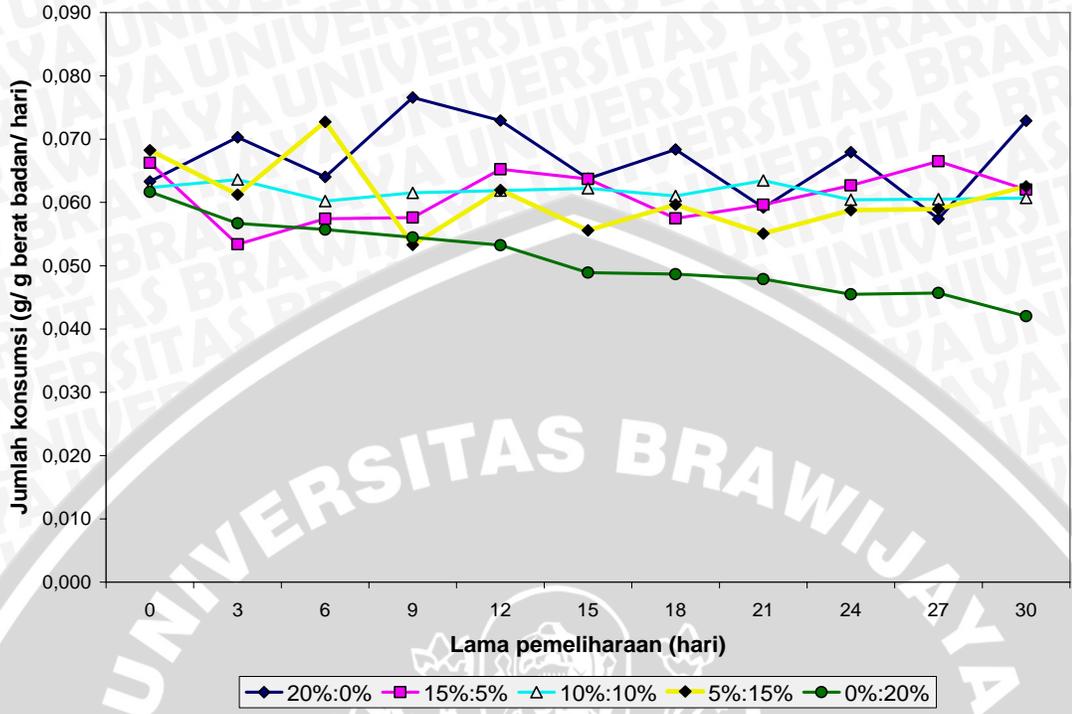
Berdasarkan hasil uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi ransum pakan, menunjukkan bahwa jumlah konsumsi pakan tikus menunjukkan penurunan yang nyata dengan penambahan tepung cumi asin berformalin dibandingkan dengan kontrol. Jumlah ransum yang dikonsumsi oleh tikus kontrol dan perlakuan dengan lama percobaan 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Gambar 6.

Rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 20% : 0% menunjukkan penurunan jumlah konsumsi pakan tikus yang nyata dibandingkan 5% :15%, dan 0% : 20%, namun tidak berbeda nyata dengan 15% : 5% dan 10% : 10%

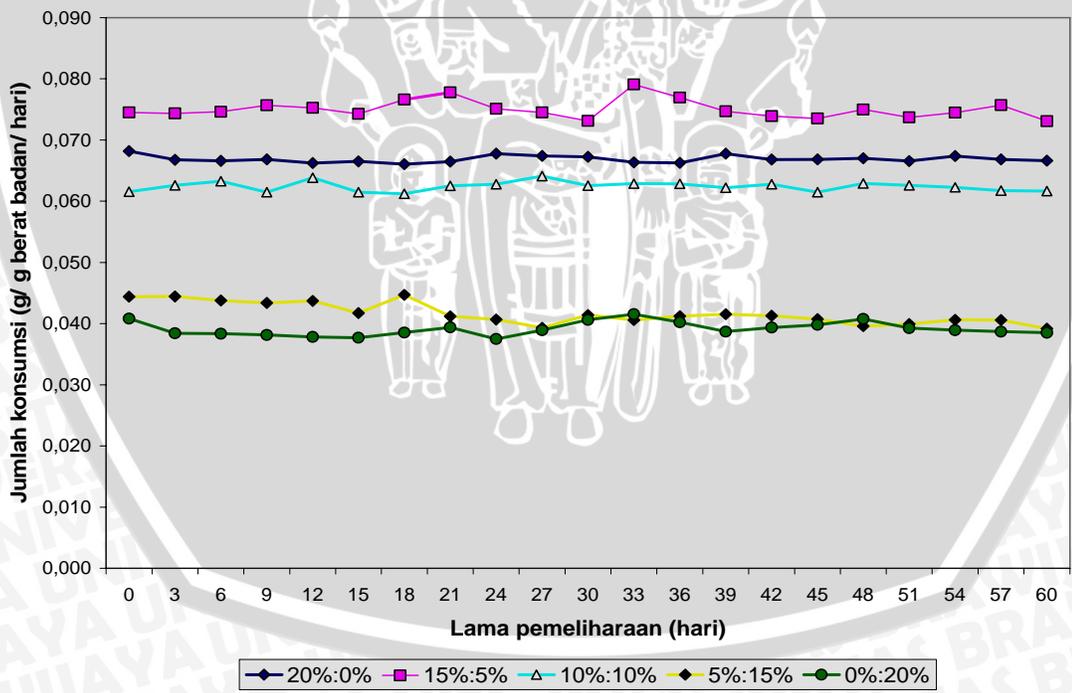
Penurunan ini dijelaskan karena tikus tidak mau memakan ransum perlakuan yang diberikan seperti pada kontrol karena bau yang ditimbulkan oleh ransum perlakuan yang menyengat sehingga mempengaruhi selera makan, dimana tikus mempunyai penciuman yang tajam, sehingga tikus kurang suka mengkonsumsinya (Astuti, 1986). Selain itu setelah beberapa hari tikus kemudian mengalami gejala - gejala penyakit, salah satunya adalah penurunan nafsu makan. (Price, 1982).

Jumlah konsumsi pakan tikus terendah diperoleh dari perlakuan dengan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0 %: 20%. Hasil uji perbandingan rata - rata ini menjelaskan bahwa jumlah pakan selain kontrol yang dikonsumsi masih cukup tinggi hingga pada rasio 10% : 10%.

Rendahnya jumlah konsumsi dikarenakan formalin yang terkandung dalam pakan berdampak buruk terhadap kondisi kesehatan tikus sehingga selera makan tikus menurun. 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).



(A)



(B)

Gambar 6. Grafik jumlah konsumsi rata - rata selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.

Dari Gambar 6 diatas terlihat bahwa semakin besar kadar tepung cumi asin berformalin maka rata - rata jumlah konsumsi pakan akan semakin menurun. Pada lama pemeliharaan tikus selama 2 bulan, rata - rata jumlah konsumsi tikus 15% : 5% lebih tinggi bila dibandingkan dengan 20% : 0%. Hasil analisis statistik pada Lampiran 7, menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap jumlah konsumsi pakan tikus. Jumlah konsumsi pakan tikus pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan perlakuan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 15% : 5%. namun hasil uji lanjut BNJ memperlihatkan bahwa rata - rata jumlah konsumsi pakan pada kedua level perlakuan waktu tersebut tidak berbeda nyata.

Rata - rata pakan kasein saja (rasio 20% : 0%) yang dikonsumsi sebesar pada saat 1 bulan $0,669 \pm 0,103$ g/g berat badan/hari dan pada saat 2 bulan $0,670 \pm 0,010$ g/g berat badan/hari, sedangkan rata - rata pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0% : 20%) sebesar $0,440 \pm 0,021$ g/hari pada saat 1 bulan setelah pemberian dan pada saat 2 bulan $0,391 \pm 0,019$ g/g berat badan/hari. Semakin besar konsentrasi tepung cumi asin berformalin maka semakin rendah rata - rata jumlah pakan yang di konsumsi tikus. Hal ini memperlihatkan bahwa selera makan tikus berkurang dengan bertambahnya kadar tepung cumi asin berformalin dalam pakan. Menurut NRC (1978), rata - rata jumlah konsumsi untuk tikus (*Rattus norvegicus*) setiap harinya adalah 10 - 15 g. Sedangkan menurut Warsito (1992), konsumsi pakan untuk tikus adalah 5% dari berat badan tikus , dimana berat badan tikus berkisar antara 195,6 - 235,2 g. Sehingga dari hasil penelitian didapatkan jumlah konsumsi yang tidak sesuai jika dibandingkan dengan literatur.

Tabel 11. Data rata - rata jumlah pakan yang dikonsumsi tikus 1 dan 2 bulan

Rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin (%)	Waktu Pemberian		Rata - rata jumlah ransum pakan (g / g berat badan / hari) ^(*)
	1 bulan	2 bulan	
20 : 0	0,669 ± 0,103 cd	0,670 ± 0,010cd	0,068±0,01
15 : 5	0,612 ± 0,053 bc	0,751 ± 0,021 d	0,068±0,01
10 : 10	0,623 ± 0,025 cd	0,621 ± 0,018 c	0,060±0,00
5 : 15	0,485 ± 0,062 ab	0,460 ± 0,018 a	0,047±0,01
0 : 20	0,440 ± 0,021 a	0,391 ± 0,019 a	0,042±0,00

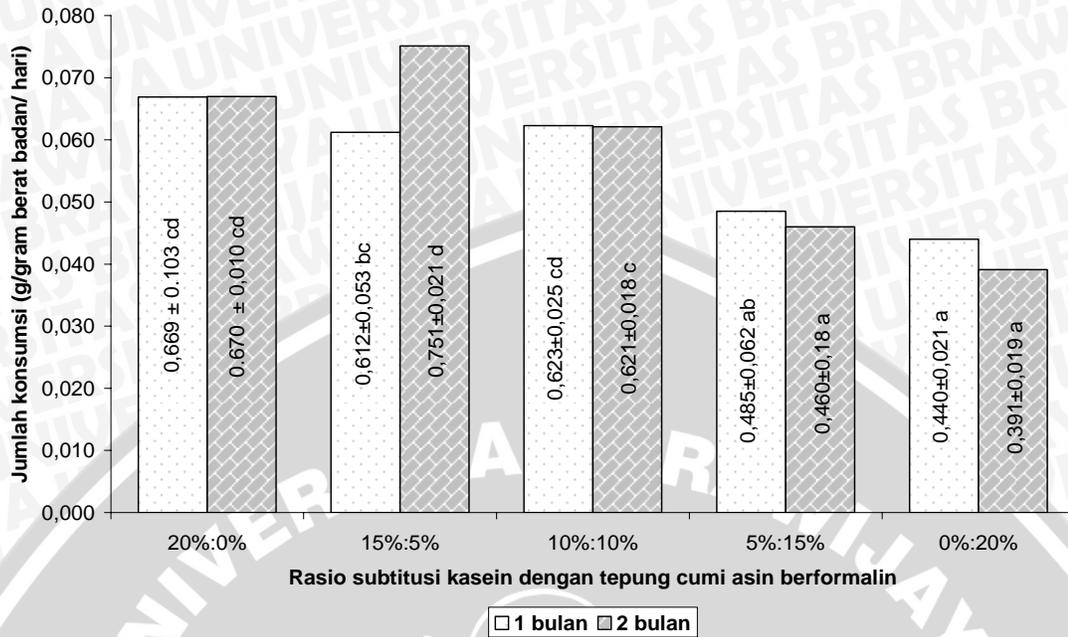
Keterangan : ulangan = 3

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

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

Wb = Berat badan tikus (g)

Data jumlah pakan yang dikonsumsi tikus (g/g berat badan/hari) selama 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Lampiran 7 untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 6.

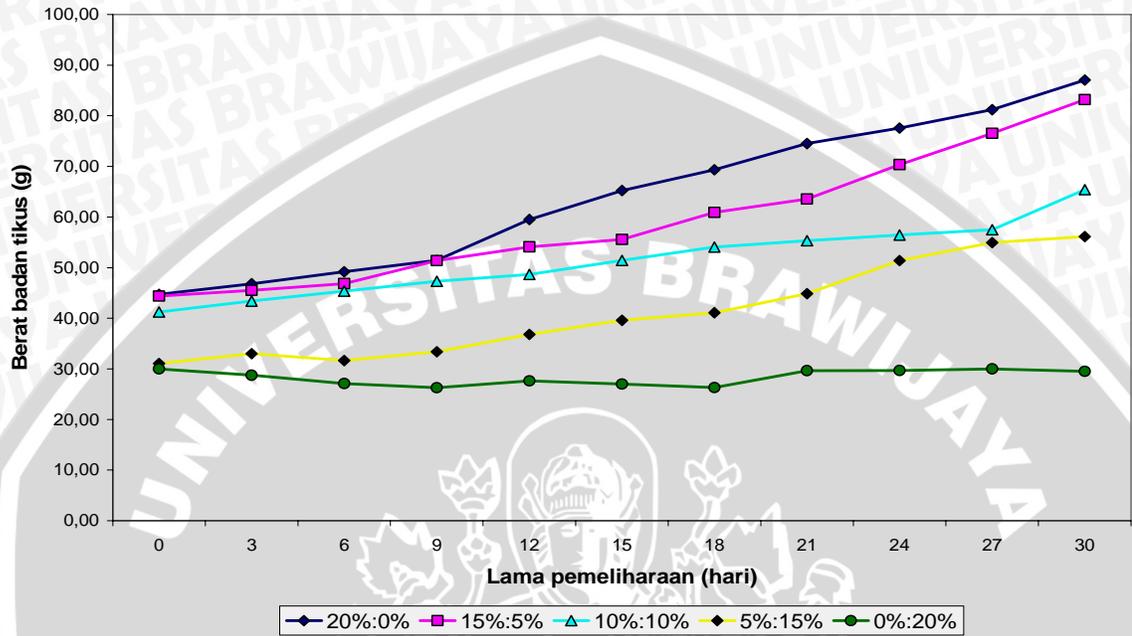


Gambar 7. Histogram jumlah pakan yang dikonsumsi tikus.

