

**PENGARUH KONSUMSI IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)
BERFORMALIN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN ORGAN
DALAM TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh:
CANDRA SURO LAKSONO
NIM. 0210830014



**FAKULTAS PERIKANAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2007**

RINGKASAN

CANDRA SURO LAKSONO. Pengaruh Konsumsi Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Berformalin Terhadap Pertumbuhan dan Organ Dalam Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Dibawah Bimbingan **Ir. J.A. Sumardi, MS dan Dr. Ir. Hardoko, MS.**

Formalin merupakan bahan kimia yang dilarang penggunaannya sebagai pengawet makanan dan telah diatur dalam Peraturan Menteri kesehatan No 1168/Menkes/PER/X/1999. Namun akhir-akhir ini kembali marak diberitakan penggunaan formalin sebagai pengawet makanan terutama produk perikanan (ikan lemuru), masyarakat/konsumen baik disengaja atau tidak sebenarnya telah sejak lama mengkonsumsi ikan yang mengandung formalin, namun sampai sekarang masih belum ada suatu bukti yang konkrit dari akibat mengkonsumsi ikan berformalin terhadap kesehatan para konsumen. Berdasarkan hal tersebut dirasa perlu dilakukannya penelitian untuk mengetahui secara pasti apakah penggunaan formalin pada hasil perikanan khususnya ikan lemuru yang ada dipasaran berdampak buruk terhadap tubuh, terutama organ dalam (hati, ginjal dan limpa).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yang bertujuan untuk mengetahui dan menentukan pengaruh konsumsi ikan lemuru berformalin pada kisaran residu yang terdapat dipasaran terhadap pertumbuhan dan jaringan organ dalam tubuh (hati, ginjal dan limpa) tikus percobaan. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 3 kali ulangan, dimana perlakuannya terdiri dari dua faktor yaitu lama konsumsi (A) yang terdiri dari 2 sub perlakuan yaitu 1 bulan (A1) dan 2 bulan (A2), faktor yang kedua yaitu konsentrasi substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin (B) yang terdiri dari 5 sub perlakuan yaitu: (20% : 0%) (B1); (15% : 5%)

(B2); (10% : 10%) (B3); (5% : 15%) (B4); (0% : 20%) (B5). Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan uji Tukey. Parameter uji meliputi jumlah konsumsi tikus, berat badan tikus dan organ dalam tikus (hati, ginjal, limfa).

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa konsumsi ikan berformalin pada kisaran residu yang terdapat di pasaran berpengaruh terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus. Semakin tinggi substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin dan waktu konsumsi yang semakin lama maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan kondisi jaringan organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus. Tikus yang mengkonsumsi ransum perlakuan berupa substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin pada konsentrasi (0% :20%) selama 2 bulan menunjukkan laju pertumbuhan berat badan yang terendah dan memiliki resiko paling tinggi terhadap terjadinya kerusakan pada anatomi jaringan (degenerasi vakuola, nekrosis) pada organ dalam (hati, ginjal, limpa)

Kerusakan pada anatomi jaringan organ dalam tikus disebabkan karena tingginya kandungan formalin pada ransum perlakuan dan dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama sehingga formalin terakumulasi dalam tubuh tikus dan mengakibatkan terjadinya degenerasi vakuola dan nekrosis pada jaringan organ dalam tikus (hati,ginjal).

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

Tugas akhir ini tersusun berdasarkan hasil dari penelitian yang berjudul : **Pengaruh Konsumsi Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Berformalin Terhadap Pertumbuhan dan Organ Dalam Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)**

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

1. Ir. J.A. Sumardi, MS selaku dosen pembimbing I, yang telah memberikan saran, kritik dan bimbingan selama penulis menyelesaikan tugas akhir.
2. Dr. Ir. Hardoko, MS selaku dosen pembimbing II, yang telah memberikan saran, kritik dan bimbingan selama penulis menyelesaikan tugas akhir.
3. Keluargaku tercinta (Bapak, Bunda, dan Kakak), atas segenap dukungan baik materiil maupun spiritual, atas segala cinta, sayang dan doanya yang tiada henti.
4. Pak Yuli, Pak Waseno dan Mas Jefry atas segala bantuannya selama pelaksanaan penelitian di UGM Yogyakarta.
5. Teman-teman dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu.

Saran dan kritik demi kesempurnaan tugas akhir ini akan penulis terima dengan tangan terbuka. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan penulis pada khususnya.

Malang, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Kegunaan Penelitian	4
1.5. Hipotesis	4
1.6. Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Komposisi Kimia Ikan Lemuru (<i>Sardinella Longiceps</i>)	5
2.2. Formalin	5
2.2.1. Tinjauan umum	5
2.2.2. Sifat fisik dan kimia formalin.....	6
2.2.3. Penggunaan formalin sebagai pengawet makanan.....	7
2.2.4. Toksisitas formalin	7
2.2.5. Ambang batas penggunaan formalin.....	9
2.2.6. Mekanisme formalin dalam tubuh	10
2.2.7. Biotransformasi formalin	12
2.3. Tepung Ikan	13
2.3.1. Bahan baku.....	13
2.3.2. Proses pembuatan tepung ikan.....	14
2.3.3 Komposisi nutrisi tepung ikan	15

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	17
3.1. Bahan	17
3.1.1. Bahan yang diuji	17
3.1.2. Bahan untuk pakan	17
3.1.3. Bahan untuk analisis kimia	18
3.1.4. Bahan untuk analisis organ	18
3.2. Peralatan	18
3.2.1. Peralatan untuk pembuatan tepung ikan, pakan, analisis proksimat dan analisis residu formalin	18
3.2.2. Alat untuk uji (tikus percobaan).....	19
3.3. Metode Penelitian	20
3.3.1. Prosedur penelitian.....	22
3.3.1.1. Preparasi bahan uji.....	22
3.3.1.2. Pembuatan pakan pada tikus percobaan.....	23
3.3.1.3. Pelaksanaan perlakuan/percobaan.....	26
3.4. Parameter Uji	28
3.4.1. Prosedur pengujian parameter uji	28
3.4.1.1. Kadar air	28
3.4.1.2. Kadar protein	29
3.4.1.3. Kadar lemak	30
3.4.1.4. Kadar abu.....	31
3.4.1.6. Kadar formalin pada pakan.....	32
3.4.1.7. Berat badan tikus dan jumlah pakan yang dikonsumsi	34
3.4.1.8. Analisis organ	35
3.5. Analisis Data	36
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1. Komposisi Gizi	37
4.1.1. Ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	37
4.1.2. Pakan.....	38

4.2. Pengaruh Konsumsi Pakan Berformalin Terhadap Jumlah Pakan Yang Dikonsumsi dan Berat Badan Tikus Percobaan	43
4.2.1. Jumlah konsumsi pakan	43
4.2.2. Berat badan tikus	46
4.3. Pengaruh Konsumsi Pakan Berformalin Terhadap Berat dan Kondisi Organ Dalam (hati, ginjal, limpa) Tikus Percobaan	54
4.3.1. Hati	54
4.3.2. Ginjal	62
4.3.3. Limpa	72
5. KESIMPULAN	79
5.1. Kesimpulan	79
5.2. Saran	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	85



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>)	5
2. Sifat-sifat umum <i>formaldehyde</i>	6
3. Komposisi kimia tepung ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	16
4. Denah rancangan faktor perlakuan.....	21
5. Komposisi ransum pakan tikus	24
6. Komposisi gizi kasein dan tepung ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	37
7. Komposisi gizi ransum standar dan perlakuan (%).....	38
8. Kandungan formalin pada ransum perlakuan (%)	40
9. Penurunan konsentrasi formalin setelah menjadi ransum pakan	41
10. Berat hati tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan).....	55
11. Hasil diagnosa pada hati tikus kontrol dan perlakuan.....	56
12. Presentase perbandingan antara berat hati dengan berat badan	62
13. Berat ginjal tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan).....	63
14. Hasil diagnosa pada ginjal tikus kontrol dan perlakuan.....	65
15. Presentase perbandingan antara berat ginjal dengan berat badan	71
16. Berat limpa tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan).....	72
17. Hasil diagnosa pada limpa tikus kontrol dan perlakuan.....	74
18. Presentase perbandingan antara berat limpa dengan berat badan	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Respon sel terhadap rangsangan fisiologik dan patologik.....	8
2. Proses pembuatan tepung ikan lemuru berformalin	25
3. Prosedur pembuatan ransum.....	25
4. Prosedur kerja penelitian	26
5. Prosedur penetapan kurva kalibrasi	34
6. Reaksi <i>formaldehyde</i> dengan protein.....	42
7. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.....	44
8. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.....	44
9. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.....	46
10. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap berat badan tikus.....	47
11. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap berat badan tikus.....	48
12. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap berat badan tikus	49
13. Histogram pengaruh lama konsumsi ransum pakan berformalin terhadap berat badan tikus	50
14. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus ...	51
15. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus ...	52
16. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus	53
17. Histogram pengaruh lama konsumsi ransum pakan berformalin terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus	54
18. Pembengkakan sel, vakuolisasi dan penyimpanan dalam sitoplasma	57
19. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (normal).....	59
20. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (1 bulan) normal.....	59

21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (1 bulan) normal..... 59

22. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 59

23. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 60

24. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 60

25. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 60

26. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 60

27. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)..... 61

28. Histogram pengaruh lama konsumsi pakan berformalin terhadap berat ginjal tikus..... 64

29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol (normal)..... 67

30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (1 bulan) normal..... 67

31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (1 bulan) normal..... 68

32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (1 bulan) normal..... 68

33. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami nekrosis (N,CA) 68

34. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami nekrosis (N,CA) 68

35. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami nekrosis (N,CA) 69

36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami nekrosis (N,CA) 69

37. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) yang mengalami nekrosis (N,CA) 69

38. Diagram mekanisme nekrosis 70

39. Histogram pengaruh lama konsumsi pakan berformalin terhadap berat limpa tikus 73

40. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (normal)..... 75

41. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (1 bulan) normal 75

42. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (1 bulan) normal 75

43. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (1 bulan) normal 75

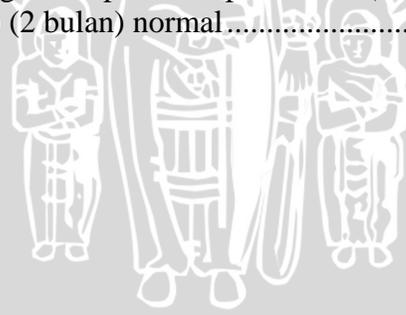
44. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (1 bulan) normal 76

45. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (2 bulan) normal 76

46. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (2 bulan) normal 76

47. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (2 bulan) normal 76

48. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) normal 77



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi mineral <i>mix</i> dalam 1000 g.....	85
2. Komposisi vitamin "Superviton" setiap 2 kaplet.....	86
3. Perhitungan jumlah tepung ikan yang dibutuhkan sebagai pengganti kasein...	87
4. Perhitungan kasar jumlah residu formalin yang berada pada pakan.....	89
5. Pembuatan larutan formalin 7,5 %.....	90
6. Kurva standar formalin	91
7. Data jumlah konsumsi pakan tikus tiap 3 hari sekali selama 1 dan 2 bulan pemeliharaan	92
8. Data berat badan tikus tiap 3 hari sekali selama 1 dan 2 bulan pemeliharaan	93
9. Data laju pertumbuhan berat badan tikus tiap 3 hari sekali selama 1 dan 2 bulan pemeliharaan	94
10. Data berat organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus wistar (g/g berat badan)....	95
11. Analisis data jumlah konsumsi pakan tikus	96
12. Analisis data berat badan tikus.....	99
13. Analisis data laju pertumbuhan relatif berat badan tikus	104
14. Analisis data berat hati tikus	109
15. Analisis data berat ginjal tikus	111
16. Analisis data berat limpa tikus.....	114
17. Analisis data berat awal tikus.....	117
18. Gambar pembuatan pakan (A) dan pengeringan pakan dalam oven (B)	118
19. Gambar penimbangan pakan (A), kandang pemeliharaan (B), dan penimbangan tikus (C)	119
20. Gambar sisa pakan tikus (A) dan penimbangan sisa pakan (B).....	120
21. Gambar gunting dan pinset bedah (A), pemotongan vena jugularis (B), pembedahan pada bagian abdomen (C)	121
22. Pengambilan organ hati (A), ginjal (B), dan limpa (C).....	122

23. Penimbangan organ (A), botol yang berisi formalin 10% dan organ hati,
ginjal, limpa (B) 123

24. Gambar pembuatan preparat organ 124



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan kualitas sumber daya manusia salah satunya ditentukan oleh kualitas pangan yang dikonsumsi. Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1996 menyatakan bahwa kualitas pangan yang dikonsumsi harus memenuhi beberapa kriteria, diantaranya adalah : aman, bergizi, bermutu, dan dapat terjangkau oleh daya beli masyarakat. Kriteria aman yang dimaksud antara lain : bebas dari cemaran biologis, mikrobiologis, kimia, logam berat, dan cemaran lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Lemuru merupakan salah satu hasil perikanan yang populer dan biasa dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Kelebihan ikan lemuru dibandingkan dengan jenis ikan lain yaitu : rasanya enak, bergizi dan harganya dapat terjangkau oleh daya beli masyarakat.

Adanya bahan aditif dan pengawet berbahaya seperti formalin dalam makanan sebenarnya sudah lama menjadi rahasia umum. Tetapi masalah klasik tersebut kembali menjadi pembicaraan hangat pada akhir tahun 2006 karena temuan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (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 di masyarakat (Anonymous, 2006^a). Pada produk perikanan disinyalir sudah tersentuh formalin sejak ikan masih di atas kapal. Ikan tersebut menjadi tidak mudah busuk, kelihatan menjadi lebih bersih, sisik mengkilap, dagingnya agak kenyal dan tidak dihindari lalat (Anonymous, 2005^b).

Tingkat pengetahuan yang rendah mengenai bahan pengawet juga merupakan faktor utama penyebab penggunaan formalin pada bahan pangan. Sedangkan beberapa

survei menunjukkan alasan produsen menggunakannya sebagai bahan pengawet karena daya awet dan mutu produk yang dihasilkan menjadi lebih bagus (Astawan 2006). Formalin umumnya terdiri dari bahan *formaldehyde* 37% dan metil alkohol 10-15%, terdapat dalam bentuk larutan dengan berbagai kepekatan yang mempunyai bau menyengat dan bersifat racun. Jika dikonsumsi dalam jangka panjang maka *formaldehyde* dapat merusak hati, ginjal, limpa, pankreas, otak dan menimbulkan kanker, terutama kanker hidung dan tenggorokan. Keracunan akut formalin dapat menimbulkan vertigo dan perasaan mual dan muntah. Keracunan akut metil alkohol dalam makanan dapat menyebabkan kebutaan, kerusakan hati dan saraf dan menimbulkan kanker pada keturunan selanjutnya. Jadi kombinasi antara *formaldehyde* dan metil alkohol dalam formalin sebenarnya mempunyai efek karsinogenik atau menimbulkan kanker secara ganda (Maulany, 2006). Wikipedia (2006) menambahkan *formaldehyde* dalam tubuh bisa menimbulkan terikatnya DNA oleh protein, sehingga mengganggu ekspresi genetik normal yang dapat mengganggu pertumbuhan.

National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) menyatakan *formaldehyde* berbahaya bagi kesehatan pada kadar 20 ppm. Bila melihat ambang batas toleransi, ikan cumi asin yang diteliti Balai Besar POM, sebelum dicuci mempunyai kandungan formalin 6,77 ppm. Setelah dicuci tinggal 5,62 ppm atau 5,62 mg formalin dalam setiap 1 kg ikan cumi asin. Berdasarkan data tersebut, kandungan formalin yang kemungkinan masih bisa ditoleransi oleh tubuh adalah jika dalam satu hari kita makan ikan asin dalam jumlah sekitar 2,5 kg. Dengan catatan, asupan formalin hanya dari ikan asin (Anonymous, 2005^b). Ditambahkan oleh Nurachman (2006), pada saat formalin dipakai mengawetkan makanan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein-protein dalam makanan. Jika semua *formaldehyde* habis bereaksi, sifat racun formalin hilang.

Protein makanan yang telah bereaksi dengan formalin tidak beracun dan tidak perlu ditakuti. Masyarakat/konsumen baik disengaja atau tidak sebenarnya telah sejak lama mengkonsumsi ikan yang mengandung formalin, namun sampai sekarang masih belum ada suatu bukti yang konkrit dari akibat mengkonsumsi ikan berformalin terhadap kesehatan para konsumen, Berdasarkan hal tersebut dirasa perlu dilakukannya penelitian untuk mengetahui secara pasti apakah penggunaan formalin pada hasil perikanan khususnya ikan lemuru yang ada dipasaran berdampak buruk terhadap tubuh, terutama organ dalam (hati, ginjal dan limpa).

1.2 Perumusan Masalah

- Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia sehingga dilarang penggunaannya dalam makanan tetapi sampai sekarang masih belum diketahui secara jelas dampak yang terjadi pada kesehatan tubuh manusia padahal telah sejak lama mengkonsumsi ikan berformalin. Menurut Yuswanto (2006), bahwa ketika formalin masuk melalui alat pencernaan, tidak akan berpengaruh negatif. Hal ini disebabkan proses metabolisme formalin yang masuk ke tubuh manusia sangat cepat. Tubuh manusia akan mengubah formalin menjadi CO₂ dan air seni dalam waktu 1,5 menit. Sehingga berdasarkan sifat formalin tersebut masih diperlukan suatu uji lanjutan untuk mengetahui secara pasti apakah formalin benar-benar berbahaya bila dikonsumsi, terutama terhadap organ dalam tubuh (ginjal, hati dan limpa).
- Seberapa besar dan sejauh mana efek yang ditimbulkan oleh pola makan ikan berformalin terhadap organ dalam tubuh (ginjal, hati dan limpa).

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum dari penelitian ini adalah :

- Mempelajari pengaruh konsumsi ikan berformalin terhadap pertumbuhan dan jaringan organ dalam tikus percobaan.

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

- Mempelajari pengaruh konsumsi ikan berformalin pada kisaran residu yang terdapat dipasaran (0,2%-1,3%) terhadap pertumbuhan dan jaringan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus percobaan .

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah :

- Memberikan dan menunjukkan bukti tentang ada / tidaknya pengaruh mengkonsumsi ikan berformalin pada kisaran residu yang terdapat dipasaran terhadap pertumbuhan dan jaringan organ dalam tubuh (ginjal, hati dan limpa).

1.5 Hipotesis

- Di duga bahwa konsumsi ikan yang mengandung formalin pada kisaran konsentrasi yang terdapat dipasaran tidak berakibat buruk terhadap pertumbuhan dan organ dalam tubuh (ginjal, hati dan limpa).

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.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Komposisi Kimia Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Ikan lemuru mengandung beberapa komponen gizi yang penting antara lain protein, lemak, karbohidrat, air dan vitamin serta beberapa mineral seperti kalsium, besi, fosfor yang dibutuhkan oleh manusia. Adapun komposisi kimia ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia ikan lemuru (*Sardinella Longiceps*)

No	Komposisi	Kadar (%)
1	Air	66,55-69,89
2	Protein	20,36-23,01
3	Lemak	4,48-11,80
4	Abu	2,07-3,03
5	Garam	0,11-0,17

Sumber: Suartama (2001)

2.2 Formalin

2.2.1 Tinjauan umum

Formalin adalah nama dagang dari larutan *formaldehde* dalam air dengan kadar 36-40%. Formalin biasanya juga mengandung alkohol (methanol) sebanyak 10-15% yang berfungsi sebagai stabilisator supaya *formaldehde* tidak mengalami polimerisasi. Di pasaran formalin selain dalam bentuk cairan ada pula dalam bentuk tablet yang masing-masing mempunyai berat 5 gram (Hadiwiyoto, 1983).

Formalin berasal dari larutan *formaldehde* dalam air dan pelarut lain, umumnya methanol yang berfungsi sebagai stabilisator, mempunyai cara yang unik dalam sifatnya sebagai desinfektan. *Formaldehde* 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, Morbucid, 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

Formaldehide atau methanal termasuk dalam golongan aldehid sederhana yang merupakan gas dengan bau yang sangat menyengat. Gas ini biasanya dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna bahan-bahan yang mengandung karbon. Biasanya ditemukan pada asap kebakaran hutan, asap kendaraan bermotor dan asap rokok (Anonymous, 2006^c). Pada umumnya sifat-sifat umum dari *formaldehide* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat-sifat umum *formaldehide*

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

Sumber : Anonymous (2006^c)

Menurut Winarno (1993), *formaldehide* 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 .

Sifat fisik formalin antara lain: tidak berwarna, berbau sangat menyengat, titik didih 96°C , titik cair -15°C dan pH sekitar 2,8 – 4. Formalin mempunyai berat molekul 3,03, larut dalam air dan pelarut organik seperti: Ether, Alkohol, Aceton, Benzene dan dalam air dapat terjadi polimerisasi (Anonymous, 2005^c).

2.2.3 Penggunaan formalin sebagai pengawet makanan

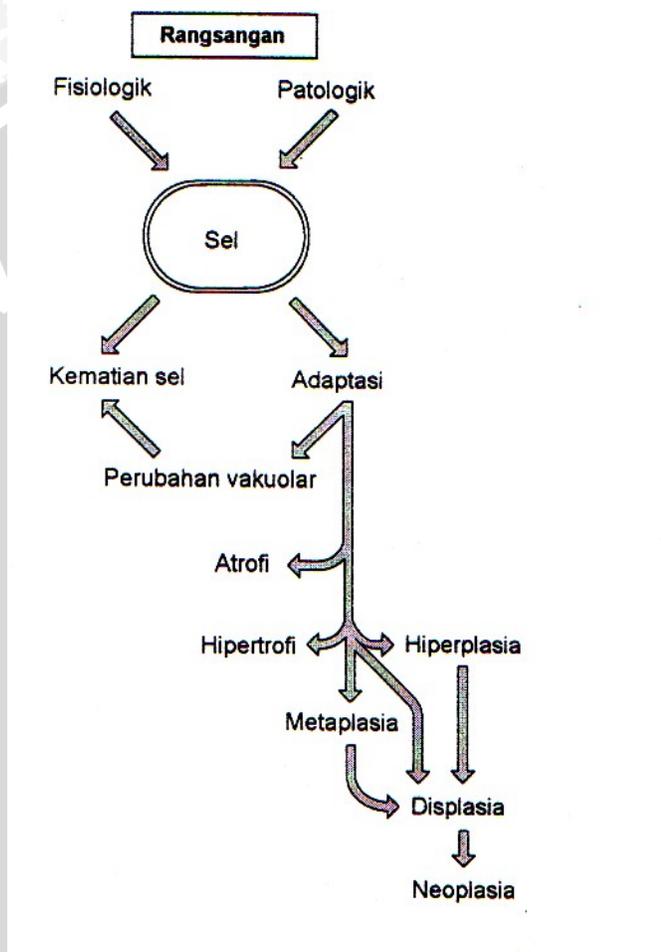
Makanan yang mengandung formalin dapat dibedakan secara kasat mata. Sebab, secara umum makanan tersebut mempunyai ciri tidak mudah busuk dan selalu segar dan apabila digunakan sebagai pengawet pada ikan maka hewan laut tersebut akan mempunyai insang yang lebih merah, daging yang lebih kenyal dan lebih awet (Anonymous, 2006^a).

Ikan berformalin selain tidak mudah busuk, juga kelihatan lebih bersih, sisik-sisiknya mengkilat, dagingnya agak kenyal, mata dan insangnya merah, sementara bau yang ditimbulkan menyebabkan lalat pun tidak mau hinggap (Anonymous, 2005^f). Ditambahkan pula oleh Rasyid (2006), selain untuk hal-hal tersebut, formalin juga digunakan untuk menghilangkan bakteri yang bisa hidup di sisik ikan

2.2.4 Toksitas formalin

Formalin sangat berbahaya jika terhirup, terkena 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 antara lain:

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 organ pencernaan, hati, ginjal, pankreas, dan sistem saraf pusat (Anonymous, 2005^b).



Gambar 1. Respon sel terhadap rangsangan fisiologik dan patologik (Bowen and Lockshin, 1981)

Apabila kadar di udara lebih dari 0,1 mg/kg, *formaldehde* yang terhisap bisa menyebabkan iritasi kepala dan membran mukosa, yang menyebabkan keluar air mata, pusing, tenggorokan serasa terbakar, serta kegerahan. Kalau terpapar *formaldehde* dalam jumlah banyak, misalnya terminum, bisa menyebabkan kematian. Dalam tubuh manusia, *formaldehde* dikonversi jadi asam format yang meningkatkan keasaman

darah, tarikan nafas menjadi pendek dan sering, hipotermia, juga koma, atau bahkan sampai mengakibatkan kematian. Di dalam tubuh, *formaldehde* bisa menimbulkan terikatnya DNA oleh protein, sehingga mengganggu ekspresi genetik yang normal. Binatang percobaan yang menghisap *formaldehde* terus-terusan terserang kanker dalam hidung dan tenggorokannya. Tapi, ada studi yang menunjukkan apabila *formaldehde* dalam kadar rendah, tidak menimbulkan pengaruh karsinogenik terhadap makhluk hidup yang terpapar zat tersebut (Wikipedia, 2006). Ditambahkan oleh Winarno (1993), bahwa injeksi formalin dengan dosis 100 gram dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 3 jam.

2.2.5 Ambang batas penggunaan formalin

Formaldehde 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 *formaldehde* 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, Dalam *International Programe of Chemical Safety* (IPCS) disebutkan bahwa batas toleransi *formaldehde* yang dapat diterima tubuh dalam bentuk air minum adalah 0,1 mg/l atau dalam satu hari asupan yang diperbolehkan adalah 0,2 mg/l. Sementara formalin yang boleh masuk tubuh dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5-14 mg/hari (Anonymous 2005^d).

Formaldehde merupakan salah satu bahan kimia golongan aldehide yang umum digunakan. Golongan aldehide ini umum di gunakan dalam campuran air dengan

konsentrasi 0,5%. Daya aksi berada dalam kisaran jam, tetapi untuk kasus *formaldehide*, daya aksi akan semakin jelas dan kuat bila pelarut air di ganti dengan alkohol. *Formaldehide* pada konsentrasi dibawah 1,5% tidak dapat membunuh ragi dan jamur, dan memiliki ambang batas konsentrasi kerja $0,5 \text{ ml/m}^3$ atau $0,5 \text{ mg/L}$ serta bersifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker), (Rismana, 2004).

2.2.6 Mekanisme formalin dalam tubuh

Formaldehide dapat masuk dalam tubuh setelah kita menghirup, meminum ataupun memakannya atau pula ketika *formaldehide* kontak langsung dengan kulit. *Formaldehide* dengan cepat terserap dari hidung dan bagian paru-paru. Begitu juga dengan *formaldehide* yang termakan atau terminum, ini juga akan dengan cepat terserap. Sedangkan untuk kontak dengan kulit, hanya bagian kecil saja yang terserap. Sekali terserap, *formaldehide* dimetabolisme dengan sangat cepat. Hampir setiap jaringan dalam tubuh mempunyai kemampuan untuk memetabolisme *formaldehide*. Salah satunya membentuk asam format dan dikeluarkan melalui urine. Tubuh juga diperkirakan bisa memetabolisme *formaldehide* bereaksi dengan DNA atau protein untuk membentuk molekul yang lebih besar sebagai bahan tambahan DNA atau protein untuk tubuh, *formaldehide* tidak disimpan dalam jaringan lemak (Anonymous,1999).

Proses distribusi *formaldehide* melalui sirkulasi darah tergantung pada tempat absorpsinya. Absorpsi *formaldehide* melalui kulit akan menuju sistem perifer darah dan selanjutnya masuk sistem pembuluh darah vena. *Formaldehide* yang diabsorpsi melalui paru akan masuk kedalam sirkulasi darah paru. Sedangkan *formaldehide* yang masuk lewat saluran pencernaan pertama kali akan masuk pembuluh darah pada saluran

pencernaan, kemudian masuk kedalam vena portal yang membawa darah menuju hati (Donatus, 2001).

Formaldehde yang masuk kedalam sistem sirkulasi darah tidak berbentuk sebagai molekul yang utuh, kecuali jika dosis *formaldehde* yang masuk kedalam tubuh melebihi kemampuan jaringan untuk memetabolisme senyawa tersebut (Anonymous, 1999). Umumnya *formaldehde* masuk dalam sistem sirkulasi darah dalam bentuk senyawa metabolit berupa asam format dan karbondioksida (CO₂). Selanjutnya senyawa metabolit dari *formaldehde* diedarkan keseluruh tubuh, tidak ada organ tertentu yang menimbulkan efek toksik dari *formaldehde*, tetapi senyawa metabolit dari *formaldehde* akan berikatan dengan makromolekul di dalam tubuh. *Formaldehde* akan mengalami metabolisme dalam hati dan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urine atau melalui saluran pernafasan dalam bentuk karbondioksida (Krishnan and Andersen, 1994)

Penelitian yang dilakukan oleh Heck *et al* (1983), menemukan bahwa tikus yang di papar dengan *formaldehde* melalui saluran pernafasan sebesar 8 ppm selama 6 jam mengalami peningkatan konsentrasi radioaktivitas atom ¹⁴C- *formaldehde* dalam darah selama beberapa hari setelah pemaparan. Berdasarkan data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya peningkatan kadar *formaldehde* dalam bentuk utuh dalam darah setelah mengalami pemaparan di karenakan atom ¹⁴C- *formaldehde* berikatan dengan makromolekul dalam tubuh. Lamanya waktu tinggal (berada dalam tubuh) kemungkinan disebabkan hasil metabolisme *formaldehde* menjadi *formate* dan CO₂ tidak langsung diekskresi melalui urine dan paru-paru.

2.2.7 Biotransformasi formalin

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)

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). Fase 2 ialah mengubah struktur senyawa asing untuk memasukkan gugus fungsional yang sesuai bagi reaksi konjugasi fase kedua (Donatus, 2001)

Proses biotransformasi *formaldehide* dalam tubuh dapat melalui beberapa jalur. *Formaldehide* mengalami biotransformasi menjadi format atau CO_2 . Proses biotransformasi ini dikatalisis oleh enzim glutation berlangsung dengan cara pengikatan karbon elektrofil yang terdapat pada *formaldehide* oleh gugus sulfihidril nukleofil yang terdapat pada GSH. Enzim *Formaldehide Dehydrogenase* (FDH) dan *S-Formil Glutathione Hydrolase* (SFGH) mengkatalisasi (mempercepat reaksi) perubahan *formaldehide* menjadi *formate*. Selanjutnya *formate* dioksidasi menjadi karbondioksida

atau membentuk *Na Formate* untuk diekskresikan melalui paru dan ginjal (Anonymous, 1999).

Jalur metabolisme lainnya adalah *formaldehyde* membentuk ikatan dengan *Tetra hydrofolate* (TH₄). TH₄ merupakan enzim kofaktor pada transfer karbon tunggal dalam berbagai proses oksidasi. Pada reaksi ini unit karbon tunggal dari *formaldehyde* berikatan dengan atom N⁵ atau N¹⁰ dari *tetrahydrofolate* (Bolt, 1987).

Formaldehyde memiliki gugus karbonil, dimana atom karbonnya bermuatan positif sehingga atom karbon dari *formaldehyde* bersifat elektrofil. Adanya gugus karbonil yang bersifat elektrofil membuat molekul tersebut mudah bereaksi dengan struktur molekul yang memiliki kelebihan elektron (nukleofil). Molekul yang memiliki struktur nukleofil banyak terdapat dalam komponen tubuh organisme antara lain asam nukleat, RNA dan DNA. Hal ini menyebabkan *formaldehyde* mudah membentuk ikatan dengan protein. (Casanova-Schmitz *et al*, 1984)

Formaldehyde diekskresi dari tubuh sebagai senyawa metabolit terutama dalam bentuk karbondioksida (CO₂), tikus yang dipapar dengan *formaldehyde* di ketahui bahwa 67% *formaldehyde* dalam bentuk metabolit diekskresi melalui feses dan sebanyak 32% diekskresikan melalui paru dalam bentuk CO₂ (Heck *et al* 1993).

2.3 Tepung Ikan

2.3.1 Bahan baku

Tepung ikan adalah suatu produk padat kering yang dihasilkan dengan jalan mengeluarkan sebagian besar cairan dan sebagian atau seluruh lemak yang terkandung di dalam daging ikan. Untuk membuat tepung ikan sebenarnya dapat digunakan semua jenis ikan, tetapi hanya ikan pelagis dan demersal saja yang banyak digunakan sebagai

bahan baku pembuatan tepung ikan. Indonesia mempunyai potensi besar dalam memproduksi tepung ikan karena mempunyai banyak sumber ikan murah, produksi ikan pada musim-musim tertentu berlimpah dan sebagian besar sisa hasil pengolahan ikan belum dapat dimanfaatkan sebagaimana mestinya. (Afrianto dan Liviawati,1989). Ditambahkan oleh Murniyati dan Sunarman (2000), bahwa pada dasarnya setiap jenis ikan dapat diolah menjadi tepung ikan, tetapi umumnya hanya di gunakan ikan-ikan bermutu rendah atau sisa-sisa ikan (*waste* dan *offal*) karena harganya relatif lebih murah dibandingkan dengan ikan yang masih dalam kondisi segar.

Industri tepung ikan menggunakan bahan baku dari ikan yang sudah tidak layak lagi untuk diolah menjadi ikan kaleng atau menggunakan limbah dari pengolahan ikan kaleng yang terdiri atas bagian kepala, ekor, dan isi perut. Selain tepung ikan yang diproduksi oleh industri besar, ada juga tepung ikan yang diproduksi dalam skala rumah tangga (Anonymous 2005^o).

2.3.2 Proses pembuatan tepung ikan

Cara membuat tepung ikan yang paling sederhana adalah dengan mencincang ikan dan mengeringkannya di bawah sinar matahari atau menggunakan alat pengering mekanis. Tepung ikan akan bermutu baik, bila bahan mentah yang di pakai adalah ikan yang tidak berlemak (*lean fish*). Jika bahan mentahnya adalah ikan-ikan berlemak (*fatty fish*), tepung ikan yang dihasilkan biasanya banyak mengandung lemak. Hal ini merugikan sebab oksidasi lemak akan mengakibatkan tepung ikan mudah mengalami ketengikan (*rancidity*). Kalaupun bahan baku pembuatan tepung ikan adalah ikan berlemak, bahan baku tersebut harus di masak terlebih dahulu lalu dipres. Selama pemasakan protein akan menggumpal (mengalami *koagulasi*) dan sel ikan yang

mengandung lemak akan pecah, sehingga setelah dipisahkan dari air akan didapat hasil sampingan berupa minyak (Afrianto dan Liviawaty 1989).

Secara garis besar prosedur pembuatan tepung ikan menurut Afrianto dan Liviawaty (1989) adalah sebagai berikut :

- 1) Mula-mula bahan baku, ikan atau sisa bahan olahan, dibersihkan dari kotoran seperti kertas, ranting, mata kail dan lain-lain agar tidak mengganggu proses pembuatan tepung dan menurunkan kualitas tepung ikan.
- 2) Rebus bahan baku yang telah dibersihkan selama kurang lebih 30 menit.
- 3) Setelah direbus, ikan ditiriskan dengan cara membiarkannya diudara terbuka. Selagi ikan dalam keadaan panas, sebaiknya ikan dipres agar lemak yang dikandungnya dapat dipisahkan dari cairan tubuh ikan. Semakin sempurna proses pengepresan, semakin baik mutu tepung ikan yang dihasilkan, karena kandungan air dan lemak rendah.
- 4) Ampas daging ikan (bahan padat hasil pengepresan) selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari sampai kering. Pengeringan dapat juga dilakukan dengan cara mengalirkan ampas daging tersebut kedalam alat yang mengandung udara panas.
- 5) Ampas daging yang telah kering segera digiling dan diayak untuk mendapatkan tepung ikan yang halus.

2.3.3 Komposisi nutrisi tepung ikan

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, komposisi tepung ikan tidak hanya tergantung

pada spesies ikan yang digunakan, tetapi juga dipengaruhi oleh kualitas bahan baku yang digunakan. (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Tepung ikan lemuru mengandung beberapa komponen gizi yang penting, antara lain protein, lemak, air. Selain itu karena dibuat dari kepala dan duri ikan maka tepung ikan juga mengandung Ca fosfat, seng, yodium, besi, timah, mangan, kobalt, vitamin B₂ dan B₃ (Anonymous, 2006^d). Adapun komposisi kimia tepung ikan lemuru dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Kimia Tepung Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Komponen nutrisi	Persentase jumlah
Protein *	71,62
Lemak	4,24
Air	10,95
Abu	7,09

Sumber : Anonymous (2005^e)

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

3.1.1 Bahan yang diuji

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dengan panjang $17,5 \pm 3,53$ cm dan berat $20,66 \pm 3,05$ gram dalam bentuk segar, yang diperoleh dari pasar ikan Brak, Muncar - Banyuwangi. Selanjutnya lemuru direndam dalam larutan formalin dengan konsentrasi 7,5 % (v/v) selama 12 jam (Elvandari, 2006), kemudian diproses menjadi tepung ikan. Pembuatan larutan formalin 7,5% dengan cara mengencerkan larutan formalin 37% sebanyak 84,3 ml hingga volumenya mencapai 500 ml. Nilai 84,3 ml didapatkan dari perhitungan:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \times V_1 = 7,5 \times (500 - V_1)$$

$$V_1 = 84,3 \text{ ml}$$

Keterangan : M = konsentrasi formalin (%)
V = volume larutan formalin (ml)

3.1.2 Bahan untuk pakan

Pada penelitian ini terdapat 2 macam ransum tikus percobaan, yaitu ransum standar dan ransum perlakuan. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan kedua macam ransum tersebut yaitu: lemak/minyak jagung produksi PT. Intiboga Sejahtera Jakarta; mineral *mix* diperoleh dari PT. Panadia Corporation Malang; campuran vitamin (Supravit) produksi PT. Erela Semarang di peroleh dari apotik Sejati Malang; tepung maizena produksi Honig Food importir: fa. Usahana Jakarta diperoleh dari toko Candra Malang; protein (kasein) dan *Carboxyl Metyl Cellulose* (CMC)

makanan diperoleh dari laboratorium penelitian Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.1.3 Bahan untuk analisis kimia

Selain ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) bahan lain yang di perlukan adalah bahan-bahan untuk analisis kimia meliputi bahan untuk menguji kandungan formalin secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif formalin menggunakan formalin teskit reagent. Bahan yang digunakan untuk uji kandungan formalin secara kuantitatif yaitu, larutan 7,5% phenilhidrazin hidroklorida, larutan 5% potasium ferrisianida, larutan 10% NaOH, larutan 45% isopropil alkohol.

Bahan kimia untuk analisis proksimat antara lain : petroleum benzene, kertas saring, aquades, H₂SO₄ pekat, K₂S₂O₄, HgO, indikator metil merah, NaOH, HCl dan larutan K₂S.

3.1.4 Bahan untuk analisis organ

Bahan yang digunakan untuk membuat preparat organ yang akan dianalisis meliputi : fiksatif bouin; alkohol (30%, 50%, 70%, 80%, 90% dan 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; aquadest.

3.2 Peralatan

3.2.1 Peralatan untuk pembuatan tepung ikan, pakan, analisis proksimat dan analisis residu formalin

Alat untuk membuat tepung ikan antara lain: baskom plastik, blender, pengering (*dryer*), loyang plastik, loyang alumunium, ayakan. Alat yang digunakan

untuk membuat 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", buret, mortar, rangkaian alat destruksi, pipet volume 25 ml, statif, bola hisap, spatula, labu destruksi, labu destilasi, peralatan untuk ekstraksi lemak (*soxhlet*), oven "Binder", muffle "Nabertherm" dan desikator "Nikko". Alat yang digunakan untuk analisa kandungan formalin meliputi mortar/blender, labu kjeldahl, alat destilasi, tabung reaksi, sentrifuse 250 mls, spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm, pipet volume 0,5 ml, gelas ukur 25 dan 250 ml.

3.2.2 Peralatan untuk uji (tikus percobaan)

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

Tikus putih wistar (*Rattus norvegicus*) yang digunakan adalah tikus berjenis kelamin jantan yang berumur 21 hari dengan berat badan $40 \pm 7,07$ gram. Tikus ini diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Tikus dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan *stainless steel* berukuran (62,5 x 20 x 5) cm dimana di dalamnya terdapat sekat yang

membagi kandang menjadi 5 bagian dan dilengkapi dengan tutup. Kandang tikus juga dilengkapi dengan tempat ransum, botol minum dan nampan penampung sisa pakan serta feses yang terletak di bagian bawah kandang, tempat ransum pakan yang digunakan adalah tempat pakan burung yang dikaitkan dengan menggunakan kawat. Botol minum terbuat dari bahan gelas yang pada bagian mulutnya disumbat dengan karet dan pada bagian tengahnya diberi lubang untuk meletakkan pipa aluminium yang berguna untuk pengeluaran air.

Alat yang digunakan untuk membuat preparat organ (histologi) dengan metode "Parafin" terdiri dari : beaker glass "Duran" 100 ml, spatula, labu ukur "Duran" 100 ml dan 10 ml, mikrotom putar AO 820, oven "Memmert" tipe U 30 dan S 25, obyek dan cover glass "Assintent dan Sea Gull no 18", mikroskop monokuler "Euromex" tipe 3402, mikroskop fotomikrografi "Nikon 300", mikrometer okuler dan obyektif, neraca digital elektrik (sartorius), gelas pewarnaan, hot plate dan dissection set.

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 pembanding (Natzir, 1988).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh konsumsi ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) berformalin selama 1 dan 2 bulan terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus wistar (*Rattus norvegicus*), caranya dengan membandingkan berat badan, berat organ dalam (hati, ginjal dan limpa) serta organ itu sendiri antara tikus kontrol dan tikus perlakuan yang diberikan ikan lemuru berformalin.

Pada penelitian ini digunakan dua perlakuan yaitu lama konsumsi (A) dan konsentrasi substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin (B), sub perlakuan pada penelitian ini terdiri atas :

1. Lama konsumsi 1 bulan (A1)
2. Lama konsumsi 2 bulan (A2)
3. Pakan kontrol (B1)
4. Pakan perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung ikan 15% : 5% (B2)
5. Pakan perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung ikan 10% : 10% (B3)
6. Pakan perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung ikan 5% : 15% (B4)
7. Pakan perlakuan dengan perbandingan antara kasein dan tepung ikan 15% : 5% (B5). Adapun denah rancangan faktor perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Denah rancangan faktor perlakuan.