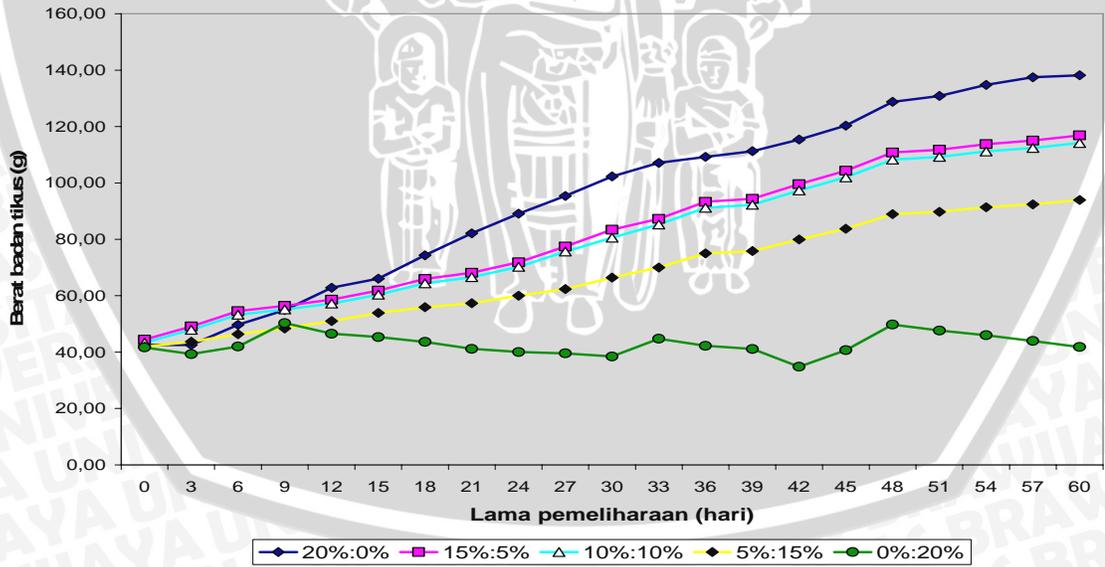
Berdasarkan hasil uji BNJ pada perlakuan dengan $\alpha = 0,05$ dapat diambil kesimpulan bahwa pakan tikus menunjukkan perbedaan yang nyata dengan diterapkannya berbagai substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin. Perlakuan kontrol (20% : 0%) dan perlakuan rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin hingga 10% : 10% baik pada pemberian selama 1 atau 2 bulan tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata dari jumlah pakan yang dikonsumsi tikus. Sedangkan pada jumlah rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin yang lebih banyak telah menunjukkan adanya efek gangguan nyata yang ditunjukkan dengan adanya penurunan pakan yang dikonsumsi.

4.1.4 Berat badan tikus

Berat badan tikus ditimbang tiga hari sekali. Data berat badan dapat dilihat pada Lampiran 8.



(A)



(B)

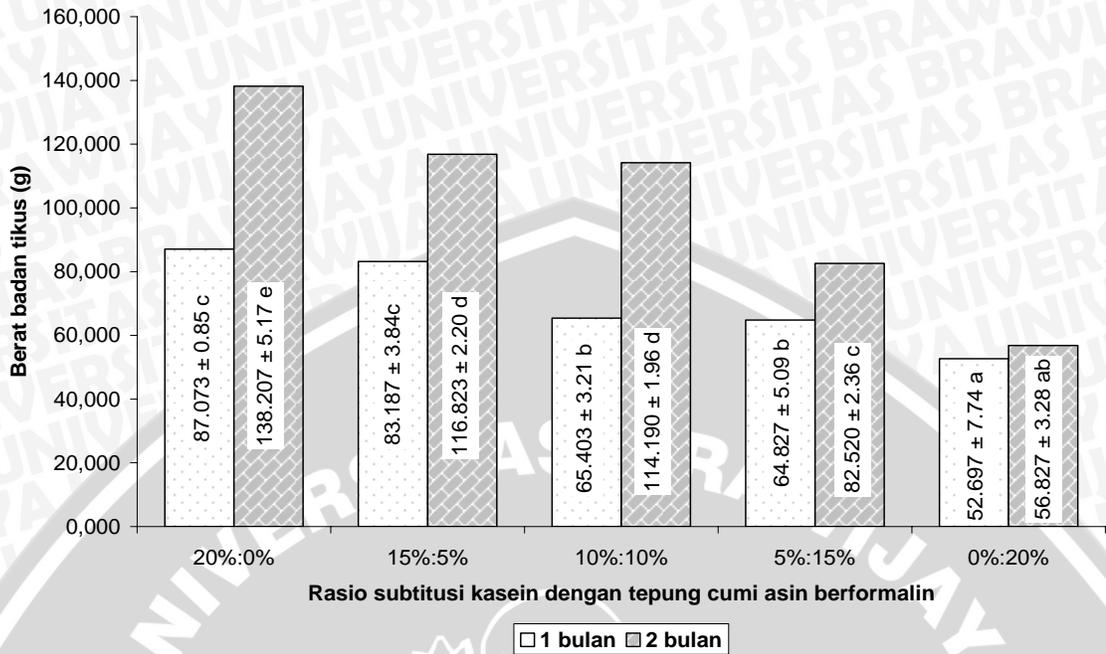
Gambar 8. Grafik berat badan tikus selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.

Hasil analisis statistik pada Lampiran 7, menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$). Waktu pemberian berpengaruh nyata terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$). Terdapat interaksi yang nyata rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan waktu pemberian terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$). Hasil analisis ini menjelaskan bahwa turunnya berat badan tikus dipengaruhi oleh jumlah pakan yang dikonsumsi. Sedangkan perbedaan waktu pemberian pakan yang dikonsumsi berpengaruh kuat terhadap berat badan tikus. Dari Gambar 8 diatas terlihat bahwa semakin besar kadar tepung cumi asin berformalin akan menurunkan rata - rata berat tikus baik pada perlakuan selama 1 maupun 2 bulan.

Tabel 12. Data rata - rata berat badan tikus pada pemberian pakan 1 dan 2 bulan (g)

Rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin (%)	Waktu Pemberian		Rata - rata berat badan tikus (g) ^{*)}
	1 bulan	2 bulan	
20 : 0	87,07 ± 0,85c	138,21 ± 5,17e	112,64 ± 28,2
15 : 5	83,19 ± 3,84c	116,82 ± 2,2d	100,01 ± 18,64
10 : 10	65,4 ± 3,22b	114,19 ± 1,96d	89,8 ± 26,83
5 : 15	64,83 ± 5,09b	82,52 ± 2,36c	73,67 ± 10,32
0 : 20	52,7 ± 7,74a	56,83 ± 3,28b	54,76 ± 5,78

Keterangan : ^{*)}ulangan = 3



Gambar 9. Histogram berat badan tikus selama pemeliharaan 1 bulan dan 2 bulan

Pada tikus dengan konsumsi kasein saja rata - rata memiliki berat badan tikus sebesar $87,07 \pm 0,85$ g pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $138,21 \pm 5,17$ g pada saat 2 bulan setelah pemberian. Perbedaan yang sangat tajam dijumpai pada pemberian pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0% : 20%) dengan berat badan tikus menjadi $52,7 \pm 7,74$ g pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $56,83 \pm 3,28$ g pada saat 2 bulan setelah pemberian. Berdasarkan hasil uji BNJ pada perlakuan dengan $\alpha = 0,05$ dapat diambil kesimpulan bahwa berat badan tikus menunjukkan perbedaan yang nyata dengan diterapkannya substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dibandingkan dengan kontrol. Berat badan tikus terendah diperoleh dari perlakuan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20% pada waktu 1 bulan yang tidak berbeda nyata dengan 0% : 20% pada waktu 2 bulan.

Berat badan tikus tertinggi diperoleh dari perlakuan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 20% : 0% pada waktu 2 bulan dan menunjukkan perbedaan yang nyata dengan 20% : 0% pada waktu 1 bulan artinya pada pemberian pakan yang sehat, berat badan tikus akan menjadi $87,07 \pm 0,80g$ setelah 1 bulan dan akan mengalami kenaikan hingga $138,21 \pm 5,17$ setelah 2 bulan. Tidak seperti halnya dengan tikus yang seluruh pakannya mengandung tepung cumi asin berformalin, pada pemberian selama 1 bulan telah menunjukkan adanya efek mengganggu yang dijelaskan dengan berat badan sebesar $52,70 \pm 7,70g$ dan jika dibandingkan dengan pemberian yang lebih lama (2 bulan) berat badan tikus mengalami kenaikan tipis sebesar $56,83 \pm 3,28g$.

Baik pada waktu pemeliharaan tikus selama 1 bulan maupun 2 bulan, semakin besar persentase tepung cumi asin berformalin akan menurunkan rata - rata berat badan tikus. Hal ini diduga karena sifat formalin yang dapat menyebabkan iritasi pada mukosa saluran cerna yang mengakibatkan terjadinya gangguan fungsi penyerapan dari organ lambung dan usus sehingga menyebabkan menurunnya nafsu makan. Menurut Cahyadi (2006), formalin dalam tubuh akan mengakibatkan iritasi lambung, karena formalin memiliki sifat iritan kuat membran mukosa saluran cerna.

4.1.5 Laju pertumbuhan berat badan tikus

Laju pertumbuhan relatif atau *Growth rate*: 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. Data laju pertumbuhan relatif berat badan tikus per 3 hari dengan lama konsumsi 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada lampiran 14, sedangkan rata - rata laju pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel 16.

Pertumbuhan berat badan tikus berbeda tiap harinya, maka untuk mengetahui pengaruh jumlah ransum pakan yang dikonsumsi terhadap berat badan dapat dilihat dari laju pertumbuhannya. Menurut Effendie (1997). Laju pertumbuhan relatif adalah panjang / bobot yang dicapai dalam suatu periode tertentu yang dibandingkan dengan panjang / bobot tubuh awal periode. Menurut Sitompul dan Bambang (1995). Laju pertumbuhan relatif berat badan tikus:

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

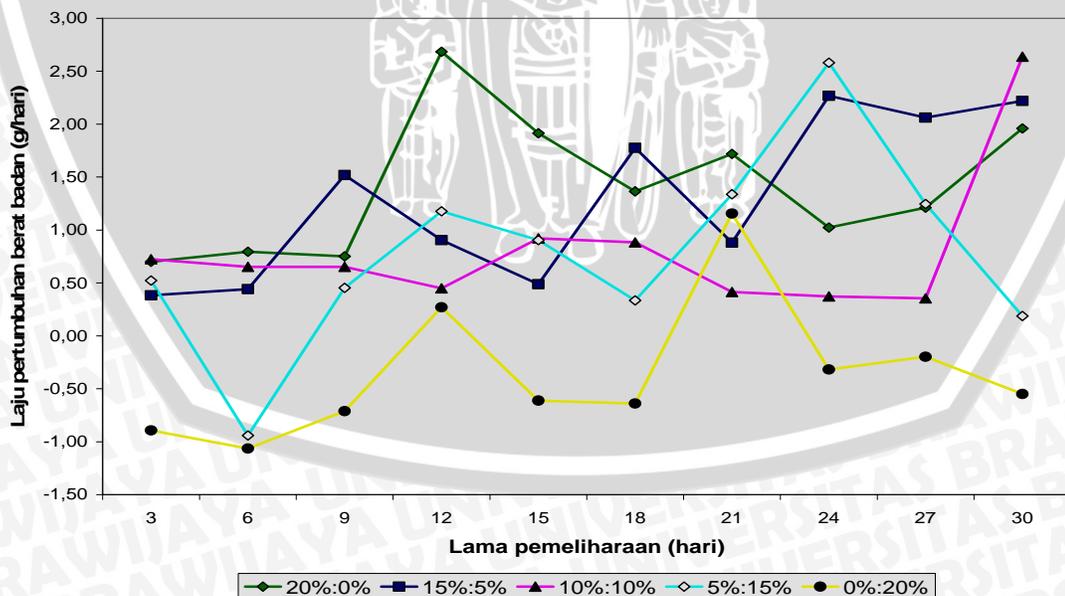
Ket : W_2 = Berat badan pada hari ke-x

W_1 = Berat badan pada hari sebelumnya

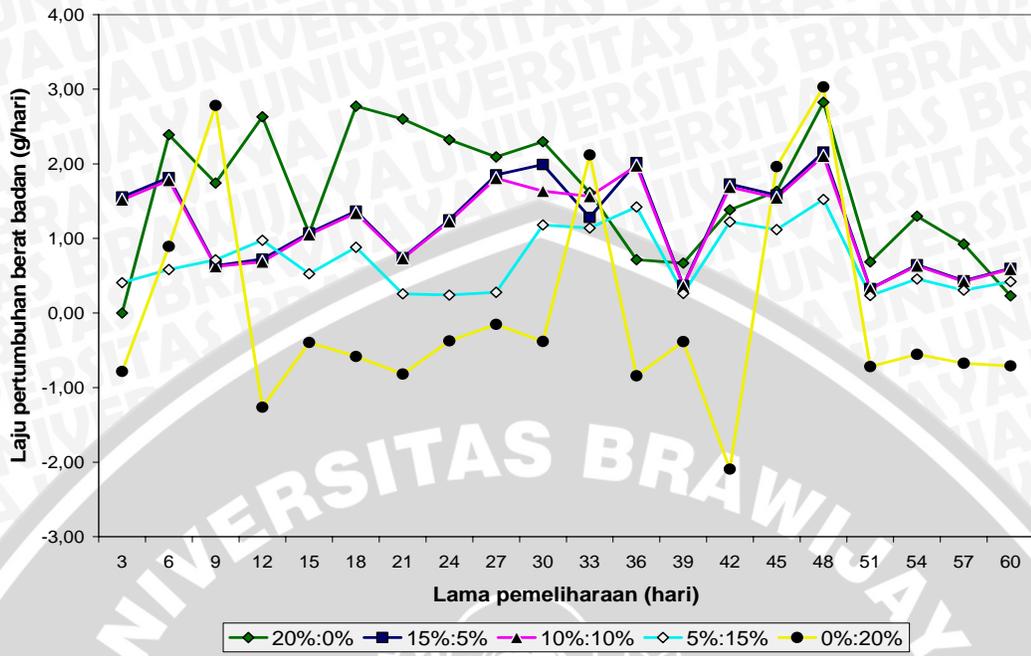
T_2 = Hari ke-x

T_1 = Hari sebelumnya

Grafik laju pertumbuhan berat badan tikus dapat dilihat pada Gambar 10, sedangkan data laju pertumbuhan tikus dapat dilihat pada Lampiran 9.



(A)



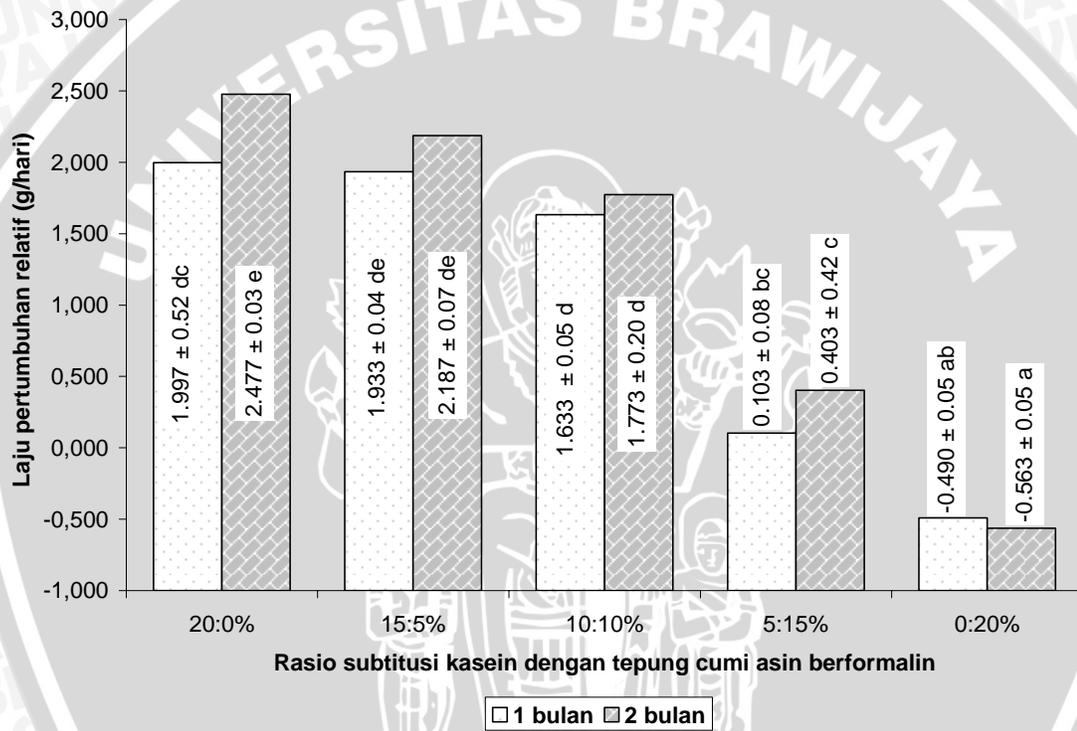
(B)

Gambar 10. Grafik laju pertumbuhan berat badan tikus selama pemeliharaan (A) pemeliharaan I bulan (B) pemeliharaan 2 bulan.

Pada tikus dengan konsumsi kasein saja rata - rata memiliki laju pertumbuhan berat badan tikus sebesar $2,00 \pm 0,52g$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $2,48 \pm 0,03g$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. Pemberian pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0% : 20%) mengakibatkan laju pertumbuhan berat badan tikus $-0,49 \pm 0,05g$ pada saat 1 bulan setelah setelah pemberian pakan berat badan tikus menjadi $-0,57 \pm 0,05g$ pada saat 2 bulan. Laju berat badan tikus yang mengkonsumsi kasein akan mengalami peningkatan, sebaliknya perlakuan pakan tikus tepung cumi asin berformalin akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan tikus. Nilai gizi ransum yang mengandung formalin menjadi rendah karena zat - zat gizi pada ransum terutama protein telah berikatan dengan gugus aldehid dalam formalin sehingga sulit di cerna dan

mengganggu proses metabolisme makanan yang pada akhirnya dapat mengganggu pertumbuhan tikus sehingga tubuh tikus menjadi kurus.

Menurut Lu (1995) adanya suatu zat kimia dalam makanan dapat mengganggu selera makan akibatnya dapat menurunkan konsumsi makanan dimana konsumsi makanan merupakan salah satu respon bertingkat sehingga respon akan meningkat bersama meningkatnya dosis atau asupan.



Gambar 11. Histogram laju pertumbuhan berat badan tikus selama pemeliharaan 1 bulan dan 2 bulan

Tabel 13. Data rata - rata laju pertumbuhan berat badan tikus pada pemberian (g / hari).

Rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin (%)	Waktu Pemberian		Rata - rata laju pertumbuhan berat badan tikus (g /hari) ^{*)}
	1 bulan	2 bulan	
20:0	2 ± 0,52dc	2,48 ± 0,03e	2,24 ± 0,42
15:5	1,93 ± 0,04de	2,19 ± 0,07de	2,06 ± 0,15
10:10	1,63 ± 0,06d	1,77 ± 0,21d	1,7 ± 0,16
5:5	0,1 ± 0,08bc	0,4 ± 0,41c	0,25 ± 0,31
0:20	-0,49 ± 0,05ab	-0,56 ± 0,05a	-0,53 ± 0,06

Keterangan : ^{*)}ulangan = 3

Hasil analisis statistik pada Lampiran 9 menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus ($p < 0,05$). Waktu pemberian berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus ($p < 0,05$). Terdapat interaksi yang nyata rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan waktu pemberian terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus ($p < 0,05$). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 10 di atas terlihat bahwa semakin besar persentase tepung cumi asin berformalin akan menurunkan rata - rata laju pertumbuhan berat badan tikus baik pada waktu pemeliharaan tikus selama 1 bulan maupun 2 bulan. Berdasarkan hasil uji BNJ pada perlakuan dengan $\alpha = 0,05$ dapat diambil kesimpulan : laju pertumbuhan tikus menunjukkan perbedaan yang nyata dengan diterapkannya substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dibandingkan dengan kontrol.

Laju pertumbuhan tikus terendah diperoleh dari perlakuan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 0% : 20% pada waktu 1 bulan yang tidak berbeda nyata dengan 0% : 20% pada waktu 2 bulan. Pada waktu 1 bulan, laju pertumbuhan tikus sedangkan perlakuan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi

asin berformalin sebesar 10%: 10%, 15% : 5% dan 10%: 10%, 15% : 5% tidak berbeda nyata pada waktu 2 bulan maupun 20% : 0%. Pada waktu 1 dan 2 bulan sebesar 5% : 15% laju pertumbuhan tikus menunjukkan tidak berbeda nyata dengan diterapkannya substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin.

Laju pertumbuhan tikus tertinggi diperoleh dari perlakuan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin sebesar 20% : 0% pada waktu 2 bulan yang tidak berbeda nyata dengan 20% : 0%, 15% : 5% pada waktu 2 bulan maupun 20% : 0%, 15% : 5% pada waktu 1 bulan. Semakin besar persentase tepung cumi asin berformalin akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan tikus. Semakin lama waktu pemeliharaan tikus akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan tikus.

4.2. Pengaruh Konsumsi Ransum Pakan Berformalin Terhadap Berat dan Kondisi Organ Dalam (hati, ginjal, limpa) Tikus Percobaan.

Organ tikus yang diukur pada penelitian ini adalah organ hati, limpa dan ginjal. Efek pemberian tepung cumi berformalin berakibat pada terhambatnya laju pertumbuhan berat badan sehingga juga akan berdampak pada berat organ. Analisa foto Jaringan Organ. Pada penelitian ini juga dilakukan foto jaringan pada organ dalam yang bertujuan untuk mengetahui anatomi jaringan hati sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi cumi berformalin terhadap organ dalam hati tikus.

4.2.1 Organ hati

Hati adalah organ terbesar yang secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar zat toksikan (Lu, 1995). Hasil foto jaringan hati tikus dapat dilihat pada Gambar 12, 13, 14, 15, 16, 17,18,19,20,dan 21.

Fungsi dasar hati menurut Djojopranoto (1960) adalah lobulus hati (hati berisi 1000 sampai dengan 100.000 lobulus) yang terdiri dari : Fungsi vaskular : menyimpan dan menyaring darah. Fungsi metabolisme yang berhubungan dengan sebagian besar sistem metabolisme tubuh. Fungsi sekresi dan ekskresi yang berperan membentuk empedu yang mengalir melalui saluran empedu ke saluran pencernaan.

Tabel 14. Data presentase perbandingan antara berat organ hati dengan berat badan.

Lama Konsumsi	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ hati (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Persentase perbandingan berat organ hati dan berat badan (%)
1 bulan	20:0	4,47±0,15	87,07±0,85	5,1332±0,1253
	15:5	3,69±0,17	83,19±3,84	4,4344±0,0044
	10:10	2,9±0,14	65,41±3,21	4,4371±0,0059
	5:15	2,87±0,23	64,83±5,09	4,4339±0,0039
	0:20	2,34±0,35	52,7±7,74	4,4425±0,0064
2 bulan	20:0	6,87±0,55	138,21±5,17	4,9691±0,2843
	15:5	5,2±0,1	116,82±2,2	4,4543±0,0039
	10:10	5,09±0,09	114,19±1,96	4,4537±0,0017
	5:15	3,68±0,1	82,52±2,36	4,4543±0,0051
	0:20	2,53±0,15	138,21±5,17	4,4545±0,0017

Keterangan : ulangan = 3

$$: \text{Presentase berat hati dengan berat badan (\%)} = \frac{\text{Berathati(g)}}{\text{BeratBadan(g)}} \times 100\%$$

Tabel 15. Hasil diagnosa pada hati tikus kontrol dan perlakuan

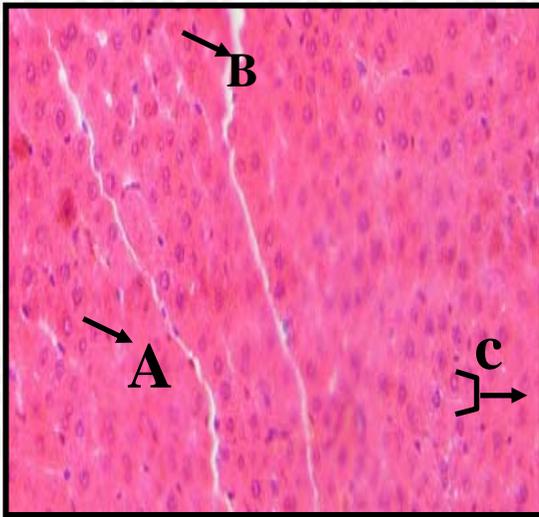
Faktor		Jumlah tikus (ekor)		
Lama konsumsi (bulan)	Jenis ransum (kasein:tepung cumi berformalin (%))	Normal (TAP)	Mengalami degenerasi vakuola (DV)	Mengalami Infiltrasi glikogen pada sitoplasma sel hati (IG)
1 bulan	20:0	3	0	0
	15:5	3	0	0
	10:10	3	0	0
	5:15	2	1	0
	0:20	2	1	0
2 bulan	20:0	3	0	0
	15:5	3	0	0
	10:10	2	1	0
	5:15	0	2	1
	0:20	0	1	2