Faktor		Ulangan			Rata-rata
A	B	I	II	III	
A1	B1				
	B2				
	B3				
	B4				
	B5				
A2	B1				
	B2				
	B3				
	B4				
	B5				

Berdasarkan perlakuan yang dilakukan maka penelitian ini dapat dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Menurut Yitnosumanto (1993), model untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ijk} = Nilai pengamatan untuk perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

A_i = Pengaruh waktu pada taraf ke-j

B_j = Pengaruh substitusi konsentrasi tepung ikan berformalin pada taraf ke-i

Ab_{ij} = Pengaruh interaksi lama waktu perlakuan dan substitusi konsentrasi tepung ikan berformalin pada taraf ke-i dan ke-j

E_{ijk} = Galat percobaan pada perlakuan A taraf ke-i, perlakuan B taraf ke-j

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 ikan Lemuru (*Sardinella logoceps*) yang mengandung formalin. Prosedur pembuatan tepung ikan Lemuru (*Sardinella logiceps*)

dapat dilihat pada Gambar 2, Sedangkan untuk pembuatan larutan formalin 7,5 % dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.3.1.2 Pembuatan pakan pada tikus percobaan

Dalam penelitian ini terdapat 2 jenis pakan yaitu: pakan standar dan pakan perlakuan. Komposisi pakan standar yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti ransum *Standart National Research Council* (NRC) (1978). Adapun komposisi pakan standar ini adalah kasein, minyak jagung, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) makanan, mineral mix, vitamin mix, air, dan tepung maizena (lihat Tabel 5).

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

Cara pembuatan kedua jenis pakan sama, yaitu semua bahan pakan 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. Secara skematis, prosedur pembuatan pakan dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada penelitian ini antara pakan standar dan pakan 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

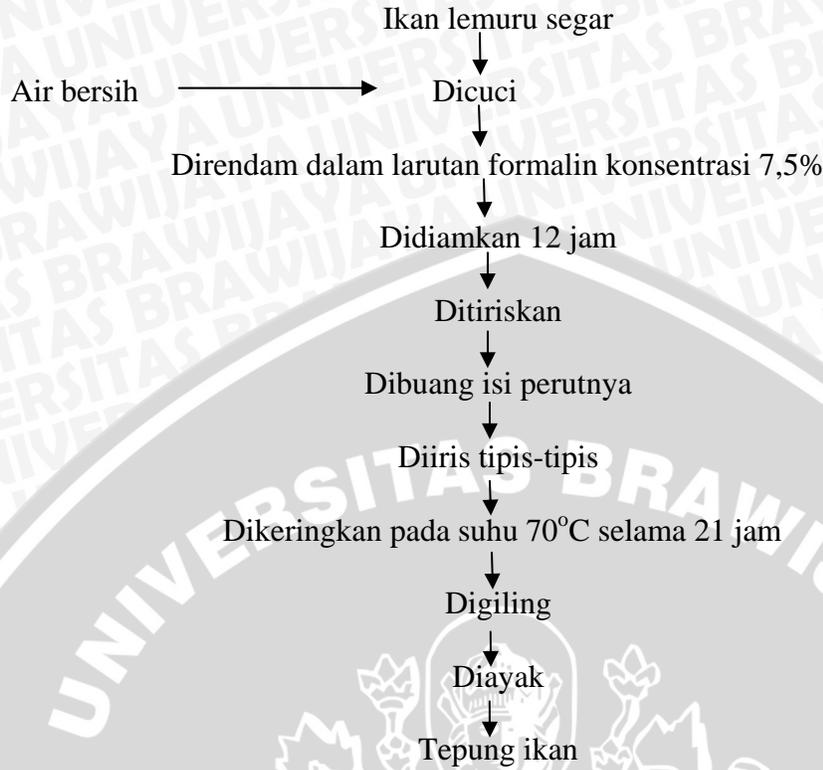
dalam tikus perlakuan selama pemeliharaan. Faktor tersebut adalah konsentrasi formalin pada pakan perlakuan. Pembuatan pakan perlakuan dilakukan dengan mengganti proporsi kasein dengan tepung ikan berformalin dengan menyetarakan kandungan kalornya berdasarkan base kalori, pakan dibuat tiap 7 hari sekali, pakan standar dan perlakuan setelah dikemas dalam plastik disimpan pada suhu kamar.

Tabel 5. Komposisi pakan tikus

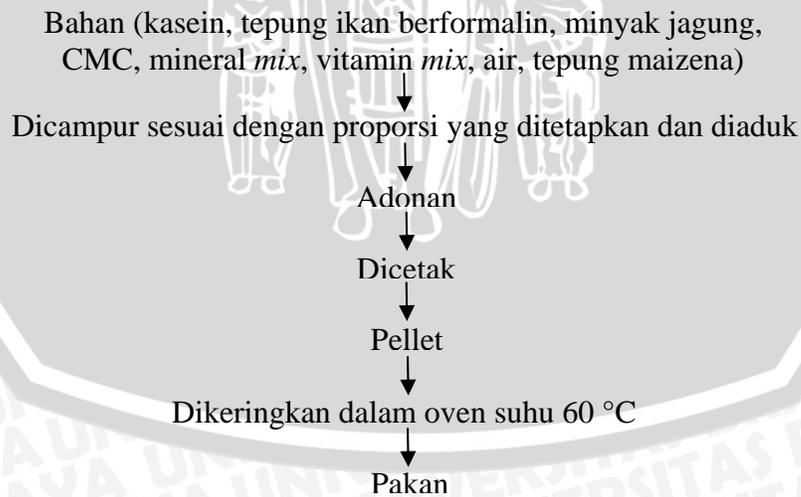
Bahan	Jenis pakan				
	Pakan standar (%) [*]	Pakan perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)			
		15% : 5%	10% : 10%	5% : 15%	0% : 20%
Kasein : Tepung ikan berformalin	20 : 0	15 : 5	10 : 10	5 : 15	0 : 20
Minyak jagung	5	5	5	5	5
CMC makanan	5	5	5	5	5
Mineral <i>mix</i> ¹	4	4	4	4	4
Vitamin <i>mix</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).

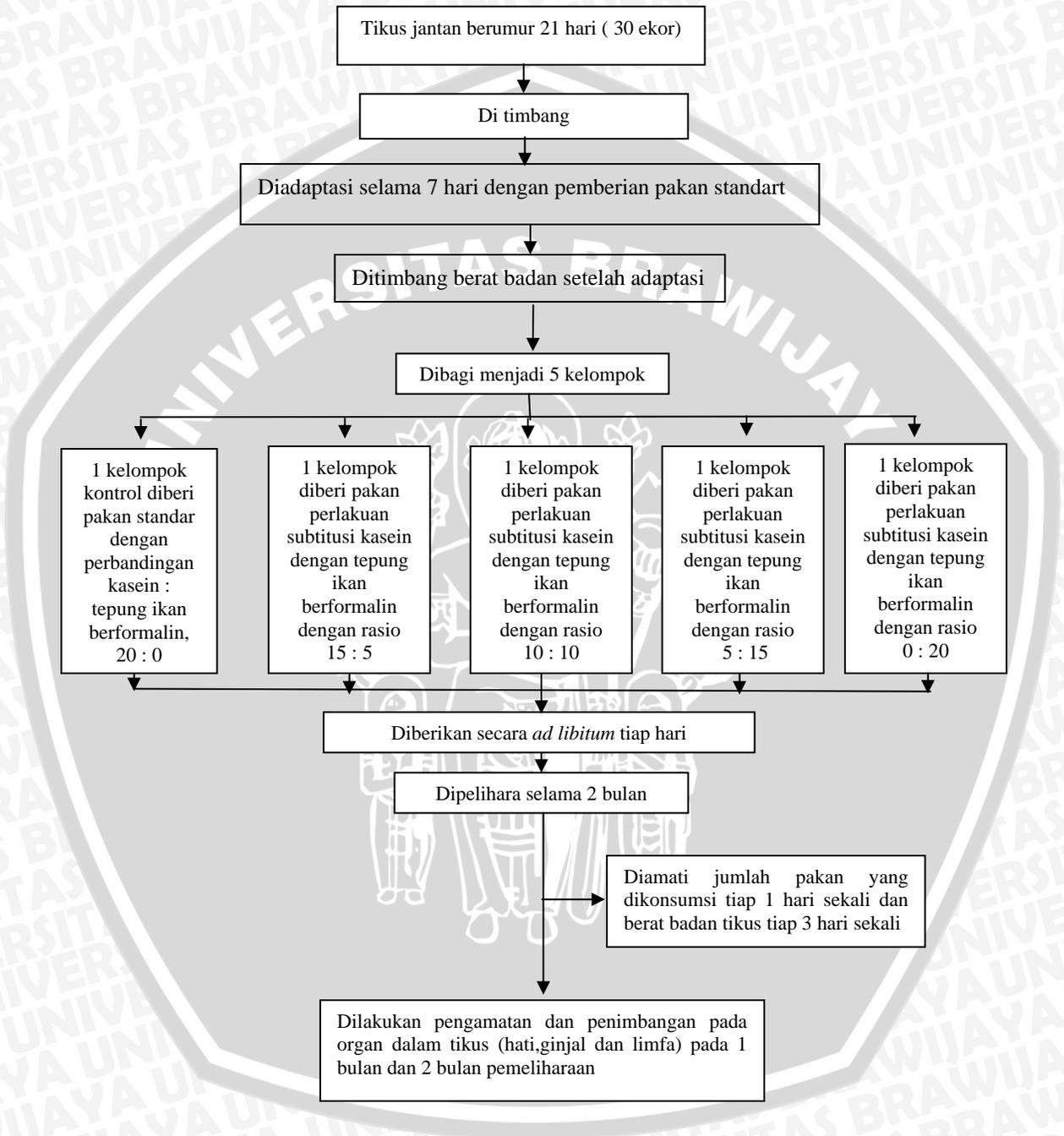


Gambar 2. Proses pembuatan tepung ikan lemuru berformalin (Afrianto dan Liviawaty,1989 *modifikasi*)



Gambar 3. Prosedur pembuatan pakan (NRC, 1978 *modifikasi*)

3.3.1.3 Pelaksanaan perlakuan/percobaan



Gambar 4. Prosedur kerja penelitian

Mula-mula tikus putih jantan berumur 21 hari diadaptasi selama 7 hari dengan lingkungan pemeliharaan dengan cara menempatkan setiap tikus dalam kandangnya (dikandangkan secara individu) dengan kondisi kandang sebagai berikut: cukup cahaya, ventilasi udara didalam kandang cukup dan suhu udara pada suhu kamar. Tujuan tikus dikandangkan secara individu dan tertutup adalah agar tikus tidak terpengaruh atau terganggu dengan tikus yang lain dan agar lebih mudah untuk mengontrol kebutuhan pakan dan air minum serta jumlah feses yang dihasilkan dan tujuan tikus diadaptasi selama 7 hari adalah untuk penyesuaian dengan lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badannya, serta menyeragamkan makanannya (Wikanta *et al.*, 2003).

Setelah berumur 28 hari, tikus diambil secara acak, ditimbang dan dibagi menjadi 5 kelompok dimana 1 kelompok merupakan kelompok kontrol (0%) yaitu tikus yang diberi pakan standar; 1 kelompok diberi pakan perlakuan dengan perbandingan kasein : tepung ikan berformalin (15% : 5%); 1 kelompok diberi pakan perlakuan dengan perbandingan kasein : tepung ikan berformalin (10% : 10%); 1 kelompok diberi pakan perlakuan dengan perbandingan kasein : tepung ikan berformalin (5% : 15%); 1 kelompok diberi pakan perlakuan dengan perbandingan kasein : tepung ikan berformalin (0% : 20%); Pemberian pakan secara *ad libitum*. Kemudian tikus dipelihara selama 2 bulan dan dilakukan pengamatan jumlah pakan yang dikonsumsi tikus tiap 1 hari sekali dan berat badan tikus tiap 3 hari sekali. Pada 1 bulan dan 2 bulan pemeliharaan dilakukan pembedahan untuk mengamati dan menimbang bagian-bagian organ dalam tikus, yaitu hati, ginjal dan limpa sehingga diketahui pengaruh yang diakibatkan oleh formalin terhadap organ-organ tersebut.

3.4. Parameter Uji

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini meliputi: 1. analisis proksimat tepung ikan, pakan standar dan pakan perlakuan. 2. analisis kadar formalin pada pakan, 3. jumlah pakan yang dikonsumsi. 4. berat badan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). 5. analisis anatomi dan penimbangan organ dalam (hati, ginjal dan limpa) tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Tujuan dilakukan analisis proksimat yang meliputi kadar air, kadar protein, kadar lemak, dan kadar abu pada tepung ikan, pakan standar dan pakan perlakuan adalah untuk mengetahui kandungan gizi serta kalori yang terdapat pada pakan standar dan perlakuan sehingga diharapkan tikus mendapatkan asupan gizi/kalori yang cukup.

3.4.1 Prosedur pengujian parameter uji

3.4.1. 1 Kadar air (Sudarmadji, *et al.*, 1997)

Tujuan analisis kadar air pada pakan adalah untuk mengetahui apakah kadar air ransum pakan sudah sesuai dengan kebutuhan air hewan coba berdasarkan pakan *Standart National Research Council* (NRC) (1978). Metode yang digunakan untuk penentuan kadar air adalah metode *Thermogravimetri*. Prinsip dari metode ini adalah memanaskan sampel pada suhu (100-105) °C 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 terikat. Menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) penentuan kadar air dengan menggunakan metode *Thermogravimetri* adalah sebagai berikut :

- Timbang sampel yang berupa serbuk sebanyak 2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu (100-105)

$^{\circ}\text{C}$ selama semalam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya.

- Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan, dengan perhitungan:

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

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

Untuk hasil analisis kadar air dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

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

Tujuan analisis kadar protein pada pakan adalah untuk mengetahui apakah kadar protein pakan sudah sesuai dengan kebutuhan protein hewan coba berdasarkan pakan *Standart National Research Council (NRC) (1978)*. 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 0,02 N. Menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) penentuan kadar protein dengan menggunakan metode makro *Kjeldahl* adalah sebagai berikut :

- Timbang 1 g bahan dan masukkan dalam labu Kjeldahl. Kemudian tambahkan 7,5 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 0,35 g H_2O dan 15 ml H_2SO_4 pekat. Panaskan semua bahan dalam labu Kjeldahl dalam lemari asam sampai mendidih dan cairan jernih. Teruskan

pemanasan tambahan kurang lebih 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 sampel.
- Perhitungan :

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

Untuk hasil analisis kadar protein dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

3.4.1.3 Kadar lemak metode goldfisch (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Prinsip dari analisis kadar lemak adalah untuk mengetahui kandungan lemak atau minyak suatu sampel dengan cara mengekstraksi dengan pelarut organik non polar seperti petroleum ether (PE) dan pelarut polar seperti metanol. Lemak yang dipisahkan dapat diketahui beratnya setelah pelarut diuapkan atau tidak secara langsung dengan

menimbang sisa sampel yang tidak terekstraksi. Tujuan dari analisis kadar lemak adalah menentukan kadar lemak yang terdapat dalam ransum yang diberikan.

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

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

Untuk hasil analisis kadar lemak dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

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

Tujuan analisis kadar abu pada pakan adalah untuk mengetahui apakah kadar abu pakan sudah sesuai dengan kebutuhan mineral hewan coba yang digunakan dalam penelitian berdasarkan pakan *Standart National Research Council (NRC) (1978)*. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar abu adalah metode Pemanasan (pengeringan secara langsung).

Prinsip dari metode pemanasan adalah sampel dipanaskan pada suhu 650°C, maka akan terjadi abu yang berwarna putih penentuan kadar abu dengan menggunakan metode pemanasan adalah sebagai berikut : Timbang 2 gram sampel dalam kurs

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

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat kurs porcelain}}{\text{berat akhir}} \times 100 \%$$

Untuk hasil analisis kadar abu dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 7.

3.4.1.5 Kadar formalin pada ransum (Barbour and Packers, 1962)

Tujuan analisis kadar formalin pada pakan adalah untuk mengetahui apakah konsentrasi formalin pada pakan yang akan dikonsumsi oleh tikus sesuai dengan kisaran residu formalin pada produk perikanan di pasaran (0,2%-1,3%). Prosedur analisa kuantitatif formalin yaitu, pertama dilakukan preparasi sampel dengan menghaluskan sampel kemudian ditimbang sebanyak 20 gram dan dilarutkan dalam 45% isopropil alkohol hingga volumenya 250 ml, kemudian diblender selama 2 menit. Setelah itu disentrifuse untuk mengendapkan protein dari sampel dan dilanjutkan dengan menyaring sampel dengan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dilarutkan hingga diperoleh konsentrasi *formaldehyde* 10µg per 0,5 ml.

Proses analisisnya adalah 5 ml larutan filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml 45% isopropil alkohol. Lalu di tambahkan 0,5 ml phenilhidrazin hidroklorida dan biarkan selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 0,3 kalium ferisianida, biarkan selama 5 menit. Tambahkan 2 ml NaOH dan diamkan selama 4 menit. Selanjutnya diencerkan sampai 20 ml dengan 45% isopropil alkohol dalam tabung reaksi. Setelah 10 menit, baca kepadatan optik pada 580 nm, 1 cm sel terhadap

blanko reagen, kemudian dihitung konsentrasi formalin dalam sampel dengan menggunakan rumus dari persamaan garis kurva standar.

Prosedur pembuatan kurva standar *formaldehde* menurut Sastrohamidjodo (1992) adalah sebagai berikut:

1. Membuat larutan *formaldehde* 1% dengan cara mengencerkan larutan *formaldehde* 37% sebanyak 2,7 ml hingga volumenya mencapai 100 ml. Nilai 2,7 ml didapatkan dari perhitungan:

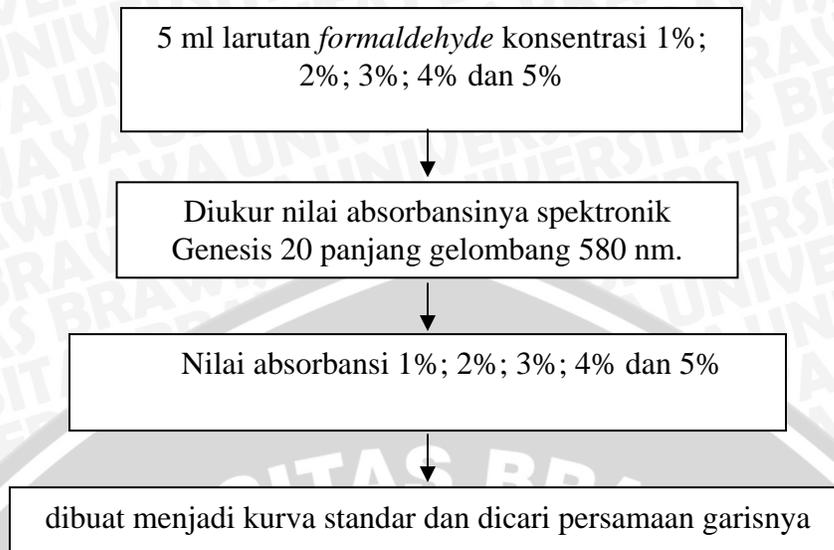
$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 37\% = 100 \times 1\%$$

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

Agar diperoleh garis linier menurut hukum Lambert Beer maka konsentrasi larutan yang digunakan harus encer.

2. Membuat larutan *formaldehde* 2%; 3%; 4% dan 5% dari larutan *formaldehde* 37% dengan perhitungan $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ sama seperti disebutkan di atas. Berdasarkan perhitungan pada pembuatan kurva standart, yang diukur adalah kadar *formaldehde* dalam produk. Untuk mengembalikan ke kadar formalin dalam produk yaitu dengan mengalikan konsentrasi *formaldehde* dengan 37%. Sebagai contoh kadar *formaldehde* 0,0729% maka: $0,0729 \times 37\% = 0,027$
3. Ukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrometri dengan panjang gelombang 580 nm.
4. Buat kurva dari nilai-nilai absorbansi yang diperoleh, hingga didapatkan persamaan garis liniernya. Persamaan regresi kurva kalibrasi *formaldehde* dapat dilihat pada Lampiran 6. Skema kerja pembuatan kurva standart *formaldehde* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Prosedur penetapan kurva kalibrasi.

3.4.1.6 Berat badan tikus dan jumlah pakan yang dikonsumsi

Tujuan penghitungan jumlah pakan yang dikonsumsi dan penimbangan berat badan tikus adalah untuk mengetahui pengaruh konsumsi pakan berformalin terhadap pertumbuhan tikus wistar. Berat badan tikus dapat diketahui dengan menimbang tikus dengan menggunakan timbangan. Menimbang tikus, prinsipnya adalah tikus dipegang pada bagian dada, telunjuk dan ibu jari diletakkan dibawah rahang, masukkan ke dalam timbangan dan catat beratnya. Berat badan tikus dihitung tiap 6 hari sekali. Prinsip pemberian pakan adalah berdasarkan prosentase berat badan tikus. Menurut Wasito (1992), konsumsi pakan untuk tikus adalah 5% dari berat badan tikus. 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.

3.4.1.7 Analisis organ (Susanto, 1983)

Tujuan analisis organ tikus wistar adalah untuk mengetahui pengaruh konsumsi ikan 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 *Phospat Buffer Sallin* (PBS), dipotong kecil-kecil $0,5 \text{ cm}^3$ dan dicuci dengan *Phospat Buffer Sallin* (PBS) sebanyak 3 kali. Potongan organ dimasukkan cawan petri yang berisi larutan Eagle's MEM yang telah dicampur horse serum (dengan membandingkan konsentrasi horse serum 5% dari Eagle's MEM). Selanjutnya masuk tahapan metode parafin, yaitu:

- Fiksasi dengan merendam jaringan dalam larutan Bouin selama 24jam
- 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 mikromili. Hasil pengirisan berupa pita-pita yang berisi jaringan
- Penempelan dilakukan dengan menempelkan pita-pita jaringan pada kaca preparasi dengan menggunakan perekat meyer's – Albumin, kemudian dipanaskan diatas hot plate dengan suhu 10 °C.
- Deparafinasi proses ini dilakukan dengan merendam preparat dalam xylol untuk menghilangkan sisa-sisa parafin dalam jaringan
- Pewarnaan dilakukan secara simultan dengan menggunakan hematoxilin – eosin untuk mengetahui struktur/bentuk sel apakah terjadi perubahan atau tidak.
- Penutupan preparat yang selesai diwarnai lalu ditutup dengan kaca penutup menggunakan perekat enteilan, pengamatan di bawah mikroskop cahaya binokuler perbesaran 400X dan 1000X.

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dianalisis lebih lanjut dengan uji Tukey (SPSS versi 13) yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang terjadi diantara faktor perlakuan dengan yang digunakan beserta interaksinya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Komposisi Gizi

4.1.1 Ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

Pada penelitian ini untuk memudahkan dalam pemberian ikan lemuru berformalin pada tikus maka ikan lemuru di proses menjadi tepung ikan. Hasil analisis komposisi gizi kasein dan tepung ikan lemuru yang meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan karbohidrat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Komposisi gizi kasein dan tepung ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

Parameter Uji	Kadar proksimat (%)		
	Kasein [#]	Tepung ikan*	Tepung ikan yang direndam dengan larutan formalin 7,5%
Protein	88,53	71,62	73,88±0,08
Lemak	0	4,24	5,80±1,01
Air	11,47	10,95	11,04±0,82
Abu	0	7,09	9,28±0,11
Karbohidrat (<i>by different</i>)	0	6,10	0,00

Keterangan : * Anonymous (2005^e)

[#]Newzeland (2005)

Pada penelitian ini dilakukan analisis proksimat pada tepung ikan untuk mengetahui standart mutu (kualitas) tepung ikan yang akan digunakan sebagai pengganti kasein pada pakan tikus sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi tepung ikan berformalin terhadap pertumbuhan dan organ dalam tikus. Berdasarkan hasil analisis proksimat diketahui bahwa tepung ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) yang direndam dengan formalin 7,5 % memiliki kandungan protein (73,88%) yang tidak jauh berbeda dengan kandungan protein kasein (88,53). Protein merupakan salah satu sumber bahan pangan yang berfungsi sebagai bahan bakar, zat pembangun dan pengatur dalam tubuh, sebagai zat pembangun protein merupakan bahan pembentuk jaringan-jaringan baru

yang selalu terjadi didalam tubuh, pada masa pertumbuhan proses pembentukan jaringan terjadi secara besar-besaran (Winarno,1992).

4.1.2 Pakan

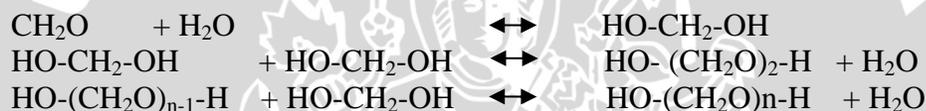
Disamping analisis proksimat terhadap tepung ikan, dilakukan juga analisis proksimat pada pakan tikus, baik itu pakan standar maupun pakan perlakuan. Tujuannya adalah untuk mengetahui jumlah komposisi gizi yang terdapat dalam setiap pakan yang berfungsi sebagai zat nutrisi (protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral) dan juga untuk menunjang proses pertumbuhan tikus. Komposisi gizi pakan standar dan pakan perlakuan dapat dilihat dalam Tabel 7.

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

Parameter Uji	Jenis Pakan				
	Standar	Perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin)			
		15% : 5%	10% : 10%	5% : 15%	0% : 20%
Protein	21,5±0,69	19,54±0,28	18,26±0,84	16,38±0,54	15,19±0,19
Lemak	4,97±0,03	5,42±0,03	5,80±0,14	6,26±0,07	6,98±0,02
Air	9,68±0,68	9,54±0,18	9,88±0,04	10,36±0,47	10,56±0,13
Abu	4,5±0,78	5,59±0,09	6,23±0,09	6,78±0,14	7,32±0,28
Karbohidrat	59,36±0,56	59,93±0,26	59,83±0,12	60,22±0,40	59,95±0,23

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa proporsi kandungan protein pada pakan perlakuan semakin menurun dengan semakin besarnya prosentase substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin, hal ini terjadi karena kandungan protein pada tepung ikan lebih rendah yaitu 73,88% sedangkan kandungan protein pada kasein mencapai 88,53%, sebaliknya pada pakan perlakuan kandungan lemak, air dan abu sedikit lebih tinggi daripada pakan standar, tetapi secara keseluruhan semua pakan perlakuan memiliki kandungan kalori yang sama dengan pakan kontrol.

Terjadinya sedikit perbedaan komposisi gizi antara pakan perlakuan dengan pakan kontrol karena adanya substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin pada pakan perlakuan (berdasarkan jumlah/total kalori) dimana komposisi gizi yang terkandung dalam tepung ikan berformalin terdiri atas karbohidrat, protein, lemak, air dan abu sedangkan komposisi gizi kasein hanya protein dan air, selain itu kandungan formalin pada pakan perlakuan juga mempengaruhi kandungan air pada pakan perlakuan. Menurut Kiernan (2000), formalin mengandung 37%-40% *formaldehyde* dan 60%-63% air. Ditambahkan oleh Small (2004) reaksi antara *formaldehyde* dan air akan menghasilkan metilen glikol selanjutnya dapat berpolimerisasi membentuk polisimetilen dan air. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada reaksi berikut :



Pembentukan air pada reaksi tersebut menyebabkan semakin tingginya kadar air seiring dengan peningkatan jumlah tepung ikan berformalin yang ditambahkan pada pakan perlakuan. Pada penelitian ini juga dilakukan analisis kuantitatif formalin pada tepung ikan dan pakan perlakuan yang akan di berikan ke tikus. Berdasarkan hasil analisis kuantitatif formalin pada tepung ikan diketahui jumlah konsentrasi formalin yang terkandung dalam tepung ikan sebesar 3,35% dan untuk hasil analisis kuantitatif formalin pada pakan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Kandungan formalin pada pakan perlakuan

Pakan perlakuan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Parameter uji	
	Kadar <i>formaldehyde</i> (%)	Kadar formalin (%)
15 : 5	0,3799	0,1405
10 : 10	0,7580	0,2804
5 : 15	1,1424	0,4227
0 : 20	1,4884	0,5507

Analisis kuantitatif formalin pada pakan perlakuan dilakukan untuk mengetahui kandungan formalinnya yang akan diberikan ke tikus percobaan. Berdasarkan hasil analisis kuantitatif formalin, didapatkan kadar formalin yang terdapat pada pakan perlakuan yaitu sebesar 0,1405%-0,5507%, sedangkan kadar formalin yang terdapat pada produk perikanan yang biasa beredar di pasaran yaitu $\pm 0,2\%$ sehingga dapat dikatakan bahwa kadar formalin yang terdapat pada ransum perlakuan sudah berada pada kisaran kandungan formalin yang ada di pasaran. Berdasarkan Tabel 8. dapat diketahui kadar formalin terendah terdapat pada pakan perlakuan substitusi kasein dengan tepung ikan pada konsentrasi 15% : 5% sebesar (0,1405%) dan kadar formalin tertinggi terdapat pada pakan perlakuan substitusi kasein dengan tepung ikan pada konsentrasi 0% : 20% sebesar (0,5507%). Sehingga dapat diketahui bahwa semakin tinggi proporsi tepung ikan yang terdapat pada pakan maka semakin tinggi pula konsentrasi formalin yang terkandung dalam pakan.

Residu formalin yang terdapat pada pakan perlakuan mengalami sedikit penurunan, karena pada proses pembuatan pakan dilakukan proses pengeringan pada suhu 60°C selama 21 jam, data penurunan konsentrasi formalin pada pakan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 9.

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 (%)

X₁ = konsentrasi formalin awal

X₂ = konsentrasi formalin pakan

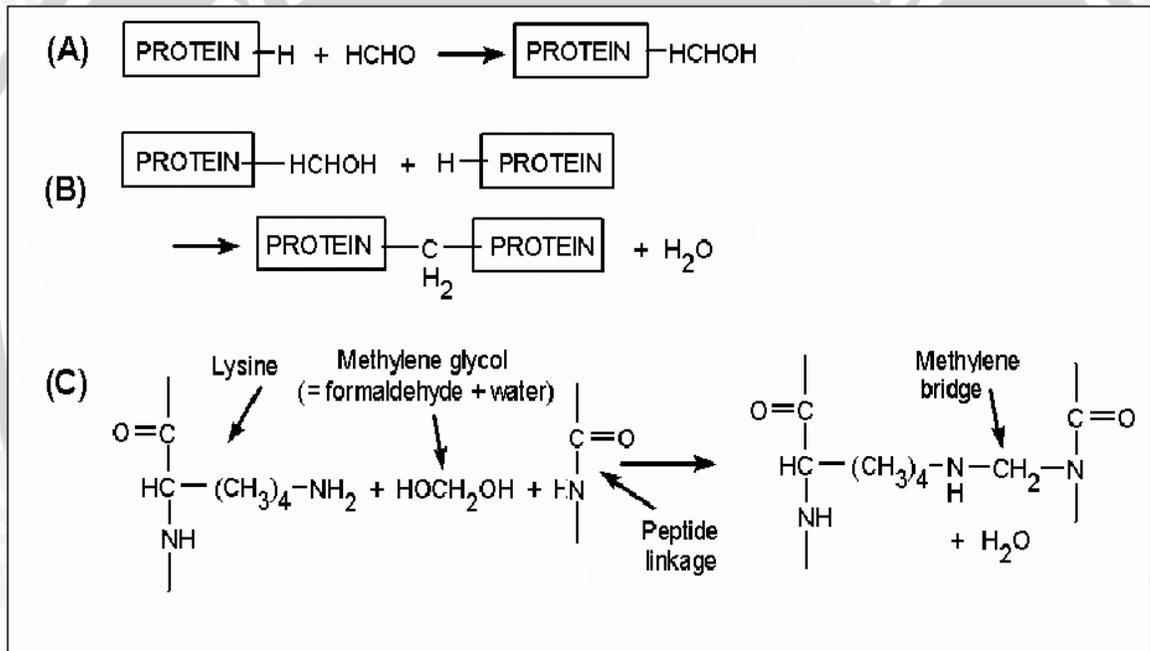
Tabel 9. Penurunan konsentrasi formalin setelah menjadi pakan

Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Konsentrasi formalin sebelum diproses menjadi pakan (%) (X ₁)	Konsentrasi formalin setelah menjadi pakan (%) (X ₂)	Penurunan konsentrasi formalin (%) (X)
20 : 0	0	0	0
15 : 5	0,1675	0,1405	16,09
10 : 10	0,3351	0,2804	16,31
5 : 15	0,5052	0,4227	16,33
0 : 20	0,6712	0,5507	17,95

Keterangan : ulangan = 3

Berdasarkan Tabel 9. dapat diketahui bahwa penurunan konsentrasi formalin pada pakan perlakuan cukup rendah meskipun pada proses pembuatan pakan dilakukan proses pengeringan pada suhu 60°C selama 21 jam, Hal tersebut dapat terjadi karena titik didih formalin berada diatas 60°C, menurut Instanref, (2006) jika *formaldehde* dalam bentuk larutan seperti formalin, titik didihnya meningkat menjadi 96°C. Tingginya residu formalin yang terdapat pada pakan perlakuan selain disebabkan oleh naiknya titik didih *formaldehde* juga disebabkan karena ikan memiliki kandungan protein yang tinggi sehingga dapat dengan mudah berikatan dengan formalin. Menurut Casanova-Schimitz *et al*, (1984) *formaldehde* memiliki gugus karbonil, dimana atom karbonnya bermuatan negatif sehingga atom karbon dari *formaldehde* bersifat elektrofil

(cenderung menarik elektron). Adanya gugus karbonil yang bersifat elektrofil membuat molekul tersebut mudah bereaksi dengan struktur molekul yang memiliki kelebihan elektron (nukleofil). Molekul yang memiliki struktur nukleofil banyak terdapat dalam komponen tubuh organisme antara lain asam nukleat, RNA dan DNA, hal ini menyebabkan *formaldehyde* mudah membentuk ikatan dengan protein, dan Ditambahkan oleh Kiernan (2000), kelompok aldehid dapat berkombinasi dengan nitrogen dan beberapa atom karbon pada protein membentuk ikatan silang -CH₂- yang dinamakan dengan jembatan metilen. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi *formaldehyde* dengan protein (Kiernan, 2000)

Pada Gambar. (A) merupakan reaksi penambahan *formaldehyde* pada protein, (B) reaksi *formaldehyde* 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 tidak menurunnya kandungan formalin secara signifikan pada ransum yang telah melalui proses pengeringan pada suhu 60°C selama 21 jam disebabkan karena formalin telah

berikatan dengan protein yang ada pada daging ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) sehingga tidak mudah menguap.

4.2 Pengaruh Konsumsi Pakan Berformalin Terhadap Jumlah Pakan Yang Dikonsumsi dan Berat Badan Tikus Percobaan

4.2.1 Jumlah konsumsi pakan

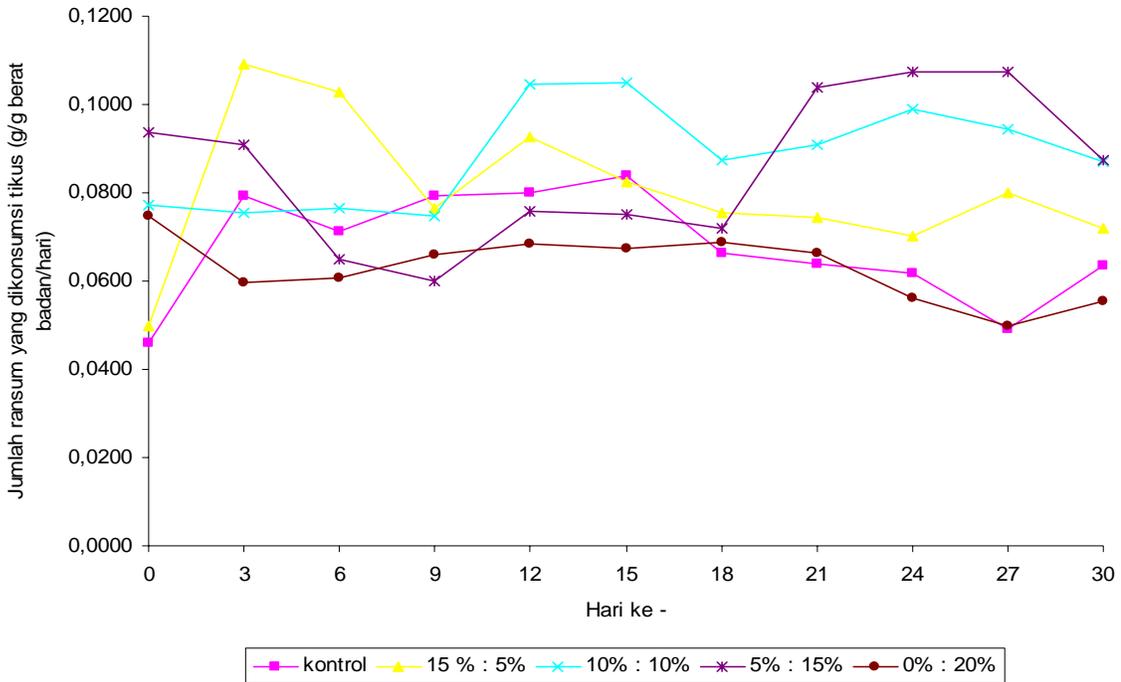
Pakan yang dikonsumsi tikus percobaan berbentuk pellet dan diberikan secara *ad libitum* (bebas makan) selama 1 dan 2 bulan. Jumlah pakan yang dikonsumsi tikus dapat diketahui dengan menghitung selisih pakan yang diberikan dengan sisa pakan yang dimakan oleh tikus. Jumlah pakan yang dikonsumsi tikus dihitung setiap hari selama 1 dan 2 bulan. Jumlah konsumsi pakan tikus (g/g berat badan) dapat dihitung dengan perhitungan sebagai berikut :

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

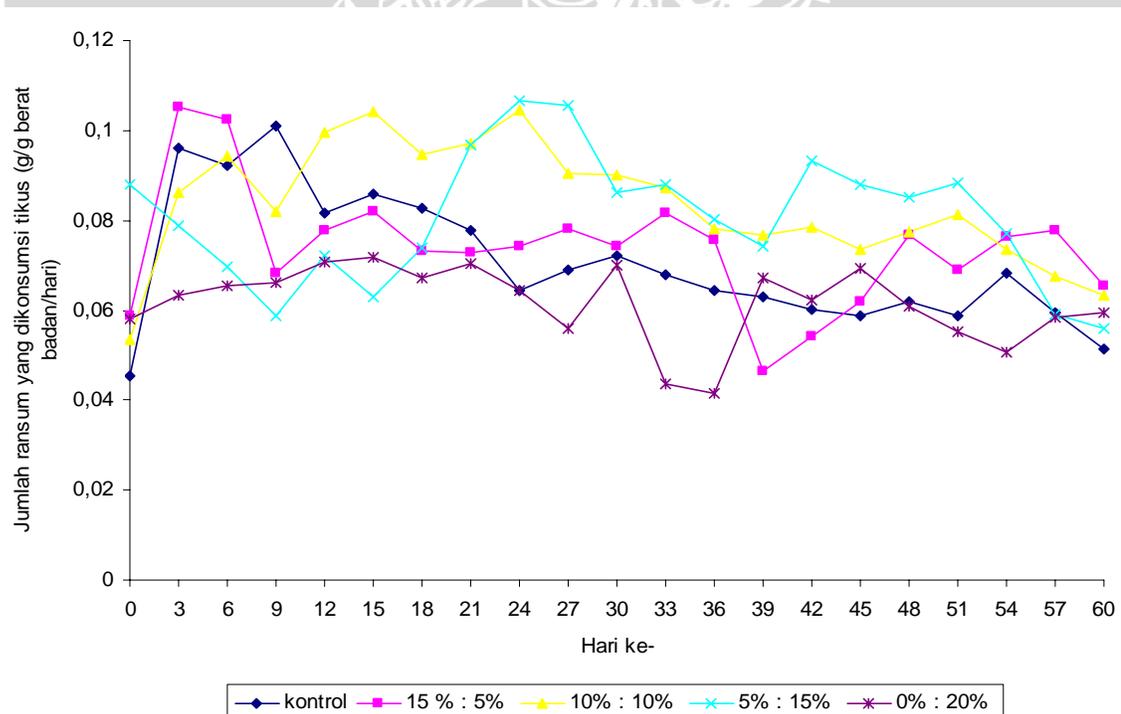
Ket : W_p = Jumlah pakan yang dikonsumsi oleh tikus (g)

W_b = Berat badan tikus (g)

Data jumlah pakan yang dikonsumsi tikus (g/g berat badan/hari) selama 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Lampiran 5, untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 7 dan 8.



Gambar 7. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.

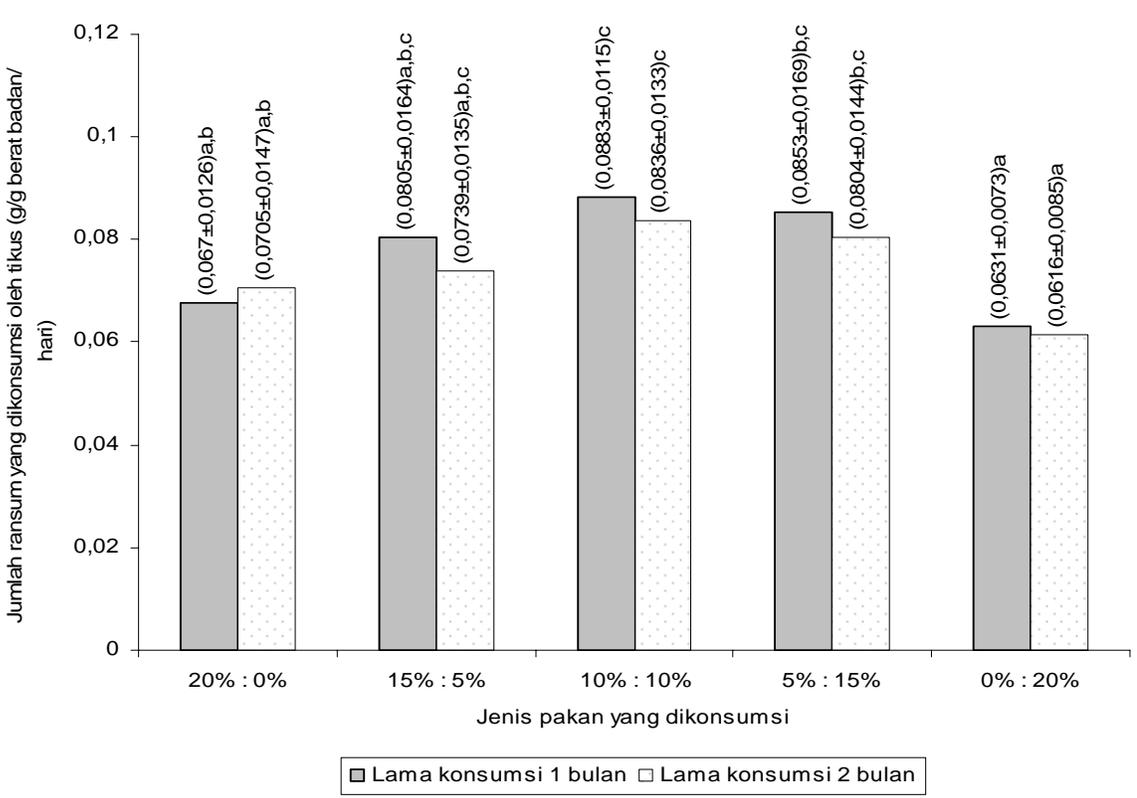


Gambar 8. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.