Keterangan :

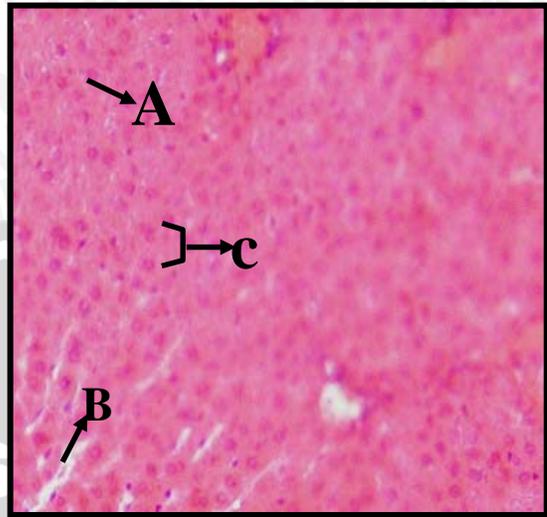
TAP : Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ

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

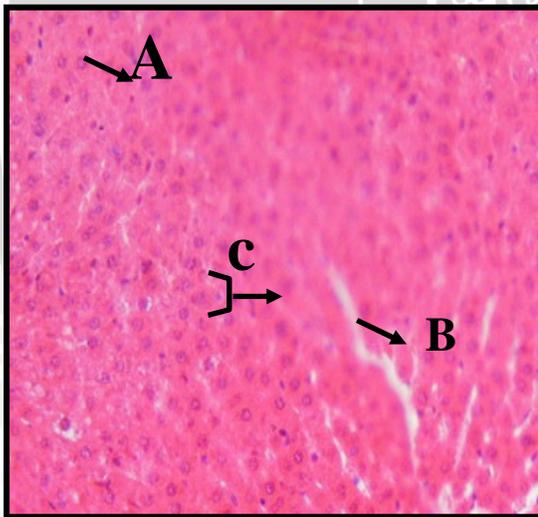
IG : Infiltrasi glikogen pada sitoplasma sel hati



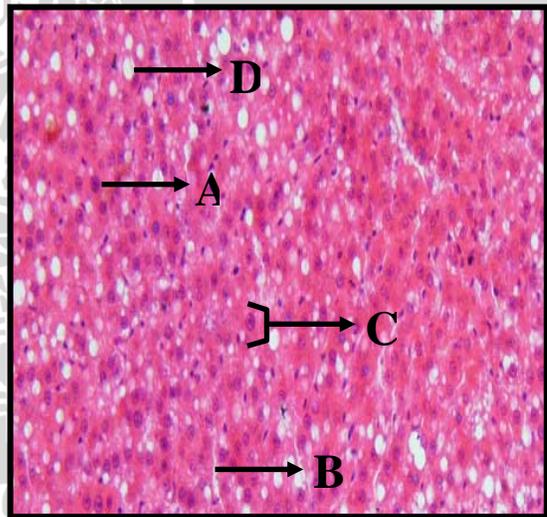
Gambar12. Struktur histologis jaringan hati tikus normal (1 bulan).



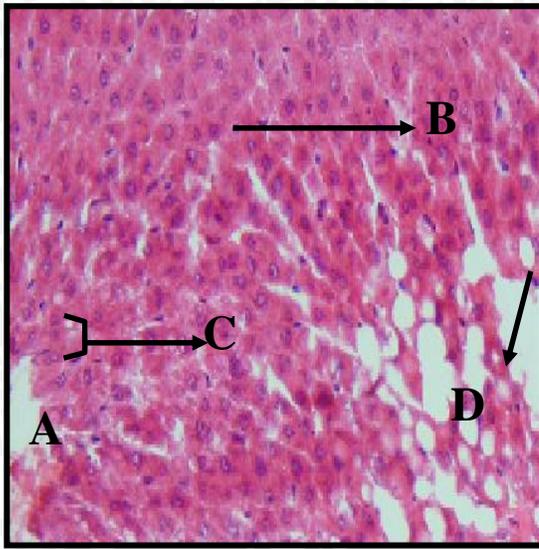
Gambar 13. Struktur histologis jaringan hati tikus (15%:5%) normal (1 bulan).



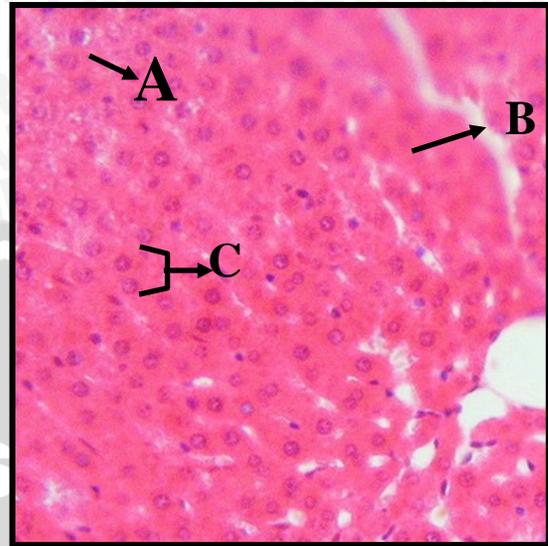
Gambar 14. Struktur histologis jaringan hati tikus (5%:10%) normal (1 bulan).



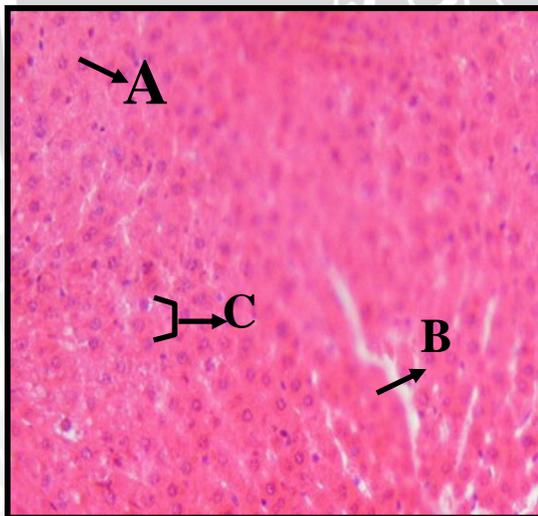
Gambar 15. Struktur histologis jaringan hati tikus (5%:15%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)



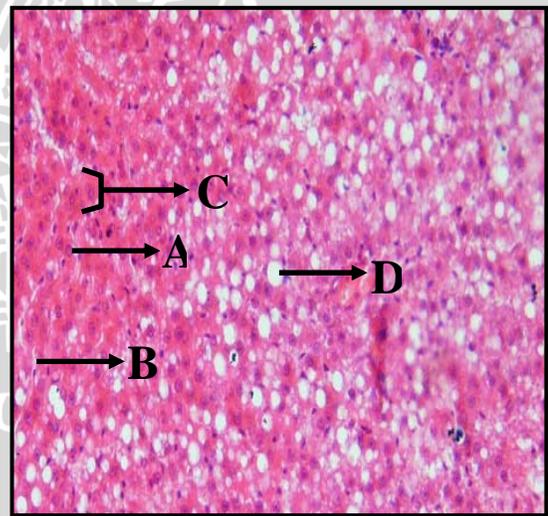
Gambar 16. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).



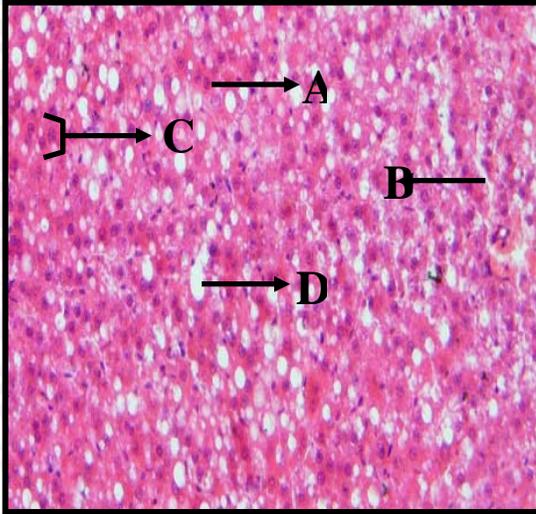
Gambar 17. Struktur histologis jaringan hati tikus normal (2 bulan).



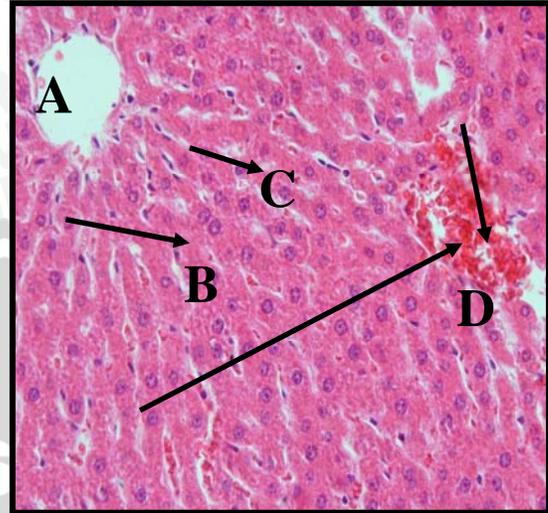
Gambar 18. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (10% : 5%) normal (2 bulan).



Gambar 19. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).



Gambar 20. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV).



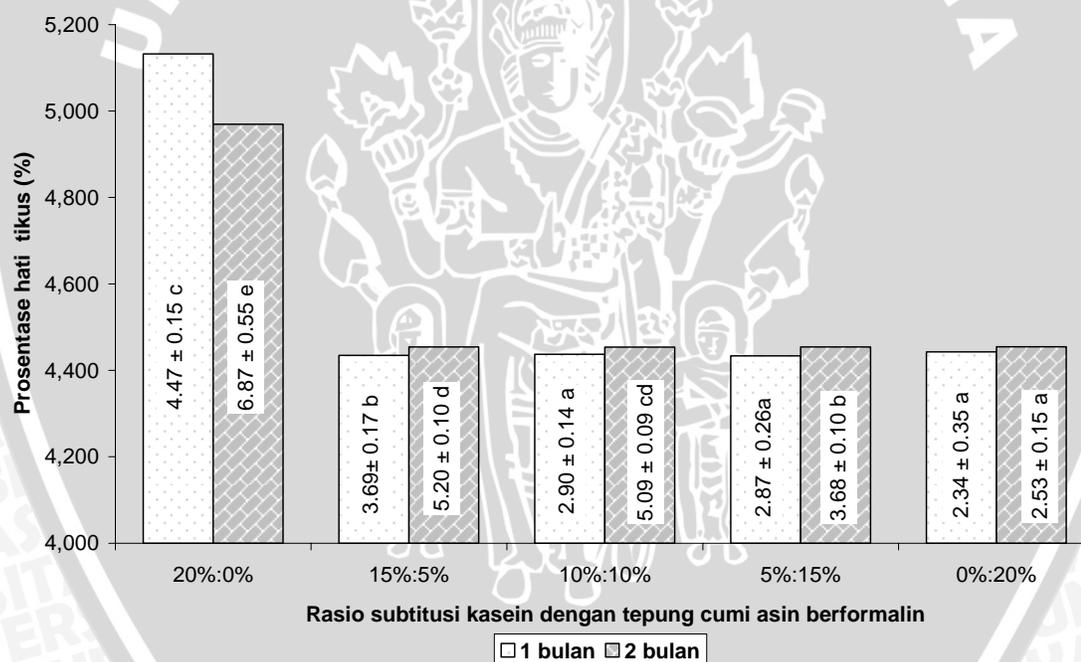
Gambar 21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami infiltrasi glikogen (IG).

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; A. Inti B. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); C. Sel hepatosit; D. Timbunan lemak trigliserida dan metabolit dalam vakuola-vakuola yang terbentuk didalam sitoplasma.

Berdasarkan Tabel dan Gambar diatas dapat diketahui berat badan sangat mempengaruhi persentasi berat organ hati tikus pada organ hati tikus kontrol dan tikus perlakuan. Analisa foto jaringan organ hati menjelaskan tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ untuk I bulan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin (15% : 5%), dan (10% :10%), sedangkan untuk rasio (5% :15%), dan (0% : 20%) adanya bentukan vakuola lemak yang berbatas jelas pada sitoplasma sel hati. Pada umur 2 bulan berat organ hati mulai mengecil dan mengalami infiltrasi glikogen pada sitoplasma sel hati pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap berat hati tikus yang semakin mengalami degenerasi vakuola untuk perlakuan (10% : 10%). Terjadi kerusakan anatomi jaringan hati tikus (DV) degenerasi vakuola dapat terjadi karena intoksifikasi zat kimia yang digunakan dalam penelitian yaitu : formalin. Berat badan adalah salah satu faktor yang mempengaruhi berat organ semakin turun berat badan maka berat organ ikut turun.

Hati yang tidak mengalami DV selain perlakuan kontrol baik lama konsumsi (kasein : tepung cumi berformalin (%)) I bulan dengan rasio 15% : 5% dan 10% : 10% untuk 2 bulan (15% : 5%). Hal tersebut sesuai dengan indeks perbandingan berat organ hati dengan berat badan tikus maka kemungkinan terjadi DV juga semakin besar. Pada perlakuan I untuk rasio (15% : 5%) dan (0% : 20%), 2 (10% : 10%), (5% : 15%), dan (0% : 20%) yang hatinya mengalami DV memiliki berat badan lebih rendah apabila di bandingkan dengan tikus kontrol dan tikus perlakuan. Menurut Djojopranoto (1960), Degenerasi vakuola dapat terjadi karena beberapa sebab antara lain : Anoxia (infeksi yang disertai panas tinggi), intoksifikasi bermacam-macam zat kimia, kimia terlalu banyak makan, kelaparan ("starvation"), diabetes.

Untuk jenis ransum (kasein : tepung cumi berformalin) (5%:15%), dan (0%:20%) telah mengalami infiltrasi glikogen pada sitoplasma sel hati Infiltrasi ialah : gangguan sistemik, maka sel yang sehat oleh karena kadar yang tinggi dari pada zat - zat tertentu, akan menimbun zat ini dan akhirnya menjadi sakit. Perlemakan terjadi primer pada gangguan fungsi metabolisme sel. Infiltrasi lemak terjadi sebagai akibat kadar tinggi dalam sirkulasi yang memasuki sel secara berlebih - lebihan, sehingga melampaui daya metabolisme sel yang bersangkutan. Infiltrasi lemak stromal terjadi penimbunan lemak dalam jaringan interstitial, dengan melakukan desakan pada sel yang dapat mengalami gangguan fungsional (Djojopranot, 1960).



Gambar 22. Histogram berat organ hati tikus.

Pada tikus dengan konsumsi kasein saja rata - rata memiliki berat organ hati sebesar $5,1332 \pm 0,1253\%$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $4,9691 \pm 0,2843\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. Pemberian pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0% : 20%) mengakibatkan berat organ hati tikus menjadi $4,4425 \pm 0,0064\%$ pada

saat 1 bulan setelah pemberian dan $4,4545 \pm 0,0017\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. Menurut Lu (1995) meski suatu efek tidak selalu menunjukkan toksisitas, dalam beberapa kasus tertentu peningkatan berat hati merupakan kriteria paling peka untuk toksisitas. Kerusakan hati mengandung lipid berwarna kuning cerah dan berlemak yang mengalami degradasi lemak. Pada hati pembengkakan sel yang sederhana menyangkut penimbunan lipid intrasel dalam sel yang terserang.

Jenis perubahan yang sering dijumpai, melibatkan ginjal, otot jantung, dan hati, khususnya hati. Secara mikroskopis, sitoplasma dari sel - sel yang terkena bervakuola berisi banyak lipid yang tertimbun didalam sel sehingga inti sel terdesak kesatu sisi dan sitoplasma sel diduduki oleh satu vakuola besar yang berisi lipid. Secara mikroskopis perubahan pembengkakan sel mengalami pembesaran jaringan atau organ yang terkena dengan penambahan berat badan moderat. Pengaruh pembengkakan dapat dihilangkan dengan mengeluarkan natrium bersama dengan air dan volumenya kembali menjadi normal. Price (1982).

Hasil analisis statistik pada Lampiran 9, menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap berat organ hati ($p < 0,05$). Waktu pemberian berpengaruh nyata terhadap berat organ hati ($p < 0,05$). Terdapat interaksi yang nyata rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan waktu pemberian terhadap berat organ hati tikus ($p < 0,05$). Hal ini diduga karena organ hati merupakan organ yang memiliki enzim - enzim yang dapat merubah zat asing/zat kimia menjadi metabolitnya, sehingga lebih mudah diekskresikan ke dalam urin. Menurut Lu (1995), banyaknya enzim - enzim detoksifikasi di dalam hati dan banyaknya tempat-tempat pengikatan yang reaktif sehingga mencegah timbulnya

tanda-tanda keracunan yang nyata. Hati juga mengubah zat buangan dan bahan racun sehingga mudah untuk diekskresikan ke dalam empedu dan urin(Pearce, 1991).

4.2.2 Organ ginjal

Ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksikan, karena ginjal memiliki fungsi metabolisme dan ekskresi yang lebih tinggi akibatnya organ ini lebih peka terhadap toksikan (Lu, 1995).

Menurut Price (1982). Fungsi utama ginjal sebagai organ pengatur dalam tubuh. Ekskresi : mempertahankan osmolalitas plasma mendekati 285mosm dengan mengubah - ubah ekskresi air, mempertahankan konsentrasi elektrolit plasma dalam batas - batas yang normal, mempertahankan pH plasma mendekati 7,4 dengan membuang H⁺ yang berlebihan dan membentuk kembali HCO₃⁻ sedangkan non ekskresi : menghasilkan renin penting dalam pengaturan tekanan darah, menghasilkan eritropoietin suatu faktor penting untuk perangsangan pembentukan sel-sel darah merah dalam sum - sum tulang, metabolisme vitamin D menjadi bentuknya yang aktif degradasi insulin.

Tabel 16. Presentase perbandingan antara berat organ ginjal dengan berat badan

Lama Konsumsi	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ ginjal (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Persentase perbandingan berat organ ginjal dan berat badan (%) ^{*)}
1 bulan	20:0	1,11±0,2	87,07±0,85	1,2684±0,2219
	15:5	1±0,05	83,19±3,84	1,204±0,004
	10:10	0,79±0,04	65,41±3,21	1,2069±0,0025
	5:15	0,78±0,06	64,83±5,09	1,2069±0,0017
	0:20	0,64±0,1	52,7±7,74	1,2077±0,0068
2 bulan	20:0	2,17±0,12	138,21±5,17	1,5712±0,0624
	15:5	1,16±0,02	116,82±2,2	0,9912±0,0016
	10:10	1,13±0,02	114,19±1,96	0,9887±0,0022
	5:15	0,82±0,02	82,52±2,36	0,9965±0,0018
	0:20	0,57±0,03	138,21±5,17	1,0007±0,0035

Keterangan : ulangan = 3

$$: \text{Presentase berat ginjal dengan berat badan (\%)} = \frac{\text{Beratginjal(g)}}{\text{BeratBadan(g)}} \times 100\%$$

Tabel 17. Hasil diagnosa pada ginjal tikus kontrol dan perlakuan

Faktor		Jumlah tikus (ekor)	
Lama konsumsi (bulan)	Jenis ransum (kasein : tepung cumi berformalin) (%)	Normal (TAP)	Mengalami nekrosis (N,CA)
1 bulan	20:0	3	0
	15:5	3	0
	10:10	3	0
	5:15	3	0
	0:20	2	1
2 bulan	20:0	3	0
	15:5	2	1
	10:10	2	1
	5:15	1	2
	0:20	0	3

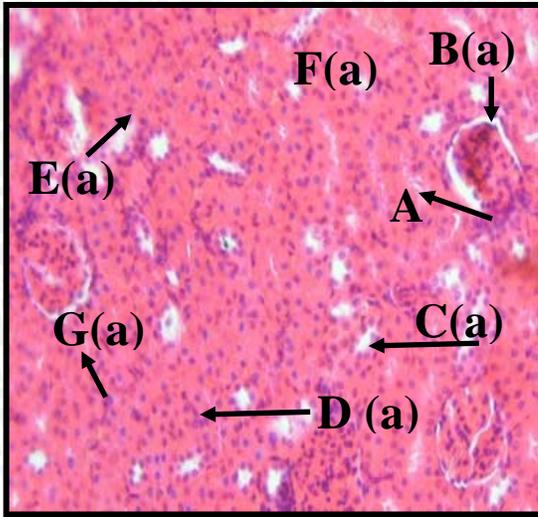
Keterangan :

TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ

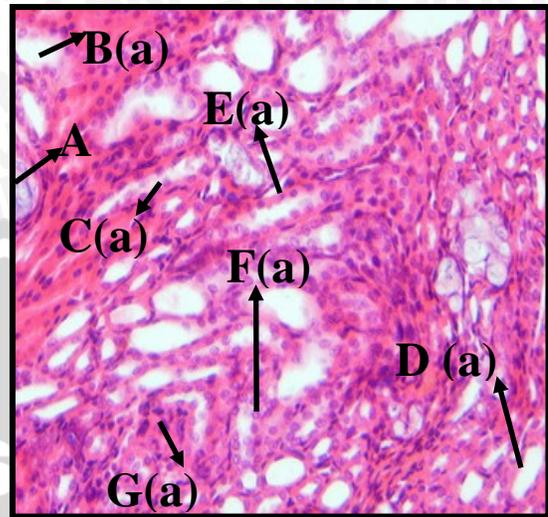
N = Nekrosis (kematian sel yang ditandai dengan lisis atau piknotik pada inti dan sitoplasma eosinofilik) pada epitel tubuli ginjal

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

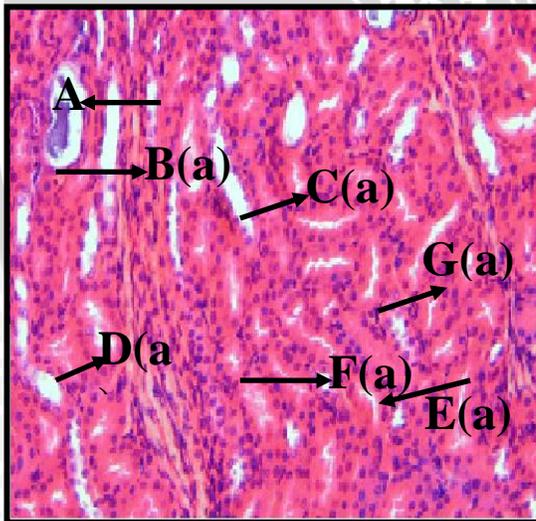
Pada penelitian ini N,CA yang terjadi pada ginjal tikus perlakuan 1 (0% : 20%) dan 2 (15%: 5%); (10% : 10%); (5% : 15%); (0% : 20%) termasuk N,CA yang disebabkan oleh Agens kimia, yaitu formalin. Hasil foto jaringan ginjal tikus dapat dilihat pada Gambar 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, dan 32.



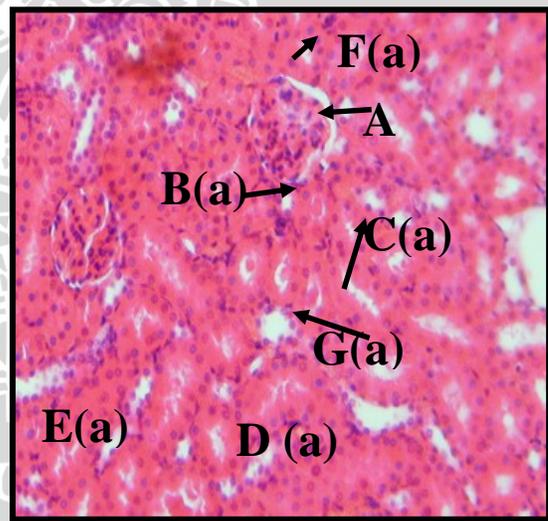
Gambar 23. Struktur histologis jaringan ginjal tikus normal (1 bulan).