Berdasarkan Gambar 6 dan 7 terlihat bahwa jumlah konsumsi pakan oleh tikus untuk tiap perlakuan cukup besar. Berdasarkan Wasito (1992), konsumsi pakan untuk tikus adalah 5% dari berat badan tikus, dimana berat badan tikus berkisar antara 40,09-138,21g. Jadi dapat dikatakan bahwa secara umum jumlah konsumsi tikus untuk kontrol dan perlakuan yang didapatkan dari penelitian sudah sesuai dengan literatur yaitu berkisar 5% dari berat badan tikus.

Berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 11) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap jumlah ransum yang dikonsumsi ($p < 0,05$), lama konsumsi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah pakan yang dikonsumsi tikus ($p > 0,05$), dan tidak terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap jumlah pakan yang dikonsumsi oleh tikus ($p > 0,05$).

Dari hasil uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin pada pakan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin pada pakan maka jumlah pakan yang dikonsumsi oleh tikus semakin rendah (konsentrasi 0%, 5%, 20% berbeda nyata dengan konsentrasi 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 9. Rendahnya jumlah konsumsi pakan yang mengandung formalin 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).



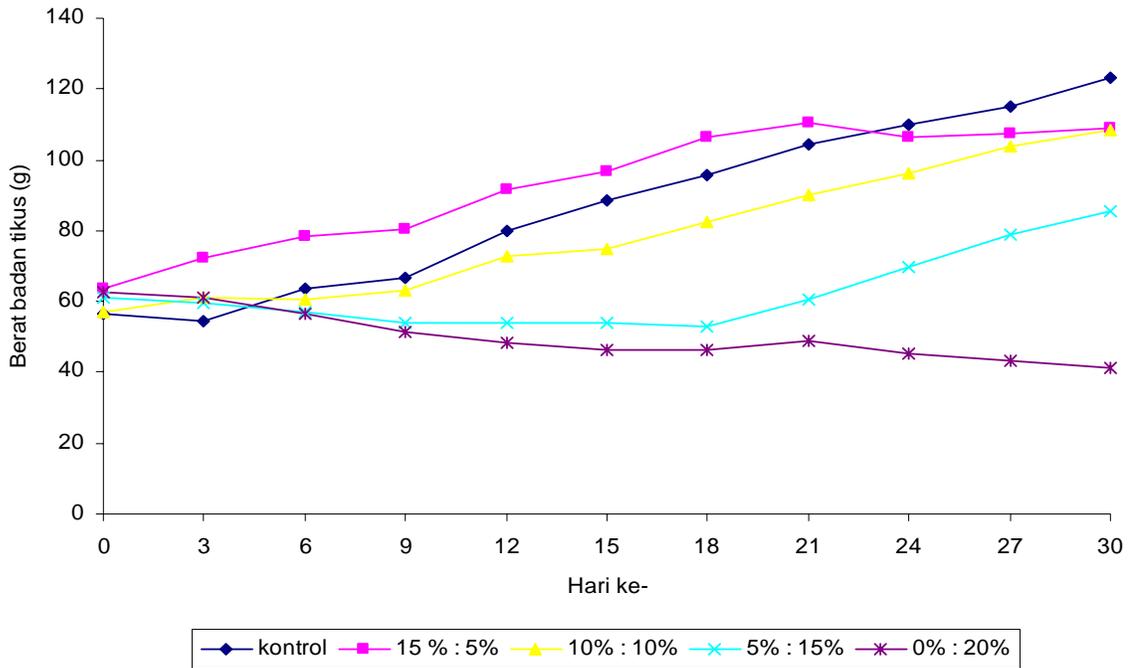
Gambar 9. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah konsumsi pakan pada tikus.

4.2.2 Berat badan tikus

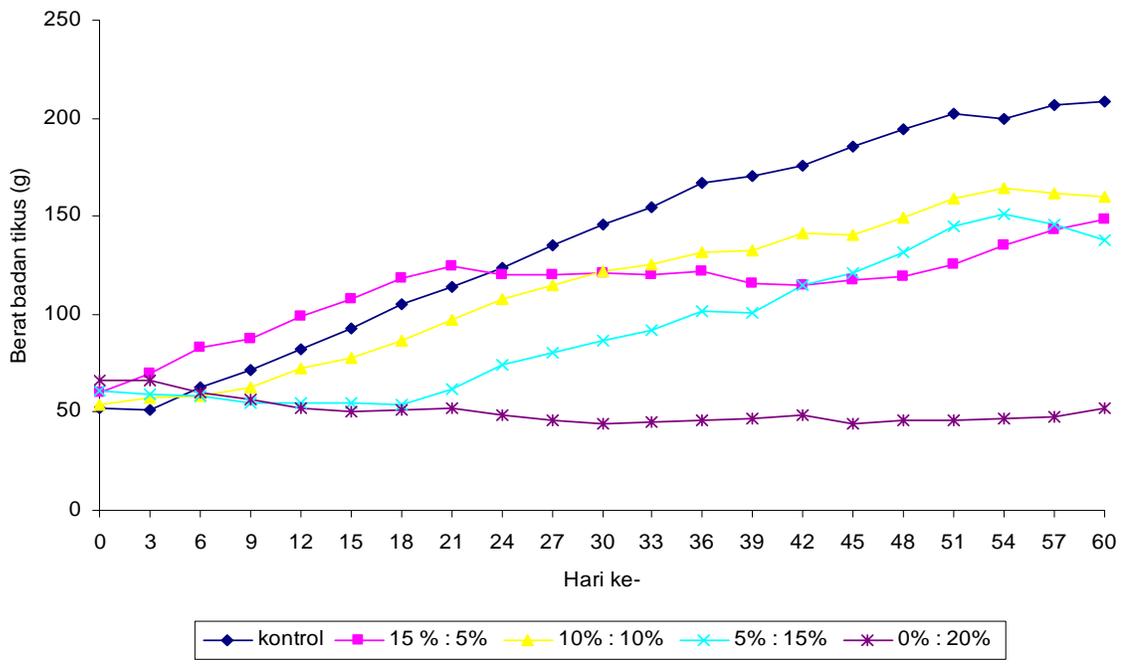
Pengukuran berat badan tikus dilakukan untuk mengetahui berat badan tikus setelah diberi pakan perlakuan secara *ad libitum*. Tikus yang digunakan pada penelitian ini dapat dikatakan memiliki berat badan awal (pada hari ke-0) yang homogen atau berat badan awal antara tikus kontrol dengan tikus perlakuan pada 1 dan 2 bulan pemeliharaan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada hasil analisis statistik pada Lampiran 17.

Cara menimbang tikus pada prinsipnya adalah tikus dipegang pada bagian dada, telunjuk, dan ibu jari diletakkan dibawah rahang kemudian tikus dimasukkan dalam timbangan dan dicatat beratnya. Berat badan tikus diukur setiap 3 hari selama 1

dan 2 bulan dan dilakukan sebelum pemberian pakan. Data berat badan tikus per 3 hari selama 1 dan 2 bulan pemeliharaan dapat dilihat pada lampiran 8. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 10 dan 11.



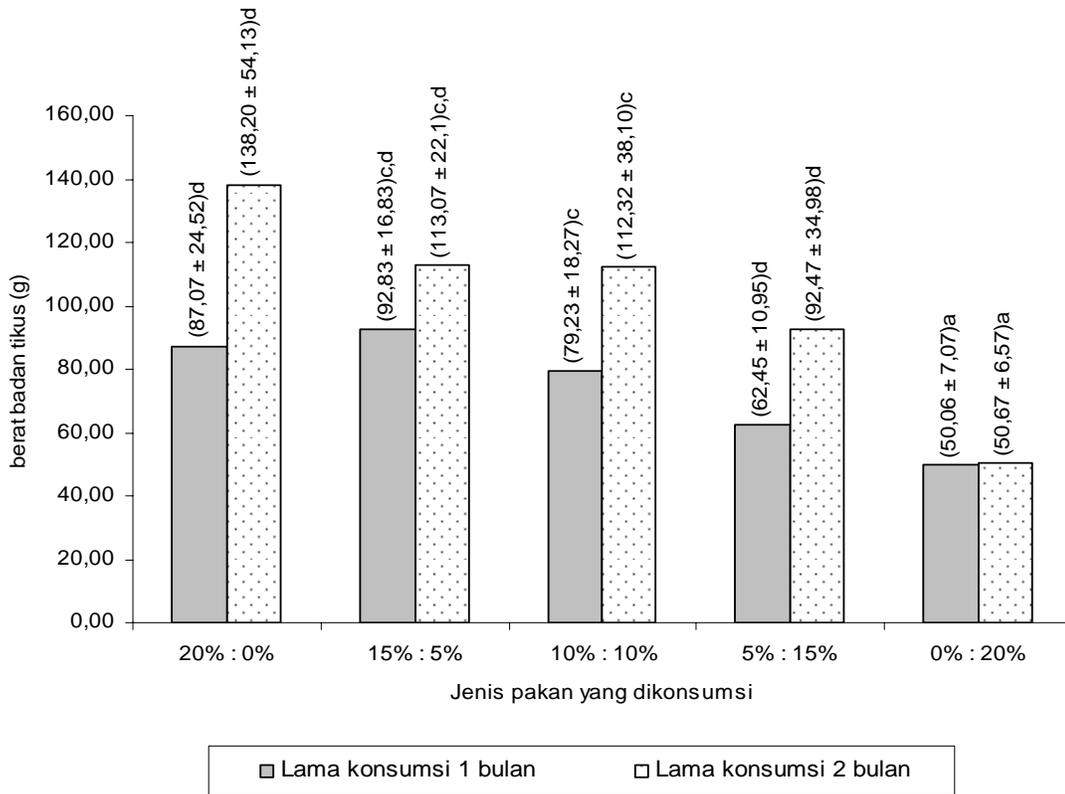
Gambar 10. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap berat badan tikus.



Gambar 11. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap berat badan tikus.

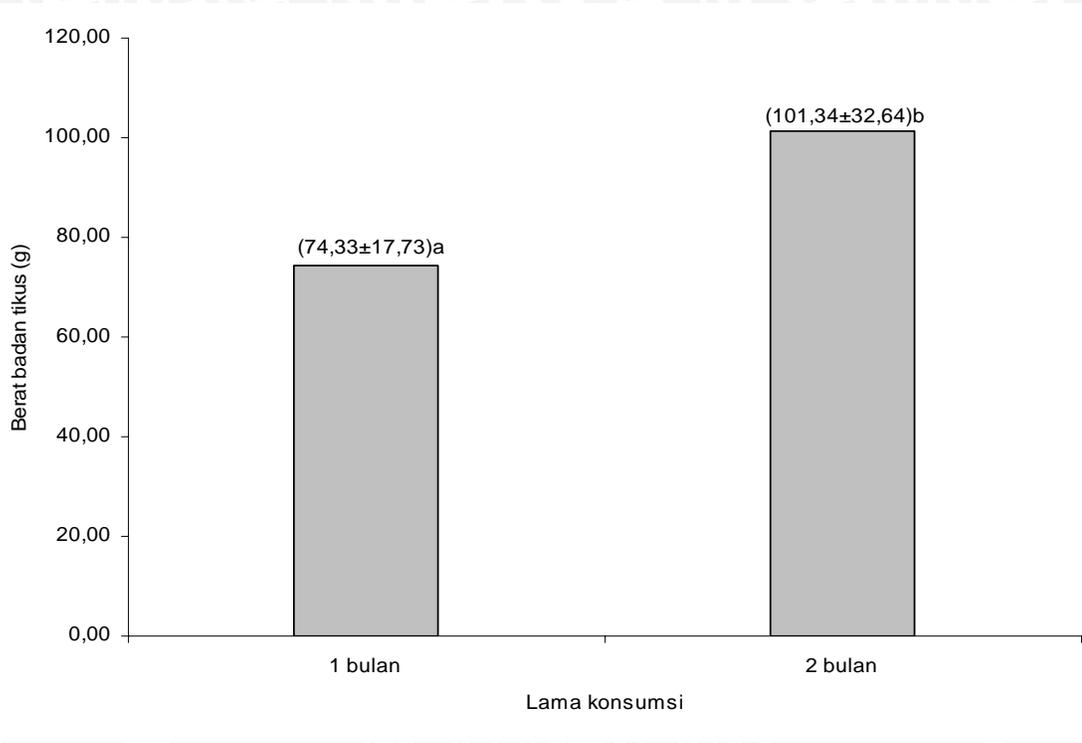
Berdasarkan hasil analisis statistik pada (Lampiran 12) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$), lama konsumsi berpengaruh nyata terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$), dan terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap berat badan tikus ($p < 0,05$), dari hasil uji BNJ (Beda Nyata Jujur) untuk konsentrasi formalin pada pakan, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin pada pakan maka berat badan tikus semakin rendah (konsentrasi 20% berbeda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 12. Hal tersebut terjadi karena formalin yang terkandung dalam pakan berdampak buruk terhadap kondisi kesehatan tikus sehingga selera makan tikus menurun, selain itu nilai gizi pakan yang mengandung formalin menjadi rendah karena zat-zat gizi pada pakan yang telah

berikatan dengan gugus aldehid dalam formalin sulit dicerna jadi mengganggu proses metabolisme makanan yang pada akhirnya dapat mengganggu pertumbuhan berat badan tikus sehingga tubuh tikus menjadi kurus. Menurut Nurachman (2006) kandungan formalin dalam suatu bahan pangan dapat menurunkan nilai kualitatif gizi yang terkandung dalam bahan pangan dan bahan pangan menjadi sulit dicerna.



Gambar 12. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap berat badan tikus.

Dari hasil analisis ragam antara lama konsumsi pakan berformalin dengan berat badan rata-rata tikus, menunjukkan bahwa berat badan tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin selama 1 bulan berbeda nyata dengan berat badan tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin selama 2 bulan ($p < 0,05$). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 13.



Gambar 13. Histogram pengaruh lama konsumsi pakan berformalin terhadap berat badan tikus.

Pertumbuhan (*growth*) merupakan peningkatan secara bertahap dari tubuh, organ dan jaringan dari masa konsepsi sampai remaja yang berkaitan dengan perubahan dalam besar, jumlah, ukuran dan fungsi tingkat sel, organ maupun individu, yang di ukur dengan ukuran berat (gram, pound, kilogram), ukuran panjang (cm, meter) dan keseimbangan metabolik. Kecepatan dari pertumbuhan berbeda pada setiap tahapan kehidupan karena dipengaruhi oleh kompleksitas dan ukuran dari organ serta rasio otot dan lemak dalam tubuh (Supariasa,dkk, 2001). Ditambahkan oleh Effendie (1997), laju pertumbuhan relatif adalah panjang/bobot yang dicapai dalam suatu periode tertentu yang dibandingkan dengan panjang/bobot tubuh awal periode. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan relatif adalah jumlah pakan yang tersedia, ukuran/berat awal, dan jumlah pakan yang dikonsumsi. Data laju pertumbuhan relatif berat badan tikus tiap 3 hari dengan lama konsumsi 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Lampiran 9. dan

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 14 dan 15. Menurut Sitompul dan Bambang.G (1995), laju pertumbuhan relatif berat badan tikus dapat dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

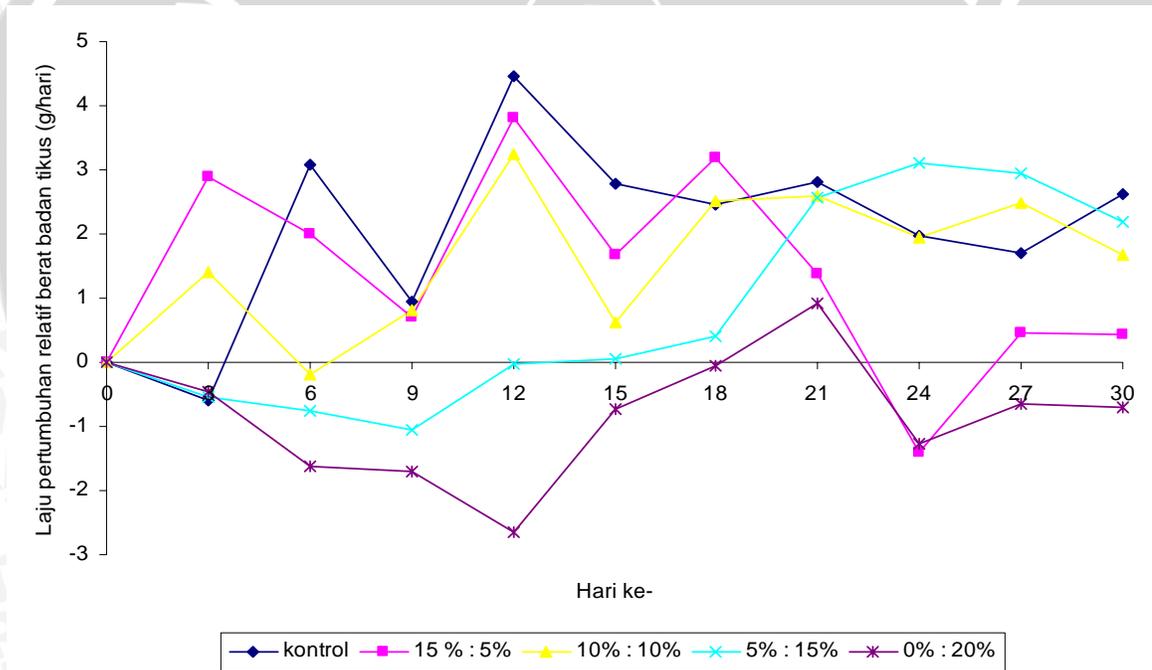
$$LPR (g/hari) = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}$$

Ket : W_2 = Berat badan pada hari ke-x

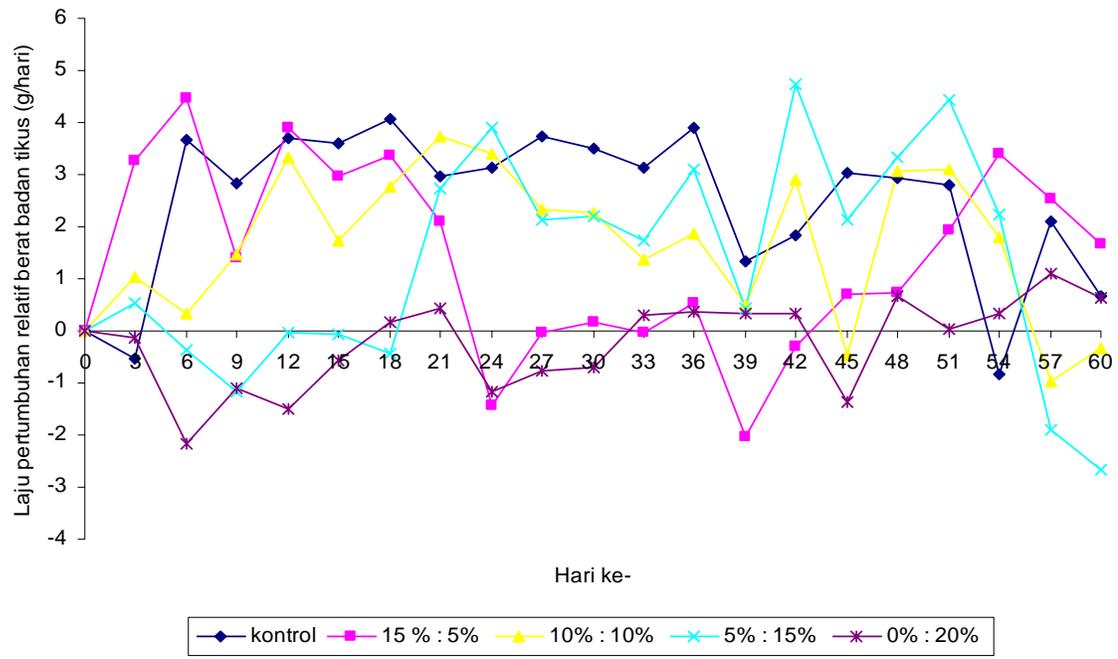
W_1 = Berat badan pada hari sebelumnya

t_2 = Hari ke-x

t_1 = Hari sebelumnya



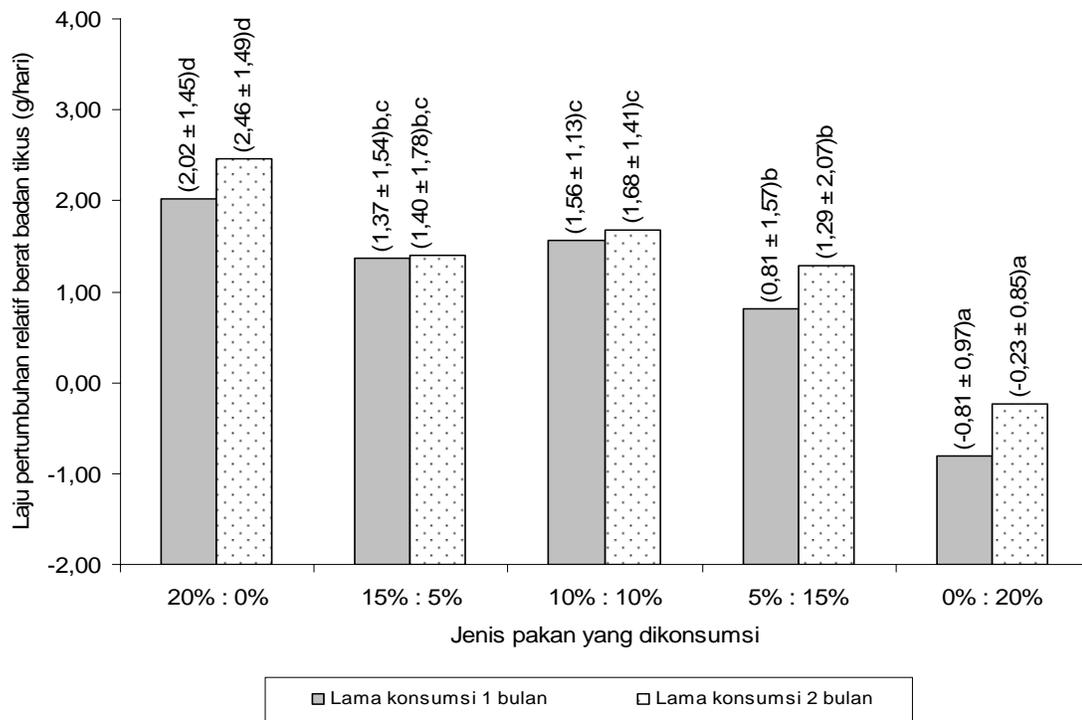
Gambar 14. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 1 bulan terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus.