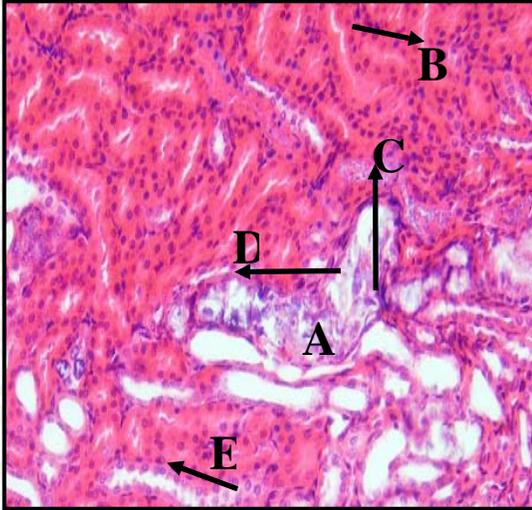
Gambar 24. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15% : 5%) normal (1 bulan)



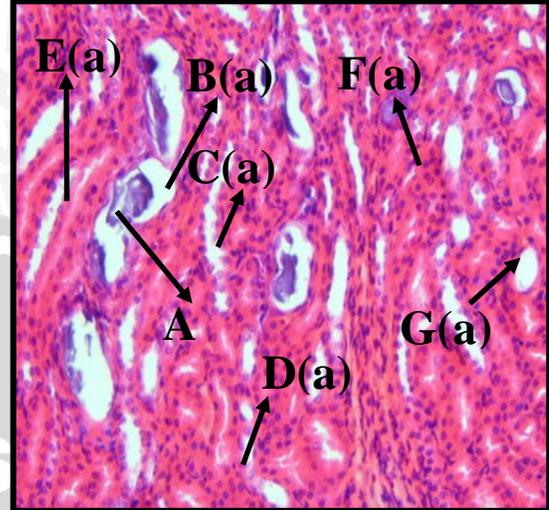
Gambar 25. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10% : 10%) normal (1 bulan)



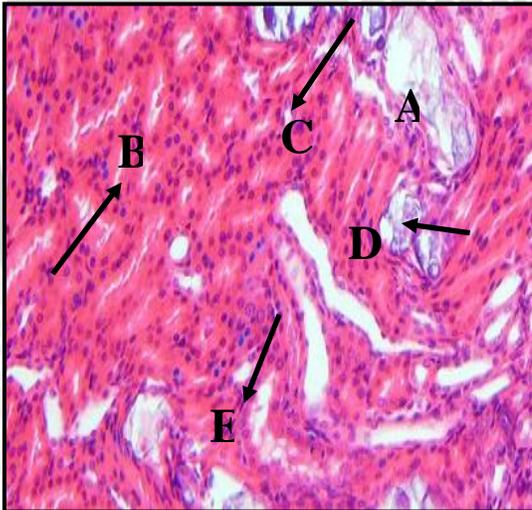
Gambar 26. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (5% : 15%) normal (1 bulan)



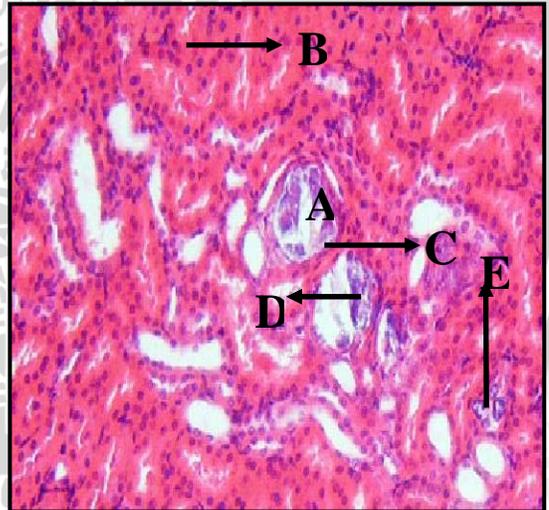
Gambar 27. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)



Gambar 28. Struktur histologis jaringan ginjal normal (2 bulan)

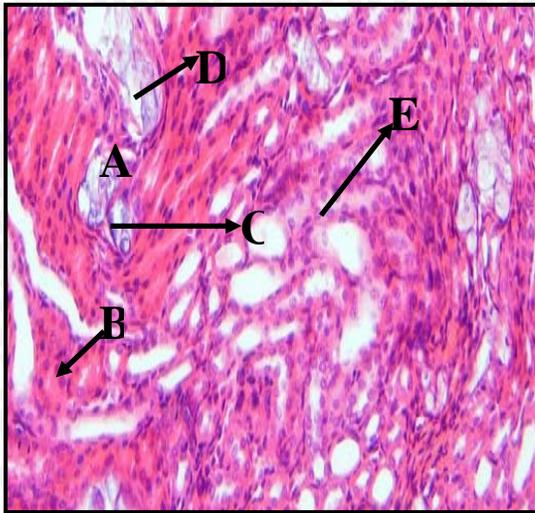


Gambar 29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

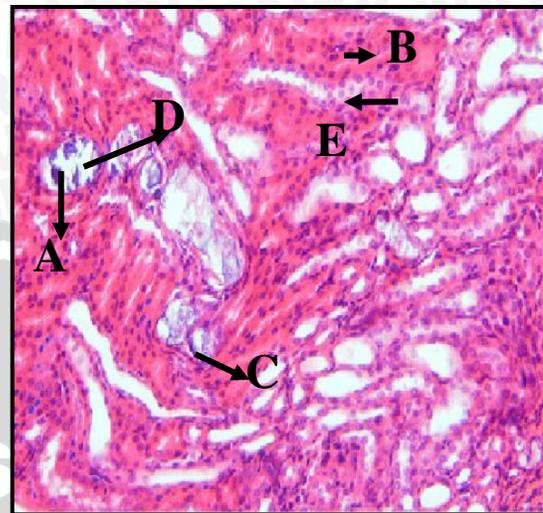


Gambar 30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

Keterangan : Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; A Glomerulus; B(a). Kapsul Bowman; C(a). Pancaran meduler; D(a). Tubula berpilin proksimal; E(a). Tubula berpilin distal; F(a). Inti; G(a). Lapisan parietal.



Gambar 31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (5%:15%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)



Gambar 32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (0%:20%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

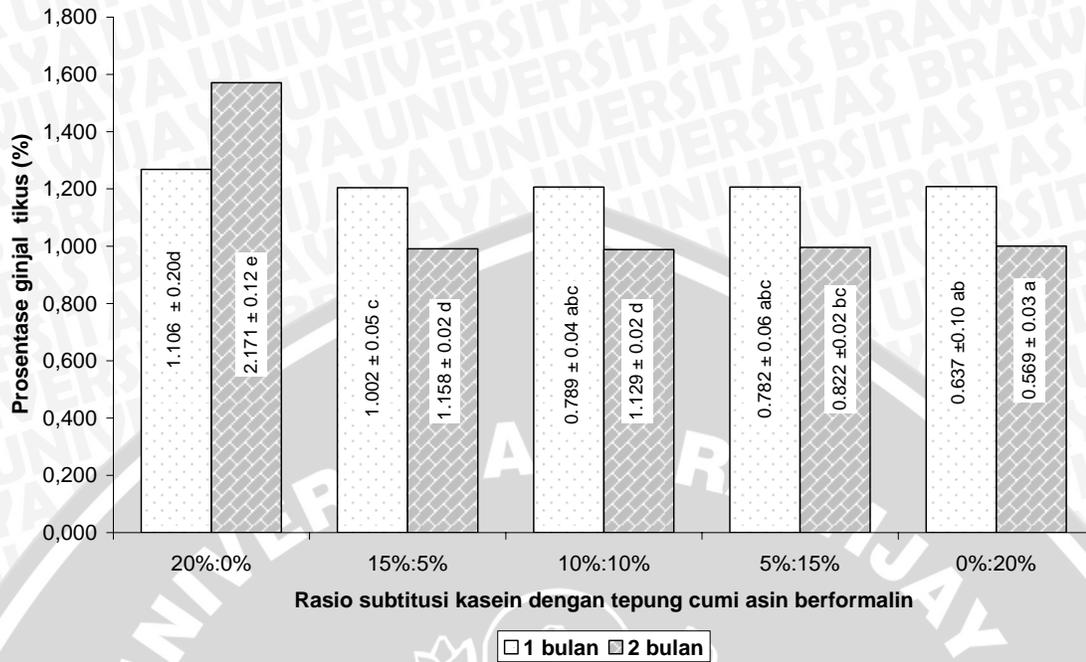
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; A.Glomerulus B Inti sel normal; C. Timbunan masa kalsium; D Kapsul Bowman; E. Inti sel mengalami karyolisis.

Pada Tabel dan Gambar tersebut, analisa foto jaringan organ hati menjelaskan tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ untuk 1 bulan pada rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin (5%:15%), (10%:10%) dan (15%:5%) tidak ada yang mengalami N,CA karena pemaparan formalin pada tubuh tikus hanya berlangsung selama 1 bulan sehingga masih dapat biotransformasi oleh ginjal, sedangkan untuk rasio (0% : 20%) organ ginjal telah mengalami (N,CA) walaupun lama konsumsinya 1 bulan dikarenakan tikus mengkonsumsi ransum yang mengandung formalin yang tinggi. Pada umur 2 bulan berat organ ginjal mulai muncul timbunan massa kalsium yang berwarna kebiruan pada daerah tubuli ginjal yang mengalami nekrosis untuk rasio (15%:5%), (10%:10%), (5%:15%), dan (0%:20%).

Pada tikus dengan konsumsi kasein saja rata - rata memiliki berat organ ginjal sebesar $1,2684 \pm 0,2219\%$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $1,5712 \pm 0,0624\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. Pemberian pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0 : 20) mengakibatkan berat organ ginjal tikus menjadi $1,2077 \pm 0,0068\%$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $1,0007 \pm 0,0035\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. akibat mengkonsumsi ransum yang mengandung formalin yang cukup tinggi dalam jangka waktu yang cukup lama sehingga terjadinya akumulasi formalin didalam jaringan tubuh tikus. (Atmodjo, 1990).

Menurut Bowen dan Lockshin (1981), nekrosis dimulai dari adanya gangguan dan kerusakan dari mitokondria mengakibatkan terganggunya reaksi fosforilasi oksidatif sehingga terjadi penurunan ATP, ATP menurun akan menyebabkan kebocoran membran plasma sehingga ion - ion yang berada di sekitar sel akan masuk yang akan mengakibatkan pembengkakan sel sehingga menyebabkan terjadinya kematian sel.

Nekrosis ialah degradasi / disorganisasi seluler yang ireversibel atau kematian sel jaringan tubuh sebagai akibat pengaruh jejas, didalam kehidupan individu dengan perubahan morfologi yang nyata pada inti sel sebagai tiknosis ialah penggumpalan kromatin dengan selaput inti berkerut, karyoreksis berupa selaput inti dengan fragmentasi isinya dan karyolisis atau kromotolisis ialah melarut seluruh inti. (Djojopranoto, 1960).



Gambar 33. Histogram berat organ ginjal tikus

Hasil analisis statistik pada Lampiran 11, menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap berat organ ginjal ($p < 0,05$). Waktu pemberian berpengaruh nyata terhadap berat organ ginjal ($p < 0,05$). Terdapat interaksi yang sangat nyata rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan waktu pemberian terhadap berat organ ginjal tikus ($p < 0,05$). Hasil analisis ini menjelaskan bahwa turunnya jumlah pakan yang dikonsumsi tikus disebabkan oleh tingginya tepung cumi asin berformalin dalam pakan yang akan mempengaruhi berat organ. Sedangkan perbedaan waktu pemberian pakan tidak berpengaruh kuat terhadap perbedaan jumlah pakan yang dikonsumsi. Terjadi kerusakan anatomi jaringan ginjal tikus (N, Ca) kematian sel jaringan tubuh dapat terjadi karena intoksifikasi zat kimia yang digunakan dalam penelitian yaitu : formalin.

Berdasarkan uji BNJ untuk konsentrasi formalin dalam pakan, menunjukkan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin pada ransum pakan maka berat

organ ginjal tikus semakin besar (konsentrasi 20% berpengaruh nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 18. Hal tersebut terjadi karena ginjal tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin mengalami nekrosis sehingga volume jaringan sel pada organ ginjal meningkat (Price dan Wilson 1985).

4.2.3 Organ limpa

Pada penelitian ini dilakukan foto jaringan pada organ limpa tikus yang bertujuan untuk mengetahui anatomi jaringan limpa sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi cumi berformalin terhadap organ dalam tikus terutama limpa. Menurut Price (1982).

Limpa adalah Suatu masa besar sel - sel limfoid dan retikuloendotel yang terletak dalam aliran darah. Limpa merupakan saluran tempat keluarnya sejumlah besar cairan melalui dindingnya masuk kedalam ruang Disse. Jika tekanan dalam sistem vena hati hanya naik dengan 3mm Hg, maka sejumlah cairan yang melimpah mulai mengalir melalui saluran - saluran limpa, yang segera akan melampaui kapasitasnya kemudian cairan tersebut akan berdifusi melalui kapsul hati kedalam rongga perut karena permeabilitasnya sinusoida, maka cairan ini hampir merupakan plasma murni. (Price, 1982).

Tabel 18. Hasil diagnosa pada limpa tikus kontrol dan perlakuan

Faktor		Jumlah tikus (ekor)	
Lama konsumsi (bulan)	Jenis ransum (kasein:tepung cumi berformalin) (%)	Normal (TAP)	Mengalami degenerasi vakuola atau nekrosis (DV/N,CA)
1 bulan	20:0	3	0
	15:5	3	0
	10:10	3	0
	5:15	3	0
	0:20	3	0
2 bulan	20:0	3	0
	15:5	3	0
	10:10	3	0
	5:15	3	0
	0:20	3	0

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.