Gambar 15. Grafik pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 bulan terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus.

Berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 13) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus ($p < 0,05$), lama konsumsi berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus ($p < 0,05$) dan terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus ($p < 0,05$), berdasarkan hasil BNJ untuk konsentrasi formalin pada pakan, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin pada pakan maka laju pertumbuhan relatif berat badan tikus semakin rendah (konsentrasi 20% berbeda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 16. Hal tersebut terjadi karena formalin yang terkandung dalam pakan berdampak buruk terhadap kondisi kesehatan tikus sehingga selera makan tikus menurun, selain itu nilai gizi pakan yang mengandung

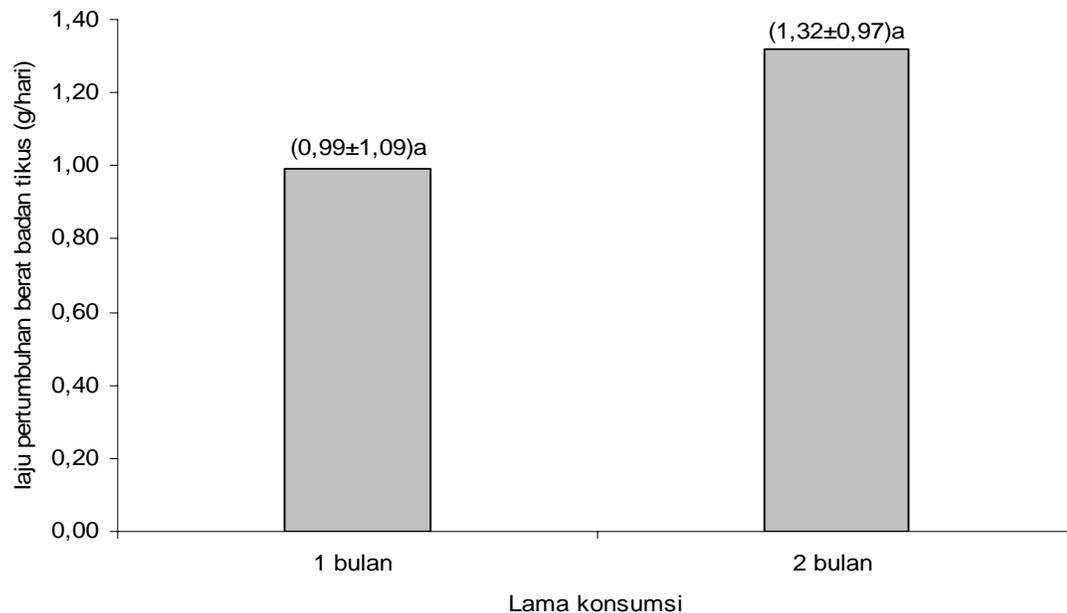
formalin menjadi rendah karena zat-zat gizi pada pakan yang telah berikatan dengan gugus aldehyd dalam formalin sulit dicerna jadi mengganggu proses metabolisme makanan yang pada akhirnya dapat mengganggu pertumbuhan tikus sehingga tubuh tikus menjadi kurus. Menurut Nurachman (2006) kandungan formalin dalam suatu bahan pangan dapat menurunkan nilai kualitatif gizi yang terkandung dalam bahan pangan dan bahan pangan menjadi sulit dicerna.



Gambar 16 . Histrogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus.

Dari hasil analisis ragam antara lama konsumsi pakan berformalin dengan laju pertumbuhan relatif berat badan tikus, menunjukkan bahwa laju pertumbuhan relatif berat badan tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin selama 1 bulan tidak berbeda nyata dengan laju pertumbuhan relatif berat badan tikus yang mengkonsumsi pakan

berformalin selama 2 bulan ($p>0,05$). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 17.



Gambar 17. Histogram pengaruh lama konsumsi pakan berformalin terhadap laju pertumbuhan relatif berat badan tikus.

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

4.3.1 Hati

Pengukuran berat hati tikus dilakukan untuk mengetahui berat hati tikus setelah diberi pakan perlakuan selama 1 dan 2 bulan secara *ad libitum*. Penimbangan hati tikus dilakukan setelah tikus di bedah dan diambil hatinya lalu dimasukkan dalam timbangan dan dicatat beratnya. Berat hati tikus diukur pada 1 bulan dan 2 bulan pemeliharaan. Data berat hati tikus dapat dilihat pada Lampiran 10. Dan untuk data rerata berat hati tikus per 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Berat hati tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan)

Lama konsumsi	Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ hati
1 Bulan	20 : 0	0,0341 (a)
	15 : 5	0,0345 (a)
	10 : 10	0,0346 (a)
	5 : 15	0,0369 (a)
	0 : 20	0,0396 (a)
2. Bulan	20 : 0	0,0318 (a)
	15 : 5	0,0314 (a)
	10 : 10	0,0316 (a)
	5 : 15	0,0338 (a)
	0 : 20	0,0371 (a)

Berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 14) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap berat hati tikus ($p>0,05$), lama konsumsi tidak berpengaruh nyata terhadap berat hati tikus ($p>0,05$), dan tidak terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap berat hati tikus ($p>0,05$). Berat hati antara tikus kontrol dan perlakuan tidak berbeda nyata karena perubahan yang terjadi pada hati tikus perlakuan yang terkena paparan formalin lebih kearah mikroskopis.

Pada penelitian ini juga dilakukan foto jaringan pada organ hati yang bertujuan untuk mengetahui anatomi jaringan hati tikus sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi ikan berformalin terhadap organ dalam tikus terutama hati. Hati berkembang sebagai pertumbuhan dari dinding usus dan berhubungan erat dengan saluran pencernaan (Develander and Ramaley, 1980). Ditambahkan oleh Price and Wilson (1985), bahwa hati mempunyai dua suplai darah yaitu: dari saluran cerna dan limpa. Hati merupakan organ parenkim yang ukurannya terbesar, mempunyai fungsi yang banyak

dan kompleks, antara lain: berperan memetabolisme karbohidrat, protein dan lemak, penyimpanan vitamin, besi dan tembaga, konyugasi dan ekstraksi steroid adrenal dan gonad, dan detoksifikasi sejumlah zat endogen dan eksogen. Berdasarkan hasil foto jaringan maka dapat dilakukan pemeriksaan histopatologi (anatomi jaringan) untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari mengkonsumsi ikan berformalin dengan konsentrasi dan lama konsumsi yang berbeda terhadap anatomi jaringan hati tikus. Hasil dioagnosa pada hati tikus dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil diagnosa pada hati tikus kontrol dan perlakuan

Faktor		Jumlah tikus (ekor)	
Lama konsumsi (bulan)	Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Normal (TAP)	Mengalami degenerasi vakuola (DV)
1	20 : 0	3	0
	15 : 5	3	0
	10 : 10	3	0
	5 : 15	2	1
	0 : 20	2	1
2	20 : 0	3	0
	15 : 5	2	1
	10 : 10	2	1
	5 : 15	1	2
	0 : 20	0	3

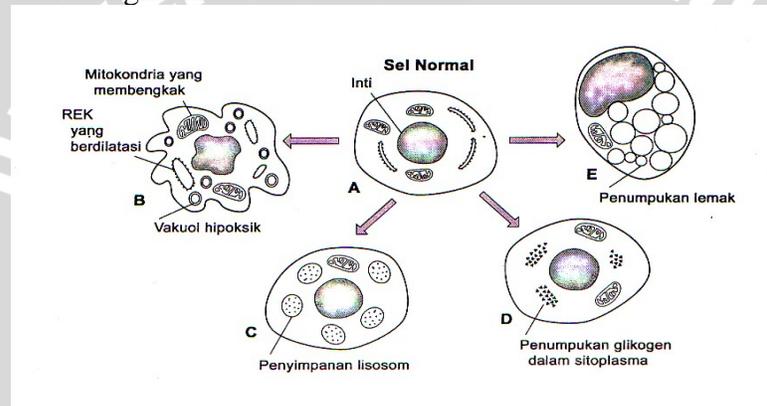
KETERANGAN :

TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ

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

Berdasarkan pada Tabel 11. dapat diketahui bahwa jaringan atau organ hati pada tikus kontrol dan tikus perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%) tidak mengalami perubahan yang spesifik, sedangkan pada hati tikus perlakuan 1 (5% : 15%); (0% : 20%)

dan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) dan (0% : 20%)) mengalami DV (Adanya bentukan vakuola lemak yang berbatas jelas pada sitoplasma sel hati). Menurut Djojopranoto (1960), hati ialah alat tubuh yang termudah terkena perlemakan, perubahan biasanya mulai dipusat (sentral), karena daerah sentral paling jauh dari pembuluh darah arteri atau pembuluh darah portal, perubahan dasar yang terjadi ialah degradasi mitokondria dan endoplasmik retikulum yang mengakibatkan gangguan produksi energi melalui oksidasi, sehingga sel yang sakit ini tidak dapat mengeleminasi trigleserida dan menghasilkan timbunan lemak.



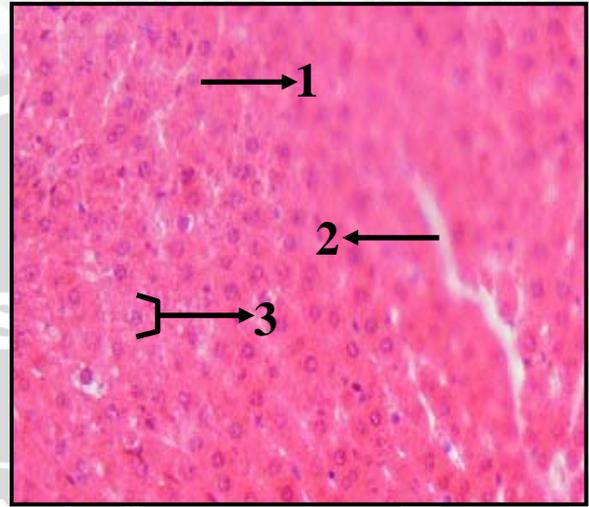
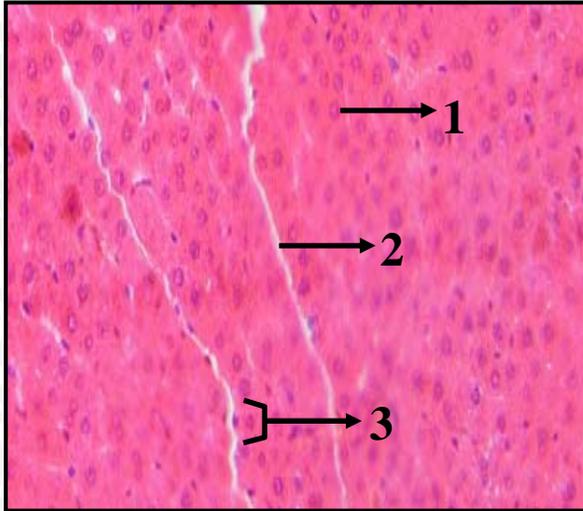
Gambar 18. Pembengkakan sel dan vakuolisasi dalam sitoplasma (Damjanov, 2000)

Degenerasi vakuola yang terjadi pada hati tikus perlakuan 1 (5% : 15%); (0% : 20%) dan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) dan (0% : 20%) termasuk degenerasi vakuola yang disebabkan oleh intoksifikasi zat kimia, zat kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah formalin. Menurut Djojopranoto (1960), degenerasi Vakuola dapat terjadi karena beberapa sebab antarlain: Anoxia (infeksi yang disertai panas tinggi), intoksifikasi bermacam-macam zat kimiawi, terlalu banyak makan, kelaparan ("starvation"), diabetes. Berdasarkan hasil diagnosa pada anatomi jaringan hati tikus dapat diketahui bahwa konsentrasi dan lama konsumsi (lama pemaparan formalin pada tubuh tikus) berpengaruh terhadap terjadinya kerusakan anatomi jaringan hati tikus

(DV). Hati tikus pada perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%) tidak ada yang mengalami DV karena lama konsumsi pakan perlakuan (pemaparan formalin pada tubuh tikus) hanya berlangsung selama 1 Bulan sehingga masih dapat biotransformasi oleh hati. Menurut Develander and Ramaley (1980), hati mempunyai kemampuan untuk mendetoksikasi banyak produk metabolik serta obat dan toksin, sering sebelum diekskresikan kedalam urina, proses detoksikasi melibatkan perubahan kimia, dan/atau konjugasi terutama dengan asam glukuronat, glisin, atau sulfat. Ditambahkan oleh Djojopranoto (1960), Bila tidak berat, perlemakan hati tidak mengganggu fungsi dan juga dapat sembuh (reversibel) kalau penyebabnya dihilangkan.. Hati pada tikus perlakuan 2 (15% : 5%) dan (10% : 10%) ada yang mengalami DV, meskipun jenis pakan yang di konsumsi sama dengan tikus perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%) hal tersebut dapat terjadi karena lama konsumsi pakan perlakuan (lama pemaparan formalin pada tubuh tikus) pada tikus perlakuan 2 (15% : 5%); (10% : 10%) berlangsung lebih lama yaitu 2 Bulan.

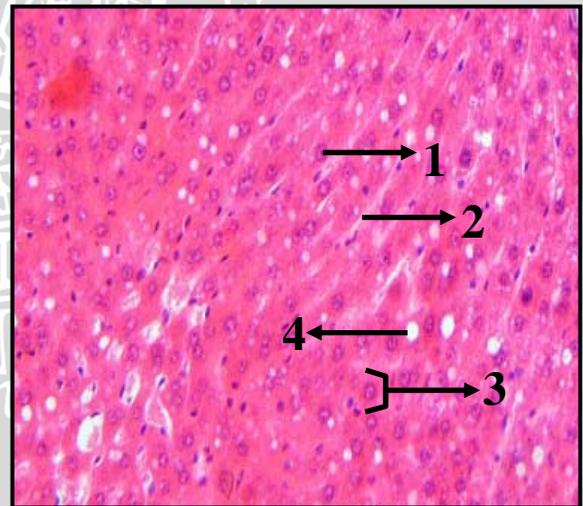
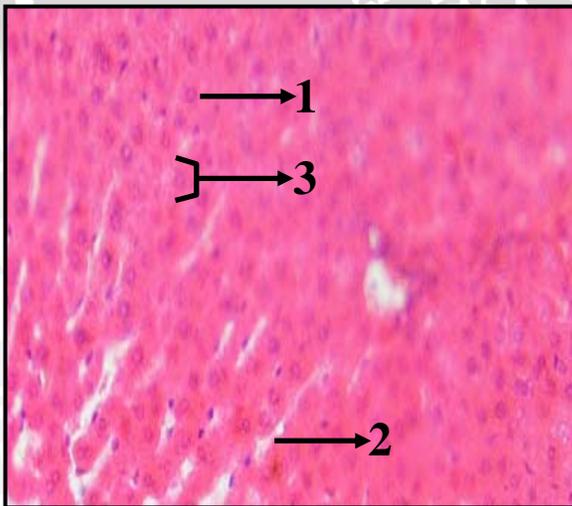
Degenerasi Vakuola yang terjadi pada hati tikus perlakuan 1 (5% : 15%); (0% : 20%) dikarenakan tikus mengkonsumsi pakan yang mengandung formalin yang cukup tinggi sehingga walaupun lama konsumsi hanya selama 1 bulan tapi sudah dapat mengakibatkan DV pada hati tikus, sedangkan DV yang terjadi pada tikus perlakuan 2 (5% : 15%) dan (0% : 20%) dikarenakan tikus mengkonsumsi ransum yang mengandung formalin cukup tinggi dalam jangka waktu yang lama (2 bulan) sehingga mengakibatkan terakumulasinya formalin dalam tubuh tikus . menurut Anonymous (2006^g) Pemaparan formalin dalam jangka waktu yang lama dan berulang-ulang dapat menimbulkan terakumulasinya formalin dalam tubuh sehingga dapat mengakibatkan terjadinya gangguan organ non-tumor, salah satunya pembesaran hati karena methanol yang

tekandung dalam formalin. Hasil foto jaringan hati tikus dapat dilihat pada Gambar 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 dan 27.



Gambar 19. Struktur histologis jaringan hati tikus kontrol (normal)

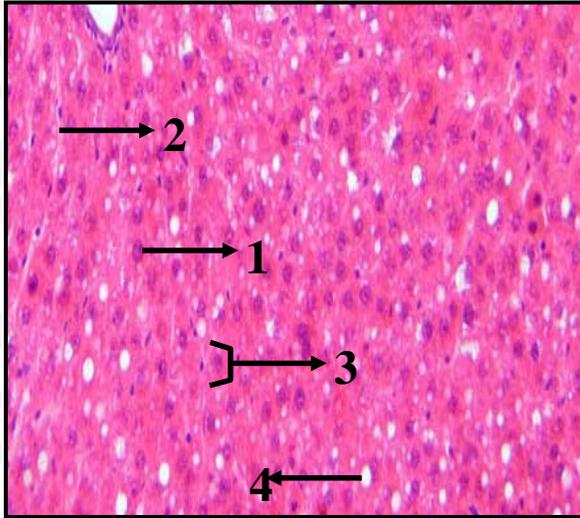
Gambar 20. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (1 bulan) normal



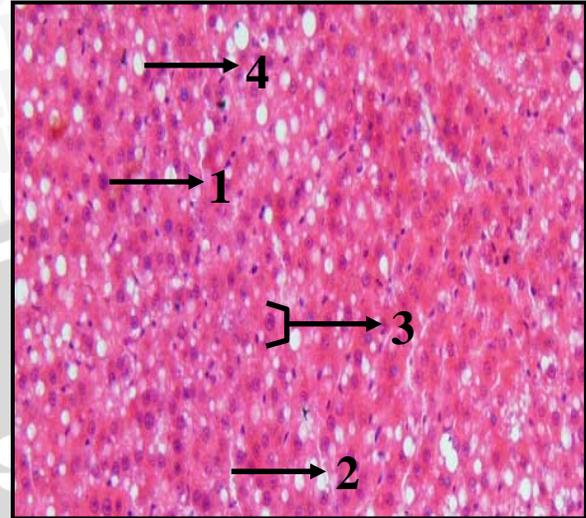
Gambar 21. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (1 bulan) normal

Gambar 22. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)

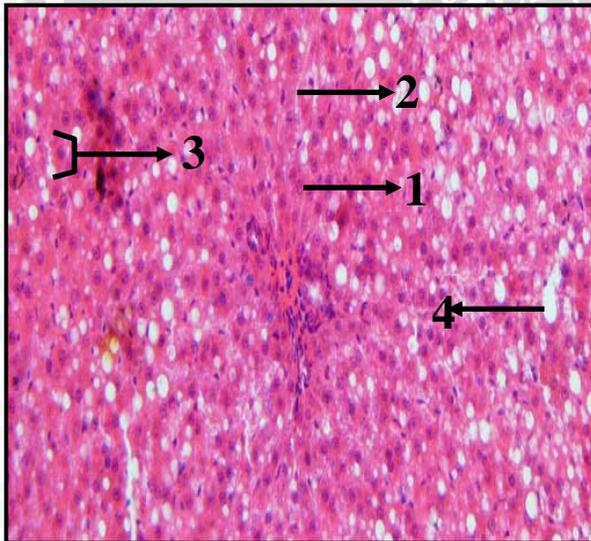
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Inti 2. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 3. Sel hepatosit; 4. Timbunan lemak trigliserida dan metabolit dalam vakuola-vakuola yang terbentuk didalam sitoplasma.



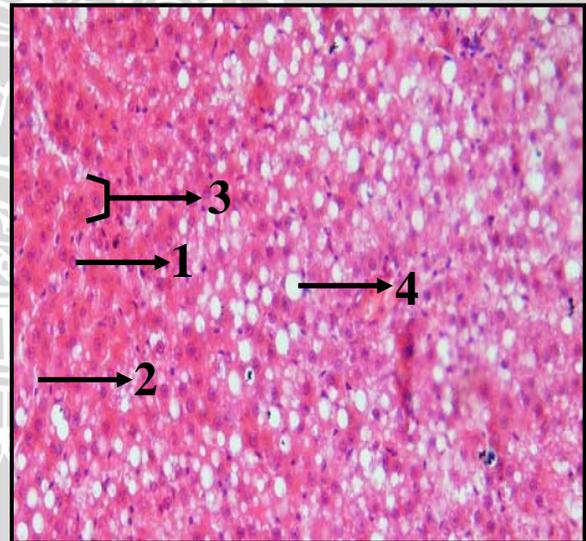
Gambar 23. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)



Gambar 24. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)

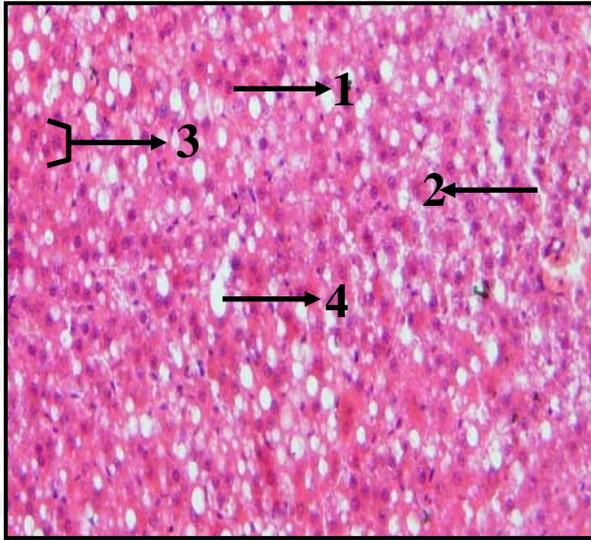


Gambar 25. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)



Gambar 26. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Inti 2. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 3. Sel hepatosit; 4. Timbunan lemak trigliserida dan metabolit dalam vakuola-vakuola yang terbentuk didalam sitoplasma.



Gambar 27. Struktur histologis jaringan hati tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) yang mengalami degenerasi vakuola (DV)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Inti 2. Sinusoid (mengalami penyempitan akibat pembengkakan sel); 3. Sel hepatosit; 4. Timbunan lemak trigliserida dan metabolit dalam vakuola-vakuola yang terbentuk didalam sitoplasma.

Degenerasi Vakuola yang terjadi pada hati tikus perlakuan 1 (5% : 15%); (0% : 20%) dan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) dan (0% : 20%) berpengaruh terhadap laju pertumbuhan badan tikus. Menurut Supariasa dkk (2001), kecepatan pertumbuhan berat badan dipengaruhi oleh kompleksitas dan ukuran dari organ serta rasio otot dengan lemak tubuh. Pada tikus perlakuan 1 (5% : 15%); (0% : 20%) dan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) dan (0% : 20%) yang hatinya mengalami DV, memiliki berat badan lebih rendah apabila dibandingkan dengan tikus kontrol dan tikus perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%) yang hatinya tidak mengalami DV, hal tersebut sesuai dengan presentase perbandingan berat organ hati dengan berat badan tikus, dimana semakin besar nilai presentase perbandingan berat organ hati dengan berat badan

tikus maka kemungkinan terjadinya DV juga semakin besar. Data presentase perbandingan antara berat ginjal dengan berat badan dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Presentase perbandingan antara berat hati dengan berat badan.

Lama konsumsi (bulan)	jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ hati (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Presentase perbandingan berat organ hati dan berat badan (%)
1	20 : 0	4,19±0,18	123,10±9,47	3,41 (a)
	15 : 5	3,76±0,43	108,93±14,32	3,45 (a)
	10 : 10	3,76±0,24	108,67±8,27	3,46 (a)
	5 : 15	3,15±0,22	85,37±8,62	3,69 (a)
	0 : 20	1,62±0,34	41,13±9,32	3,96 (a)
2	20 : 0	6,63±0,029	208,30±1,30	3,18 (a)
	15 : 5	4,67±0,15	148,87±9,4	3,14 (a)
	10 : 10	5,03±0,49	160,30±24,82	3,16 (a)
	5 : 15	4,66±0,17	137,57±3,23	3,38 (a)
	0 : 20	1,83±0,39	49,30±10,83	3,71 (a)

Keterangan : ulangan = 3

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

4.3.2 Ginjal

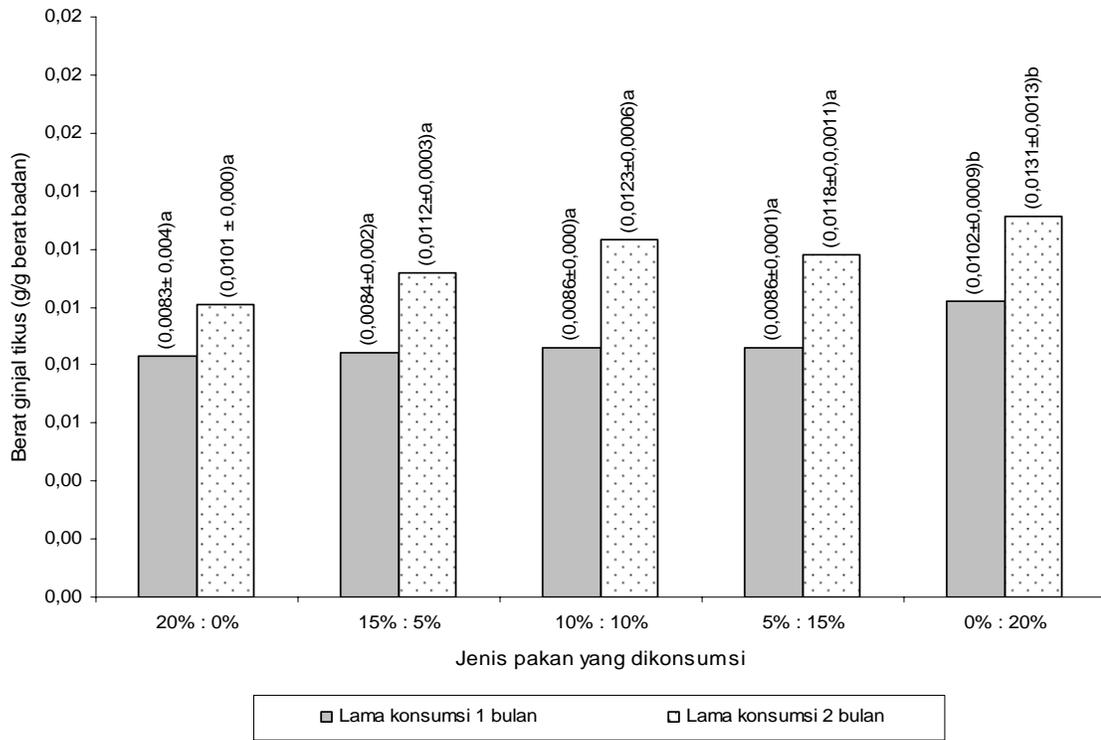
Pengukuran berat ginjal tikus dilakukan untuk mengetahui berat ginjal tikus setelah diberi pakan perlakuan selama 1 dan 2 bulan secara *ad libitum*. Penimbangan ginjal tikus dilakukan setelah tikus di bedah dan diambil ginjalnya lalu dimasukkan dalam timbangan dan dicatat beratnya. Berat ginjal tikus diukur pada 1 bulan dan 2 bulan pemeliharaan. Data berat ginjal tikus dapat dilihat pada Lampiran 10, dan untuk data rerata berat ginjal tikus per 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Berat ginjal tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan)

Lama konsumsi	Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ ginjal
1 Bulan	20 : 0	0,0084 (a)
	15 : 5	0,0084 (a)
	10 : 10	0,0086 (a)
	5 : 15	0,0086 (a)
	0 : 20	0,0102 (b)
2. Bulan	20 : 0	0,0101 (a)
	15 : 5	0,0112 (a)
	10 : 10	0,0123 (a)
	5 : 15	0,0118 (a)
	0 : 20	0,0131 (b)

Berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 15) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap berat ginjal tikus ($p < 0,05$), lama konsumsi tidak berpengaruh nyata terhadap berat ginjal tikus ($p > 0,05$), dan tidak terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap berat ginjal tikus ($p > 0,05$).

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% berbeda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada Gambar 26. Hal tersebut terjadi karena ginjal tikus yang mengkonsumsi pakan berformalin mengalami nekrosis sehingga volume jaringan sel pada organ ginjal meningkat (Price dan Wilson 1985).



Gambar 28. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap berat ginjal tikus.

Pada penelitian ini juga dilakukan foto jaringan pada organ ginjal yang bertujuan untuk mengetahui anatomi jaringan ginjal tikus sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi ikan berformalin terhadap organ dalam tikus terutama ginjal. Menurut Price and Wilson (1982), ginjal melakukan fungsi vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan internal dengan mengekskresikan solut dan air secara selektif, selain itu ginjal merupakan suatu unit organ dalam tubuh yang mempunyai peranan dalam mengekskresikan bahan –bahan kimia asing tertentu (obat-obatan dan sebagainya) hormon-hormon dan metabolit lain. Berdasarkan hasil foto jaringan maka dapat dilakukan pemeriksaan histopatologi (anatomi jaringan) untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari mengkonsumsi ikan berformalin dengan konsentrasi dan lama konsumsi yang berbeda terhadap kondisi anatomi jaringan ginjal tikus. Hasil dioagnosa pada ginjal tikus dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil diagnosa pada ginjal tikus kontrol dan perlakuan

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

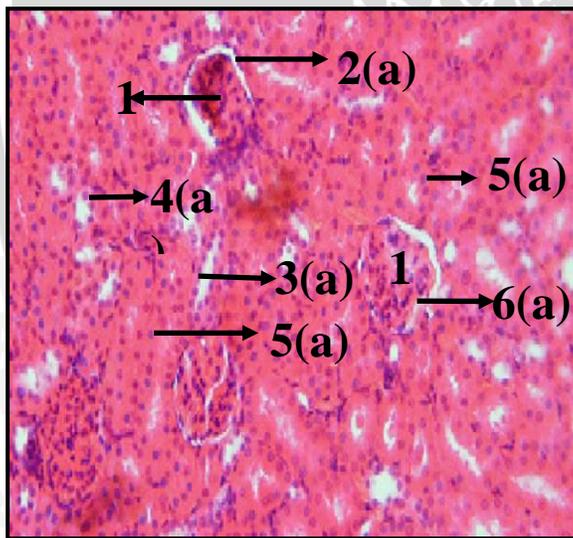
CA = Timbunan massa kalsium yang berwarna kebiruan pada daerah tubuli ginjal yang mengalami nekrosis.

Berdasarkan pada Tabel 14. dapat diketahui bahwa organ ginjal tikus kontrol dan tikus perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) tidak mengalami perubahan yang spesifik sedangkan organ ginjal tikus pada perlakuan 1 (0% : 20%) dan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%); (0% : 20%) mengalami N,CA (Nekrosis pada epitel tubuli ginjal dan Timbunan massa kalsium yang berwarna kebiruan pada daerah tubuli ginjal yang mengalami nekrosis). Nekrosis adalah kematian sel/sekelompok sel, atau sebagian dari pada alat tubuh yang masih mempunyai hubungan dengan tubuh yang

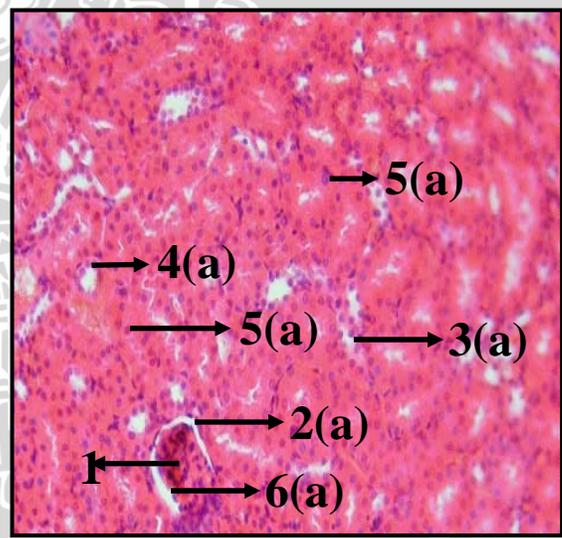
hidup dan tanda-tanda kematian sel terdapat pada inti sel, nekrosis juga merupakan suatu proses yang dinamik sehingga memerlukan waktu untuk mengadakan berbagai perubahan morfologi, tahap-tahap perubahan morfologi pada proses nekrosis yaitu: 1. piknosis (kromatin mengelompok dan membran mengerut), 2. karyorhexis (membran inti pecah dan isinya mengadakan fragmentasi), 3. *cloudy swelling* (terjadi bersamaan dengan berbagai perubahan inti dalam sitoplasma), 4. degenerasi lemak dan mencairnya isi sel (Djojopranoto 1960).

Berdasarkan hasil diagnosa pada anatomi jaringan ginjal tikus dapat diketahui bahwa konsentrasi dan lama konsumsi (lama pemaparan formalin pada tubuh tikus) berpengaruh terhadap terjadinya kerusakan anatomi jaringan ginjal tikus (N,CA). Ginjal tikus pada perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) tidak ada yang mengalami N,CA karena lama konsumsi pakan perlakuan (pemaparan formalin pada tubuh tikus) hanya berlangsung selama 1 Bulan sehingga masih dapat biotransformasi oleh ginjal, sedangkan pada ginjal tikus perlakuan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) ada yang mengalami N,CA walaupun jenis ransum yang di konsumsi sama dengan tikus perlakuan 1 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%), hal tersebut dapat terjadi karena lama konsumsi pakan perlakuan (lama pemaparan formalin pada tubuh tikus) pada tikus perlakuan 2 (15% : 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) berlangsung lebih lama yaitu 2 bulan. N,CA yang terjadi pada ginjal tikus perlakuan 1 (0% : 20%) dikarenakan tikus mengkonsumsi pakan yang mengandung formalin yang cukup tinggi sehingga walaupun lama konsumsi hanya selama 1 bulan tapi sudah dapat mengakibatkan N,CA pada ginjal tikus, sedangkan N,CA yang terjadi pada tikus perlakuan 2 (0% : 20%) dikarenakan tikus mengkonsumsi pakan yang mengandung formalin cukup tinggi dalam jangka waktu yang lama (2 bulan) sehingga mengakibatkan terakumulasi formalin dalam tubuh

tikus. Menurut Anonymous (2006^s) jika kandungan formalin dalam tubuh tinggi maka formalin akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat didalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel yang menyebabkan kerusakan pada organ tubuh. Ditambahkan oleh Djojopranoto (1960), pada dasarnya nekrosis terjadi akibat organ kekurangan asupan O₂ yang dapat terjadi karena beberapa sebab, antarlain: ischamia atau anemia lokal, agens fisik, agens kimia, agens biologik, dan kepekaan yang berlebihan. 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 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 dan 37.

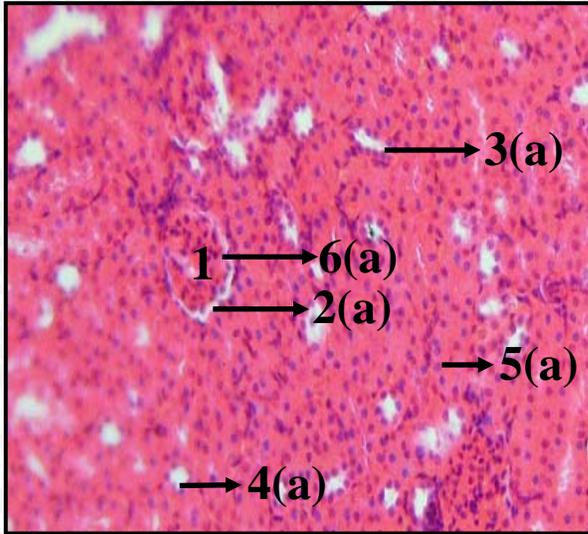


Gambar 29. Struktur histologis jaringan ginjal tikus kontrol (normal).

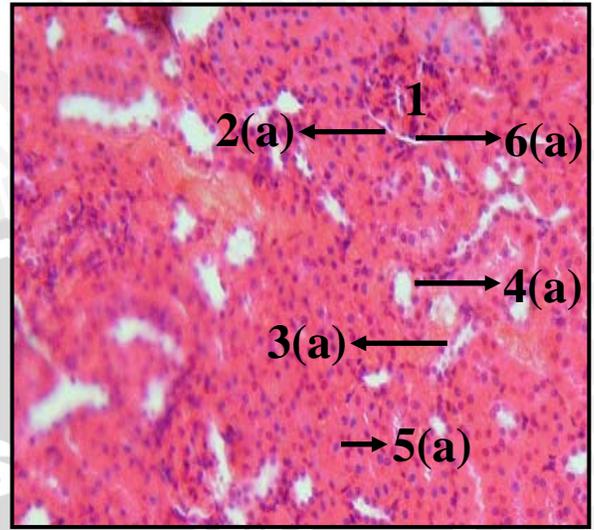


Gambar 30. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (1 bulan) normal

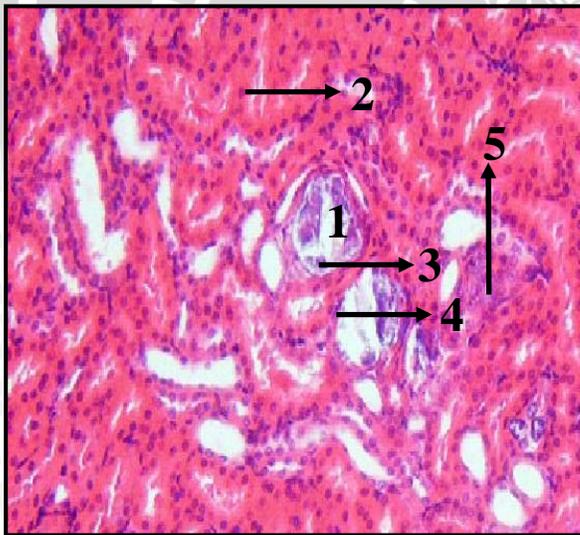
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2(a). Kapsul Bowman; 3(a). Pancaran meduler; 4(a). Tubula berpilin proksimal; 5(a). Inti; 6(a). Lapisan parietal; 2. Inti sel normal; 3. Timbunan masa kalsium; 4. Kapsul Bowman; 5. Inti sel mengalami karyolisis.



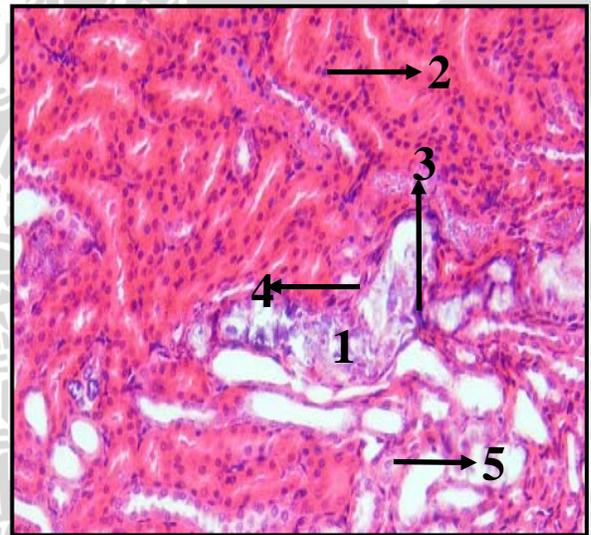
Gambar 31. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (1 bulan) normal



Gambar 32. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (1 bulan) normal

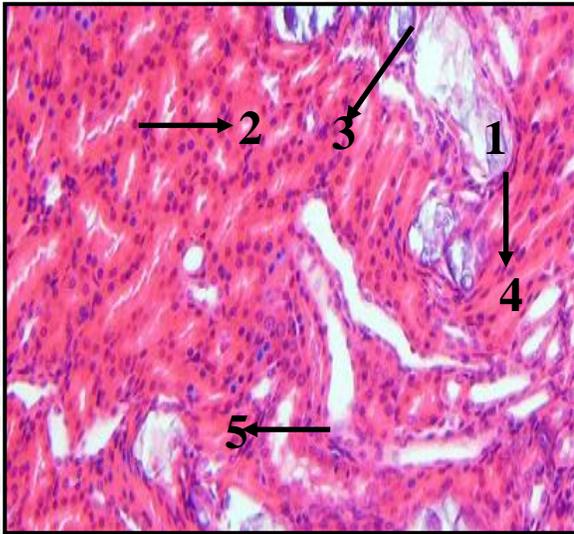


Gambar 33. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (1 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

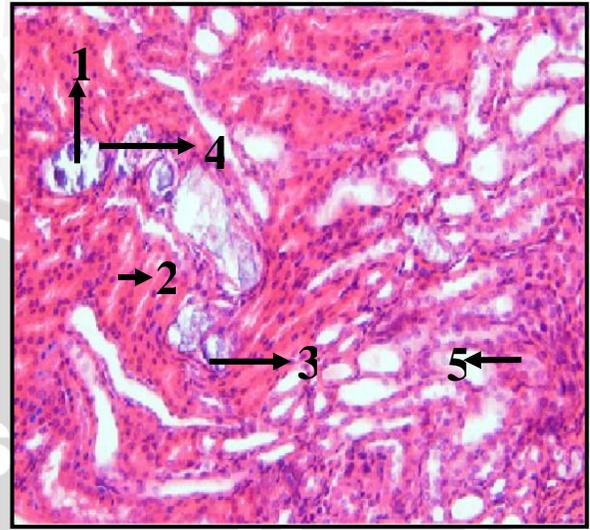


Gambar 34. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

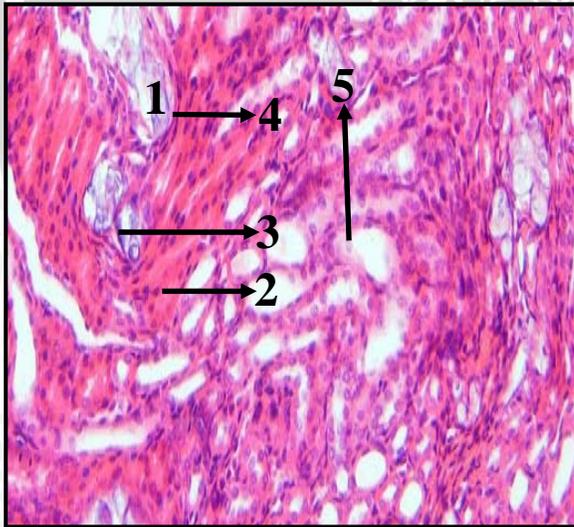
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1. Glomerulus; 2(a). Kapsul Bowman; 3(a). Pancaran meduler; 4(a). Tubula berpilin proksimal; 5(a). Inti; 6(a). Lapisan parietal; 2. Inti sel normal; 3. Timbunan masa kalsium; 4. Kapsul Bowman; 5. Inti sel mengalami karyolisis.