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

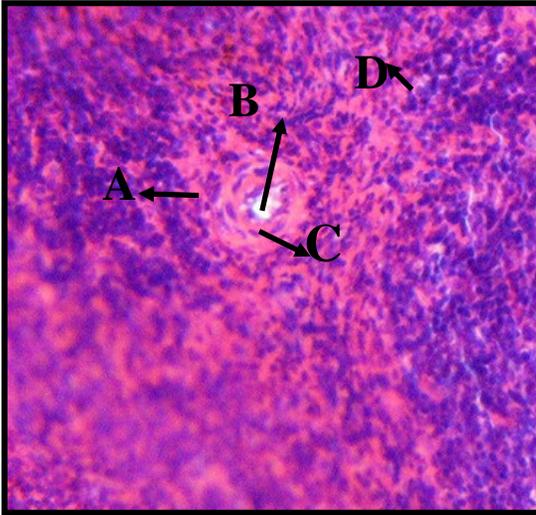
Tabel 19. Presentase perbandingan antara berat organ limpa dengan berat badan

Lama Konsumsi	Konsentrasi formalin (%)	Berat organ limpa (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Persentase perbandingan berat organ limpa dan berat badan (%) [*]
1 bulan	20:0	0,37±0,06	87,07±0,85	0,4288±0,0683
	15:5	0,38±0,02	83,19±3,84	0,4622±0,0014
	10:10	0,31±0,01	65,41±3,21	0,4689±0,0013
	5:15	0,30±0,02	64,83±5,09	0,4619±0,0031
	0:20	0,24±0,04	520,70±7,74	0,4632±0,0061
2 bulan	20:0	0,81±0,10	138,21±5,17	0,5855±0,0955
	15:5	0,44±0,01	1161,82±2,2	0,3763±0,0043
	10:10	0,43±0,01	114,19±1,96	0,3778±0,0028
	5:15	0,31±0,01	822,52±2,36	0,3788±0,0057
	0:20	0,21±0,01	138,21±5,17	0,3766±0,0015

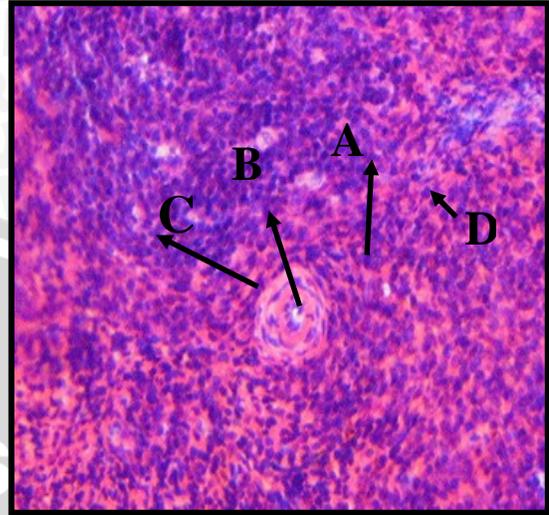
Keterangan : ulangan = 3

$$: \text{Presentase berat ginjal dengan berat badan} = \frac{\text{BeratLimpa}(g)}{\text{Beratbadan}(g)} \times 100\%$$

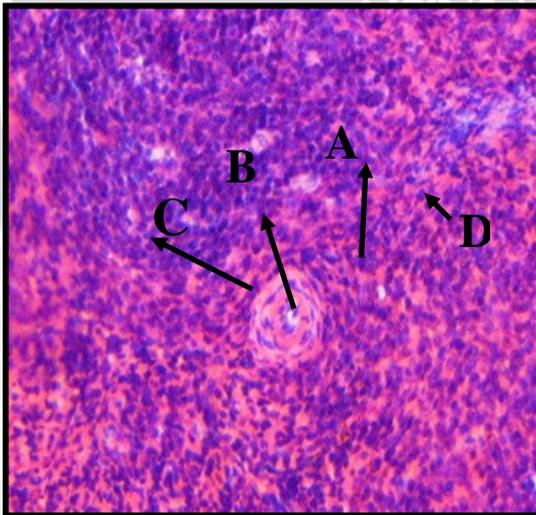
Dari hasil pemeriksaan anatomi jaringan limpa pada Tabel 19, dapat dilihat bahwa pada semua jaringan limpa tikus perlakuan tidak terjadi perubahan atau dapat dikatakan semua jaringan limpa tikus masih normal. Hasil foto jaringan limpa tikus dapat dilihat pada Gambar 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, dan 43.



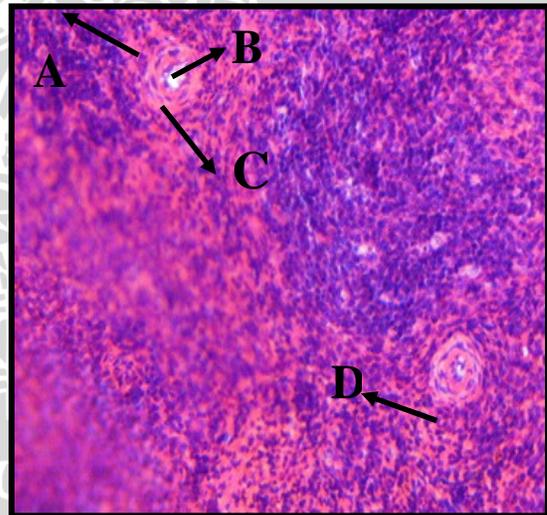
Gambar 34. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan normal (1 bulan)



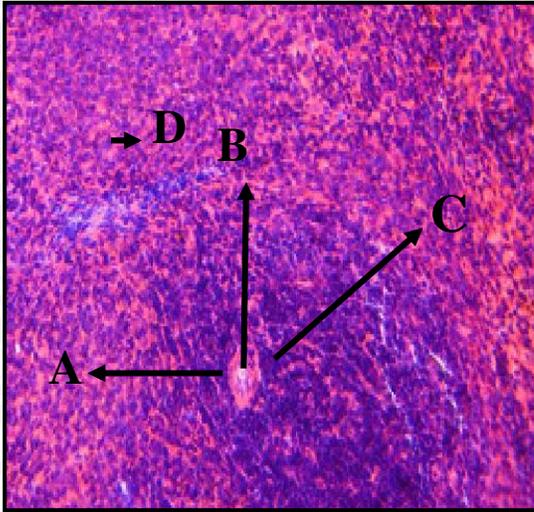
Gambar 35. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (15% : 5%) normal (1 bulan)



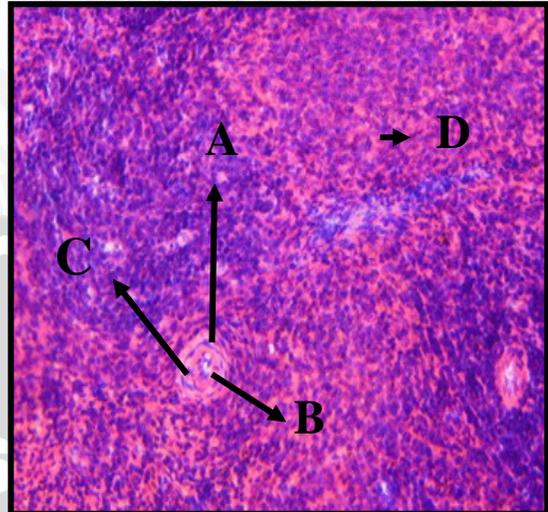
Gambar 36. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (10% : 10%) normal (1 bulan)



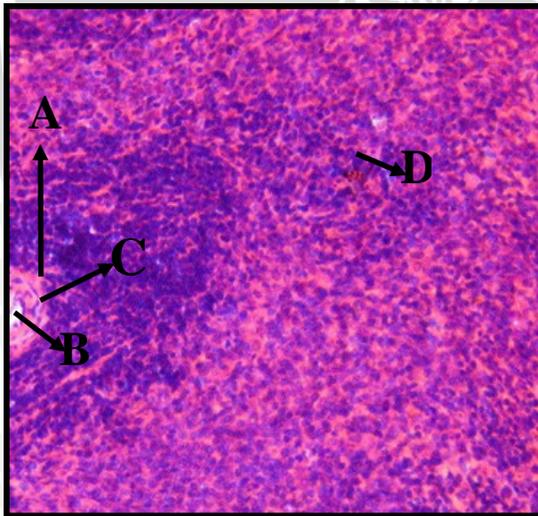
Gambar 37. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (5% : 15%) normal (1 bulan)



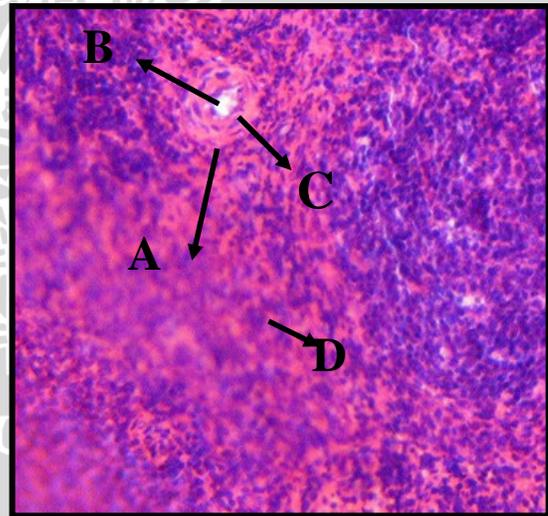
Gambar 38. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 0% :20% normal (1 bulan)



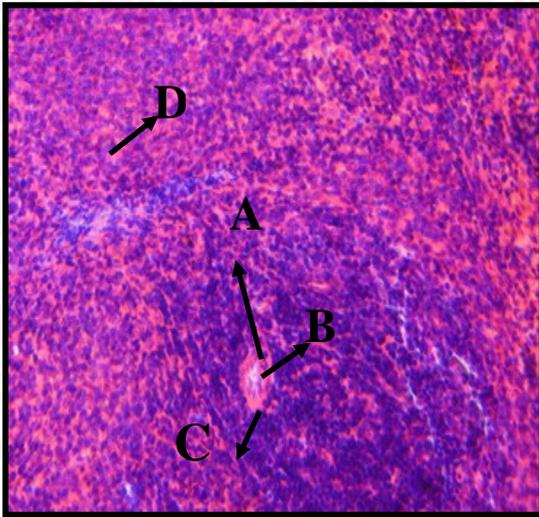
Gambar 39. Struktur histologis jaringan limpa tikus normal (2 bulan)



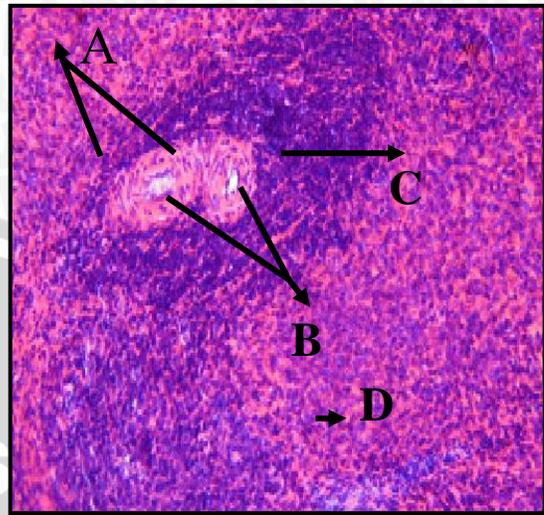
Gambar 40. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 15% :5% (2 bulan)



Gambar 41. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan 10%: 10% (2 bulan)



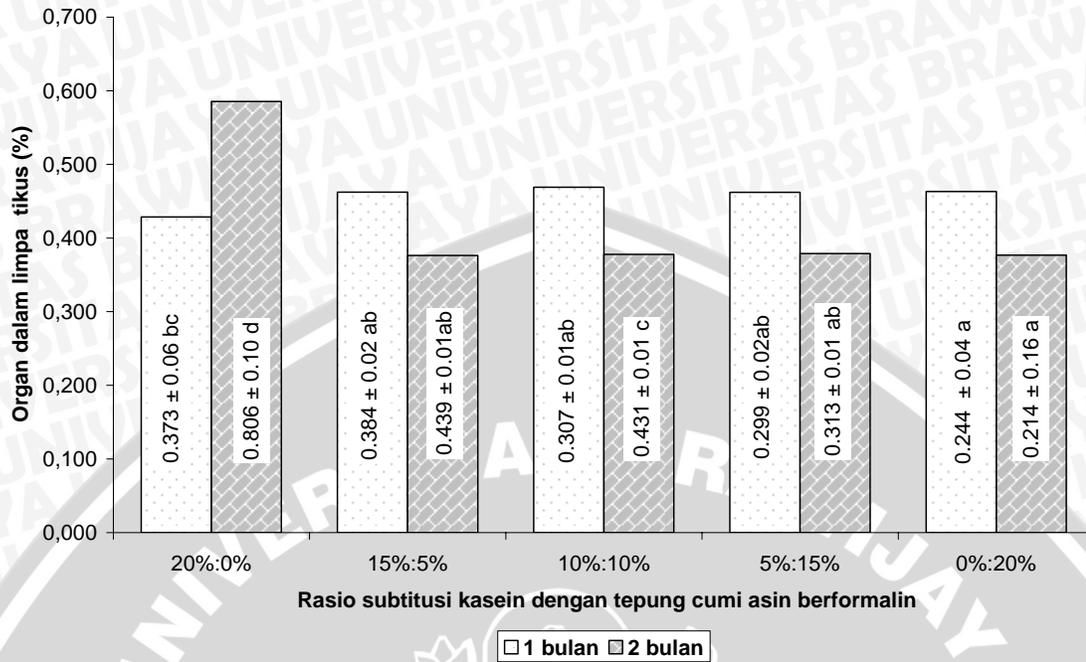
Gambar 42. Struktur jaringan histologis limpa tikus perlakuan 5%:15% (2bulan)



Gambar 43. Struktur jaringan histologis limpa tikus perlakuan 0%:20% (2 bulan)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X A. Pusat pembenihan; B Pulpa putih; C. Pulpa merah; D. Inti.

Pada Tabel dan Gambar tersebut dapat di simpulkan berat badan tikus sangat mempengaruhi terhadap berat organ limpa dan dapat dianalisa kerusakan organnya. Foto jaringan organ limpa menjelaskan tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ untuk 1 bulan maupun 2 bulan.



Gambar 44. Histogram berat organ limpa tikus

Pada tikus dengan konsumsi kasein saja rata - rata memiliki berat organ limpa sebesar $0,4288 \pm 0,0683\%$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $0,5855 \pm 0,0955\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian. Pemberian pakan tepung cumi asin berformalin (rasio 0 : 20) mengakibatkan berat organ limpa tikus menjadi $0,4632 \pm 0,0061\%$ pada saat 1 bulan setelah pemberian dan $0,3766 \pm 0,0015\%$ pada saat 2 bulan setelah pemberian.

Hasil analisis statistik pada lampiran 10, menunjukkan bahwa rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin berpengaruh nyata terhadap berat organ limfa ($p < 0,05$). Waktu pemberian berpengaruh nyata terhadap berat organ limpa ($p < 0,05$). Terdapat interaksi yang sangat nyata rasio substitusi kasein dengan tepung cumi asin berformalin dengan waktu pemberian terhadap berat organ limpa tikus ($p < 0,05$). Hasil analisis ini menjelaskan bahwa turunnya jumlah pakan yang dikonsumsi tikus disebabkan oleh tingginya tepung cumi asin berformalin dalam pakan yang akan

mempengaruhi berat organ. Sedangkan perbedaan waktu pemberian pakan tidak berpengaruh kuat terhadap perbedaan jumlah pakan yang dikonsumsi. Hasil analisa foto jaringan organ limpa menjelaskan tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ limpa itu sendiri masih dalam keadaan normal. Adanya perubahan warna merah menjadi merah muda hasil reduksi asam lemak yang berwarna hitam. (Djojopranoto, 1960). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 21. Hal tersebut terjadi karena limpa tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin terlalu banyak menangkap sel-sel yang abnormal dari dalam darah untuk dihancurkan dan dibuang oleh limpa. (Medicastore, 2007).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian semakin besar konsentrasi tepung cumi asin berformalin (konsentrasi 20% : 0% lebih rendah bila dibandingkan dengan konsentrasi 0% : 20%) maka semakin rendah rata - rata jumlah pakan yang di konsumsi tikus. Sehingga besarnya persentase tepung cumi asin berformalin akan menurunkan laju pertumbuhan berat badan tikus baik pada waktu pemeliharaan tikus selama 1 bulan maupun 2 bulan, karena semakin besar persentase tepung cumi asin berformalin akan menurunkan rata - rata berat badan tikus.

Tingginya kandungan formalin dalam ransum perlakuan konsumsi dalam jangka waktu yang lama mengakibatkan formalin terakumulasi dalam tubuh tikus sehingga terjadi kerusakan anatomi jaringan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsumsi cumi - cumi asin berformalin terhadap kesehatan dan efek yang ditimbulkan pada jaringan organ dalam tikus dalam jangka waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius. hal 107 - 109.
- Anonymous. 1999^a. *Formaldehyde*. <http://www.eco-usa.net.formaldehyde.htm>. Diakses 19 Maret 2006. 2 hal.
- _____. 1999^b. *Toxicological Profile for Formaldehyde*. <http://www.atsor.ede.gov/toxprofiles/tp111>. Diakses 19 Maret 2006. hal 166-267.
- _____. 2004. *Fish Product : Contribution For a Healthy Food*. <http://ipimar.pt> Diakses tanggal 28 November 2006. 1 hal.
- _____. 2005^a. *Bahan Tambahan Makanan*. <http://www.suara-merdeka.co.id>. Diakses 19 Maret 2006. 2 hal.
- _____. 2005^b. *Berita Aktual : Formalin*. <http://www.bpom.co.id>. Diakses 20 Juli 2006. 2 hal.
- _____. 2005^c. *Mengenal Formalin*. <http://www.suarapembaharuan.com>. Diakses 20 Juli 2006. 2 hal.
- _____. 2005^d. *Kami Terpaksa Menggunakan Formalin*. Kompas. <http://www.kompas.com/Kesehatan/news/0512/29/072208.htm>. Diakses 20 Juli 2006. 1 hal.
- _____. 2005^e. *Pengembangan Limbah sebagai Bahan Baku Sekunder untuk Pakan dan Pupuk*. <http://www.ampl.or.id.mht>. Diakses 21 Agustus 2006. 1 hal.
- _____. 2006^a. *Awas Bahaya Formalin*. <http://www.suara-merdeka.co.id>. Diakses 20 Juli 2006. 3 hal.
- _____. 2006^b. *Formaldehyde and Cancer : Questions and Answers*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/risk/formaldehyde.14:37>. Diakses 6 Agustus 2006. 1 hal.
- _____. 2006^c. *Formaldehyde*. <http://www.wikipedia.org/wiki/formaldehyde.14:25>. Diakses 6 Agustus 2006 2 hal..
- _____. 2006^d. *Pusat Informasi Pelabuhan Perikanan*. [http://www.menlh.go.id/Pembuatan pelet kerapu/index-view.php?sub=7](http://www.menlh.go.id/Pembuatan%20pelet%20kerapu/index-view.php?sub=7). Diakses 20 Agustus 2006. 1 hal.
- _____. 2006^e. *Hand Book Of Test kit For Formalin In Food*. <http://www.formaline.sube.htm.17.00>. Diakses 4 Januari 2006. 1 hal.

- Atmodjo, P, A. 2001. *Album Patologi Anatomi* : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. hal15 – 83.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 229 hal.
- Astawan, M. 2006. MI, *Lezat Bergizi Tetapi Rawan Formalin*. http://www.indosiar.com/welcome/forum/topik.zsp?whichpage=1&topic_IP#1532235. Diakses 6 Agustus 2006. 5 hal.
- Astuti, M. 1986. *Uji Gizi I*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 57 hal.
- Barboun. B.and C. Packers. 1962. *Collected Method pacific Fisheries Technologists*. Kanada.7a pp.
- Barry, J. L and Tome, D. 1991. *Formaldehyde Content of Milk In Goats Fed Formaldehyde Treated Soybean Oilmeal*. Food Additive Contam 8:633-640.
- BBPOM. 2005. *Awas Formalin di Plastik Makanan*. http://www.republika.co.id/koran_detail.asp?id=231858&kat_id1=&kat_id2. Diakses tanggal 11Agustus 2006 pukul 18:50. 3 hal.
- Bolt, P. M. 1987. *Experimental Toxicology of Formaldehyde*. J. Cancer Res Clin Oncol 113:305-309.
- Bowen I. D. dan R A Lockshin. 1981. *Cell Death in Biology and Phatology*. Britis Library in Cataloguing Data. London. Chapman and Hill. Hal 9-29.
- Casanova Schimitz M, Raymond MD and Heck H d'A.1984. *Oxidation Of Formaldehyde Ald Acetaldehyde By NAD Dependent Dehydrogenases In Rat Nasal Mucosal Homogenates*. Biochem Pharmacol 33:1137-1142.
- Dabrowski, Teofil. 1970. *Studies on Chemical Composition of Cuttlefish (Sepia sp) Meat as Related to Its Nutritive Value, Acta Ichthyologica et Picatoria* Volume 1. 14 hal.
- Djojopranoto, M. 1963. *Buku Pelajaran Patologi*. Djilid I. Dasar - dasar Patologi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. 183 hal.
- Donatus, I. A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. 7-103 hal.
- Effendie, M. I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta. 163 hal.

- Elvandari, R. 2007. *Pengaruh Berbagai Level Konsentrasi Perendaman Formalin Pada Ikan Asin dan Residunya Setelah Diolah Menjadi Sambal Goreng*. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal.50
- Hadiwiyoto, S. 1993. *Teknologi pengolahan Hasil Perikanan* Jilid I. Liberty. Yogyakarta. 275 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. 1993. *Distribution of [¹⁴C] Formaldehyde in Rats After Inhalation Exposure*. In: Gibson JE, ed. *Formaldehyde Toxicity*. Washington, DC: Hemisphere Publishing Corporation, 26-37.
- Holland, B., A. A. Welch, I.D. Unwin, D.H. Buss, A.A. Paul and D.A.T. Southgate. 2001. *The Composition of Foods. Fifth Edition. Mc. Cance and Widdowson's*. London: Royal Society of Chemistry, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Instanref. 2006. *Chemical, Toxicity, Safety and Enviromental Analysis Information for Formadehyde*. <http://instanref.com/formald.htm>. diakses tanggal 19 maret 2006.2pp
- Judarwanto, W. 2006. *Pengaruh Formalin Bagi system Tubuh*. www. Putra Kembara. Organ. Diakses Tanggal 6 Januari 2006. 1-2 pp
- Kiernan. J.A. 2000. *Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde and Glutaraldehyde: What They Are and What They Do*. <http://publish.uwo.cankiernan/foermglut.htm>. Diakses tanggal 20 juli 2006. 1-2 pp.
- Koeman, J.D.1988. *Pengantar Umum Toksikologi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 34-81.
- Krishnan K. Andersen M.E. 1994. *Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling In Zoxicology*. In: Hayes A W, ed. *Principles And Methods Of Toxicology*. New Cork, NY: Raven Press, Ltd., 149-188.
- Lu, F.C.1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ sasaran dan Penilaian resiko*. Penerjemah : Edi Nugroho, Zunilda S.B dan Iwan Darmansyah. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Mangunsong, S. 2003. *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Bernilai Tambah*. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal PerikananTangkap Bagian Proyek Peningkatan Mutu dan Nilai Tambah Hasil Perikanan. 9 hal.

- Medicastore.2007. *Pembesaran Limpa*. [Http://www.medicastore.com/med/detail_pyk.php?=&idttl=163&idktg=12&idobat=&UID=20070417074058124.81.53.2.htm](http://www.medicastore.com/med/detail_pyk.php?=&idttl=163&idktg=12&idobat=&UID=20070417074058124.81.53.2.htm). Diakses tanggal 3 Mei 2007. 3pp
- Muchtadi, D. 1989. *Evaluasi Nilai Gizi Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. 216 hal.
- Murniyati, A. S. dan Sunarman. 2000. *Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius. 220 hal.
- Murrachman; Soetrisno, I. Dan J. A. Sumardi. 1983. *Cara Analisa Komposisi Kimia daging Ikan dan Hasil Peraairan Lainnya*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nasional Research Council (NRC). 1978. *Nutrient Requirements of Sciences*. Washington DC.
- Nasir, M. 1988. *Metode Penelitian*. Ghalia Indonesia. Jakarta.622 hal.
- New Zealand. 2005. *Komposisi Protein Pada Produk Calcium Caseinat*. Jakarta.
- Nurachman .Z. 2006. *Formalin*. zeily@chem.itb.ac.id. Diakses tanggal 28 Oktober 2006.
- Pearce, C, E. 1991. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Price, S. A dan L. M Wilson. 1982. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses - proses Penyakit*. BagianI. Edisi 2. Alih Bahasa : Adji Dharmas. EGC penerbit Buku Kedokteran. Jakarta 645 hal.
- PT. New Zealand. 2005. *Komposisi Protein Pada Produk Calcium Caseinat*. Jakarta.
- Rismana, E. 2004. *Mengenal Formalin, Bahaya dan Cara Mengetahuinya*. <http://www.cakrawal.co.id/pikiranrakyat-iptek.htm>. Diakses Tanggal 6 Januari 2006. 1-2 pp
- Siswanto, A. 2002. *Toksikologi Industri*. Disajikan dalam Pelatihan Hiperkes dan Keselamatan Kerja bagi Dokter Perusahaan. Jakarta: Departemen Tenaga Kerja. hal 16-33.
- Small, N. E. 2004. *Using Activities for Reaction Kinetics*. <http://chemical.good.uk/people/jack/Projects/proj2003.net/small.LAPdoc>. Diakses pada tanggal 6 Agustus 2006. 7 hal
- Sitompul, S. M dan Bambang G.1995. *Analisa Pertumbuhan Tanaman*. UGM press. Yogyakarta. 72 hal.

Sudarmadji, S, B. Haryono dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty 160 hal.

Suntoro, H..S. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bharathara Karya Aksara. 394 hal.

Wasito. 1991/1992. *Hewan Model Dalam Uji Gizi*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas. Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. 175 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. 1993. *Formalin dan Boraks Dalam Tahu, Mie dan Bakso*. Dimuat pada Harian Suara Pembaharuan. Edisi Mei 1993. 293-294 pp

Wulan, N.A. 2005. *Masyarakat Cenderung Abaikan Formalin*. <http://www.waspadaonline.com> Diakses tanggal 5 Januari 2006 pukul 11:52. 3 pp.

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

Yuniati, H. 2004. *Analisa Zat Gizi bahan Makanan Untuk Melengkapi Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Kumpulan Laporan Penelitian. <http://www.p3gizi.litbang.depkes.go.id>. Diakses 21 Agustus 2006. 1hal.

Yuswanto. 2006. *Formalin Tidak Berbahaya*. <http://www.jawapos.co.id/index.php?act=detailradar&id=113163>&. Diakses 20 Juli 2006. 2 hal.