Gambar 35. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)



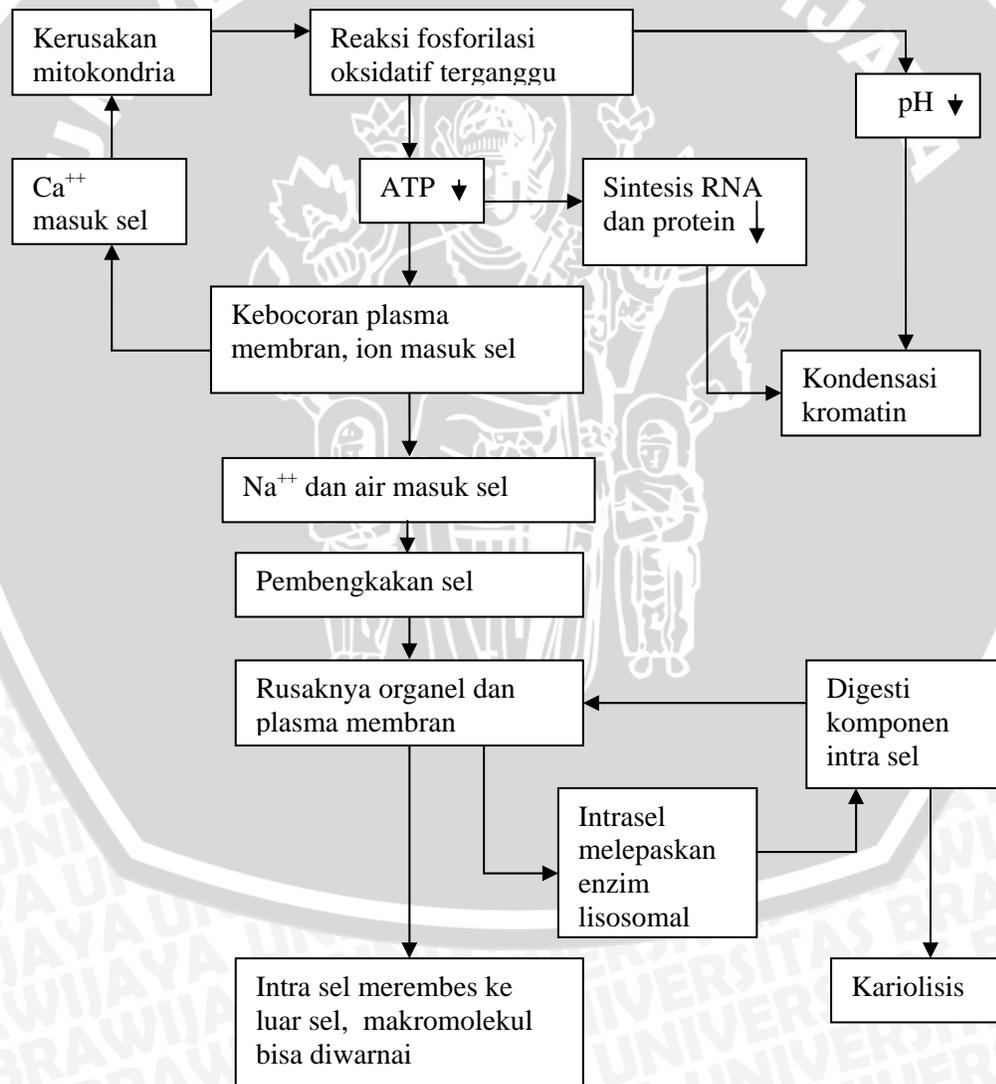
Gambar 36. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)



Gambar 37. Struktur histologis jaringan ginjal tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) (2 bulan) yang mengalami Nekrosis (N,CA)

Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X; 1.Glomerulus 2. Inti sel normal; 3. Timbunan masa kalsium; 4. Kapsul Bowman; 5. Inti sel mengalami karyolisis.

Nekrosis ialah degradasi atau disorganisasi seluler yang ireversibel atau kematian sel jaringan tubuh sebagai akibat pengaruh jejas (ischamia atau anemia lokal, agens fisik, agens kimia, agens biologik, kepekaan yang berlebihan), didalam kehidupan individu, dengan perubahan morfologi yang nyata pada inti sel, tahap-tahap perubahan morfologi pada nekrosis anantara lain: 1. piknosis (penggumpalan kromatin dengan selaput inti berkerut), 2. karyokenesis (berupa pecah selaput inti dengan fragmentasi isinya), 3. karyolisis/kromatolisis/nekrosis (melarut atau mencairnya seluruh inti), (Atmodjo, 1990).



Gambar 38. Diagram mekanisme nekrosis (Bowen and Lockshin, 1981)

N,CA yang terjadi pada ginjal tikus perlakuan 1 (0% : 20%) dan 2 (15%: 5%); (10% : 10%); (5% : 15%); (0% : 20%) berpengaruh terhadap laju pertumbuhan berat badan tikus. Menurut Supariasa, dkk (2001), kecepatan pertumbuhan berat badan dipengaruhi oleh kompleksitas dan ukuran dari organ serta rasio otot dengan lemak tubuh. Pada tikus perlakuan 1 (0% : 20%) dan 2 (15%: 5%); (10% : 10%); (5% : 15%); (0% : 20%) yang ginjalnya mengalami N,CA memiliki berat badan lebih rendah apabila dibandingkan dengan tikus kontrol dan tikus perlakuan 1(15%: 5%); (10% : 10%); (5% : 15%) yang ginjalnya tidak mengalami N,CA, hal tersebut sesuai dengan presentase perbandingan berat organ ginjal dengan berat badan tikus, dimana semakin besar nilai presentase perbandingan berat organ dengan berat badan tikus maka kemungkinan terjadinya N,CA juga semakin besar. Data presentase perbandingan antara berat ginjal dengan berat badan dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Presentase perbandingan antara berat ginjal dengan berat badan

Lama konsumsi (bulan)	jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ ginjal (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Presentase perbandingan berat organ ginjal dan berat badan (%)
1	20 : 0	1,02±0,12	123,10±9,47	0,83 (a)
	15 : 5	0,92±0,10	108,93±14,32	0,84 (a)
	10 : 10	0,93±0,07	108,67±8,27	0,86 (a)
	5 : 15	0,74±0,06	85,37±8,62	0,86 (a)
	0 : 20	0,42±0,13	41,13±9,32	1,02 (b)
2	20 : 0	2,11±0,02	208,30±1,30	1,01 (a)
	15 : 5	1,66±0,07	148,87±9,4	1,12 (a)
	10 : 10	1,97±0,23	160,30±24,82	1,23 (a)
	5 : 15	1,62±0,19	137,57±3,23	1,18 (a)
	0 : 20	0,65±0,18	49,30±10,83	1,31 (b)

Keterangan : ulangan = 3

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

4.3.3 Limpa

Pengukuran berat limpa tikus dilakukan untuk mengetahui berat limpa tikus setelah diberi pakan perlakuan selama 1 dan 2 bulan secara *ad libitum*. Penimbangan limpa tikus dilakukan setelah tikus di bedah dan diambil limpanya lalu dimasukkan dalam timbangan dan dicatat beratnya. Berat limpa tikus diukur pada 1 bulan dan 2 bulan pemeliharaan. Data berat limpa tikus dapat dilihat pada Lampiran 10. dan untuk data rerata berat limpa tikus per 1 dan 2 bulan dapat dilihat pada Tabel 16.

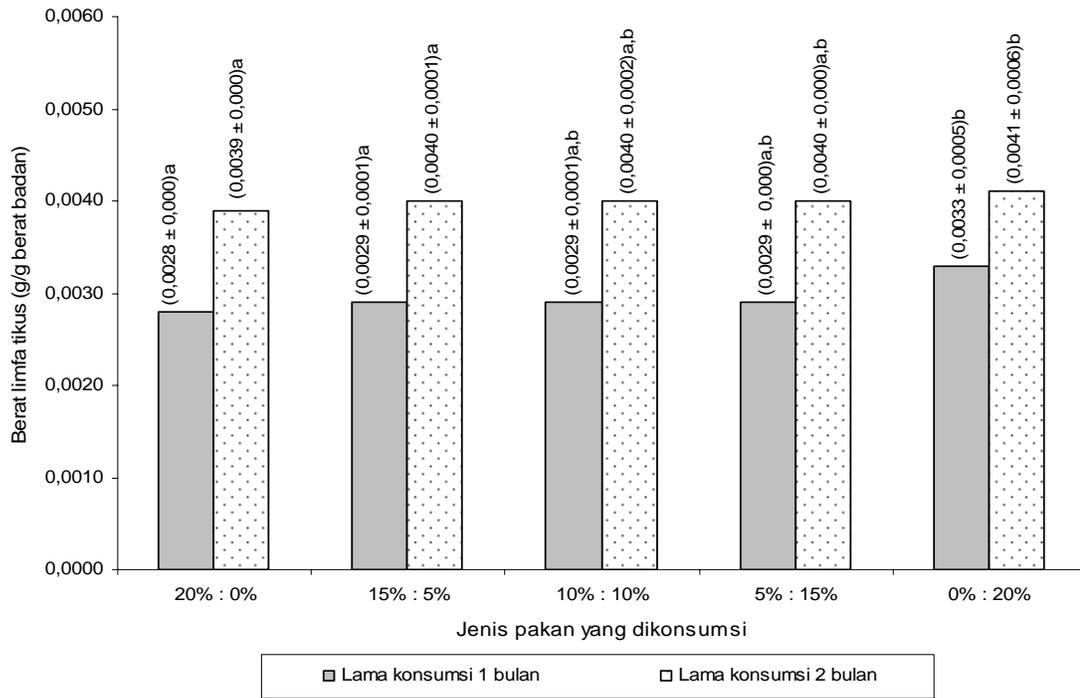
Tabel 16. Berat limpa tikus per 1 dan 2 bulan pemeliharaan (g/g berat badan)

Lama konsumsi	Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ limpa
1 Bulan	20 : 0	0,0028 (a)
	15 : 5	0,0029 (a)
	10 : 10	0,0029 (a,b)
	5 : 15	0,0029 (a,b)
	0 : 20	0,0033 (b)
2. Bulan	20 : 0	0,0039 (a)
	15 : 5	0,0040 (a)
	10 : 10	0,0040 (a,b)
	5 : 15	0,0040 (a,b)
	0 : 20	0,0041 (b)

Berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 16) menunjukkan bahwa pemberian pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap berat limpa tikus ($p < 0,05$), lama konsumsi tidak berpengaruh nyata terhadap berat limpa tikus ($p > 0,05$), dan tidak terjadi interaksi antara konsentrasi formalin pakan dengan lama konsumsi terhadap berat limpa tikus ($p > 0,05$).

Berdasarkan uji BNJ untuk konsentrasi formalin dalam pakan, menunjukkan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin pada pakan maka berat organ limpa tikus semakin besar (konsentrasi 20% berbeda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%) ($p < 0,05$), untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam bentuk histogram pada

Gambar 34. 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).



Gambar 39. Histogram pengaruh konsumsi pakan berformalin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap berat limpa tikus.

Pada penelitian ini juga dilakukan foto jaringan pada organ limpa tikus yang bertujuan untuk mengetahui anatomi jaringan limpa tikus sehingga dapat diketahui pengaruh konsumsi ikan berformalin terhadap organ dalam tikus terutama limpa. Menurut Price dan Wilson (1985), Limpa adalah suatu massa besar sel-sel limfoid dan retikuloendotel yang terletak dalam aliran darah. Sinusoid-sinusoid limpa terisi darah bukan cairan limfe. Struktur limpa memungkinkan interaksi yang erat antara limfosit, makrofag, dan benda-benda yang dibawa aliran darah. Berdasarkan hasil foto jaringan maka dapat dilakukan pemeriksaan histopatologi (anatomi jaringan) untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari mengkonsumsi ikan berformalin dengan konsentrasi

dan lama konsumsi yang berbeda terhadap kondisi anatomi jaringan limpa tikus. Hasil dioagnosa pada limpa tikus dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil diagnosa pada limpa tikus kontrol dan perlakuan

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

KETERANGAN :

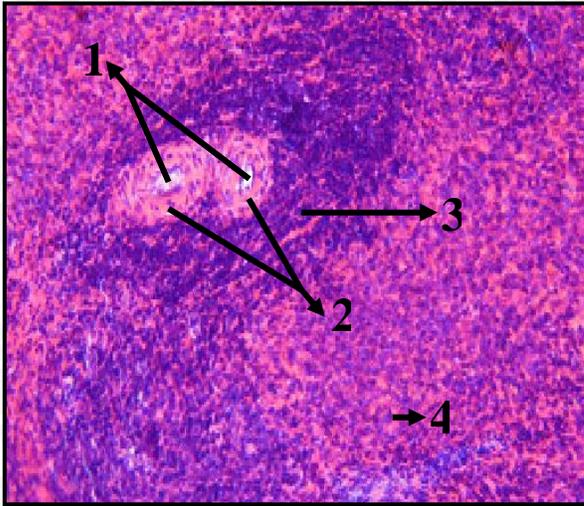
TAP = Tidak ada perubahan spesifik dari jaringan atau organ.

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

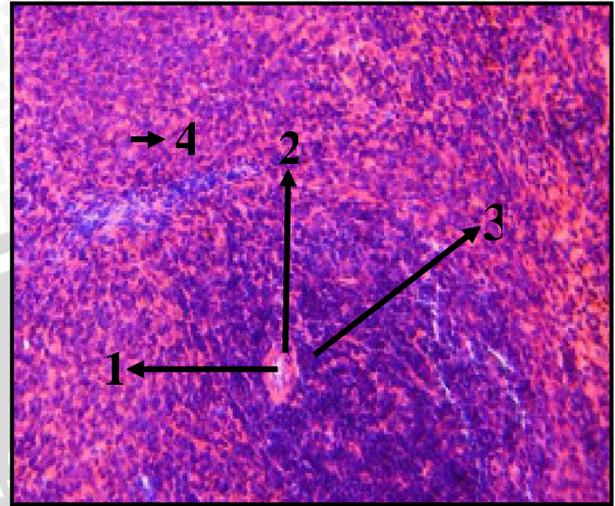
CA = Timbunan massa kalsium yang berwarna kebiruan pada daerah yang mengalami nekrosis.

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

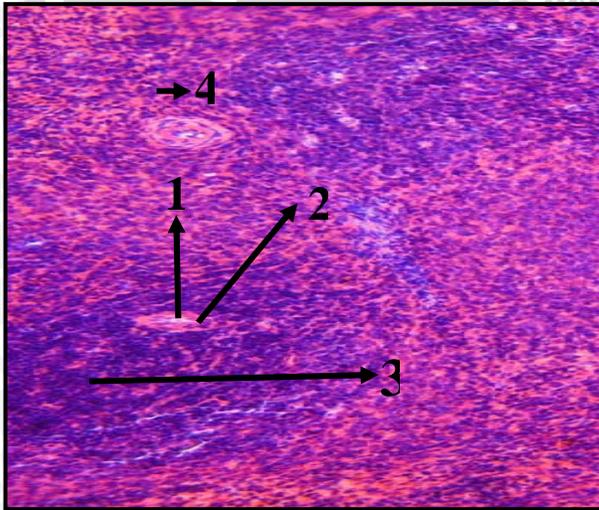
Dari hasil pemeriksaan anatomi jaringan limpa pada Tabel 17, dapat dilihat bahwa pada semua jaringan limpa tikus perlakuan tidak terjadi perubahan atau dapat dikatakan semua jaringan limpa tikus masih normal.



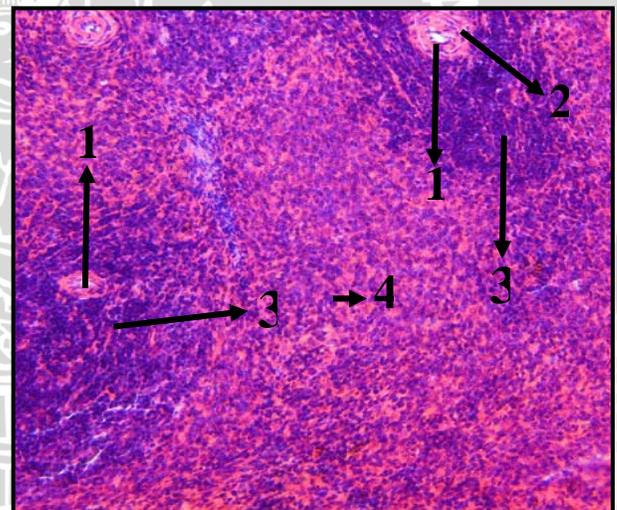
Gambar 40. Struktur histologis jaringan limpa tikus kontrol (normal)



Gambar 41. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) 1 bulan (normal)

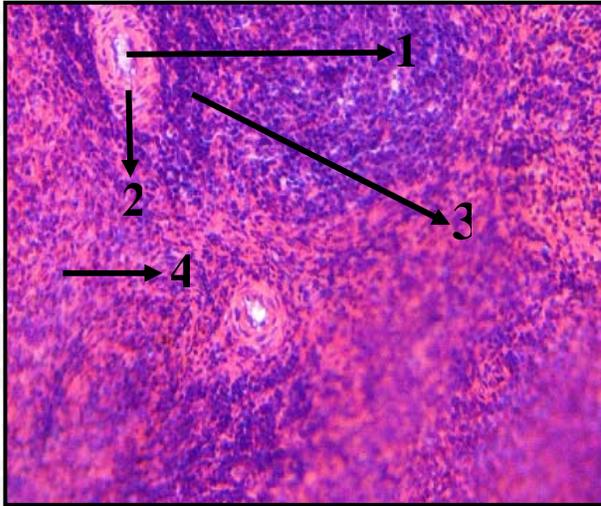


Gambar 42. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) 1 bulan (normal)

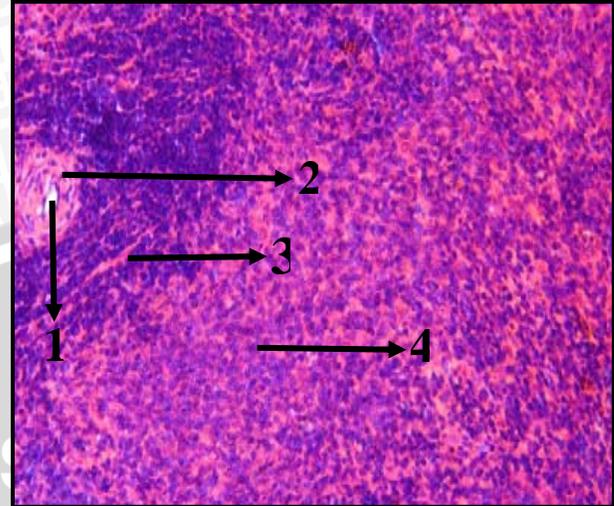


Gambar 43. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) 1 bulan (normal)

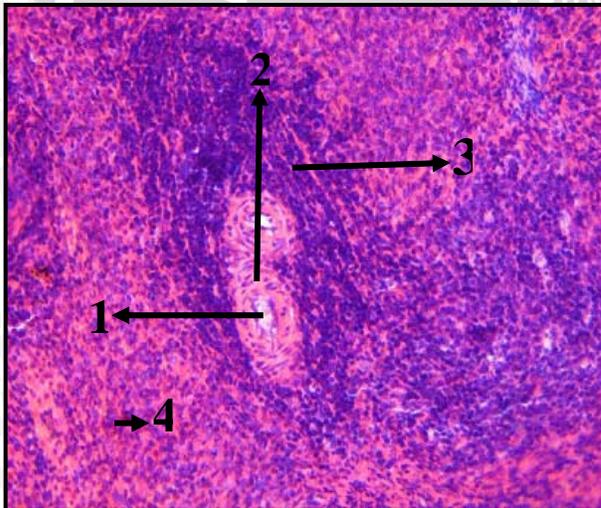
Keterangan: Penampang melintang; pewarnaan HE; pembesaran 400X 1. Pusat pembenihan; 2. Pulpa putih; 3. Pulpa merah; 4. Inti.



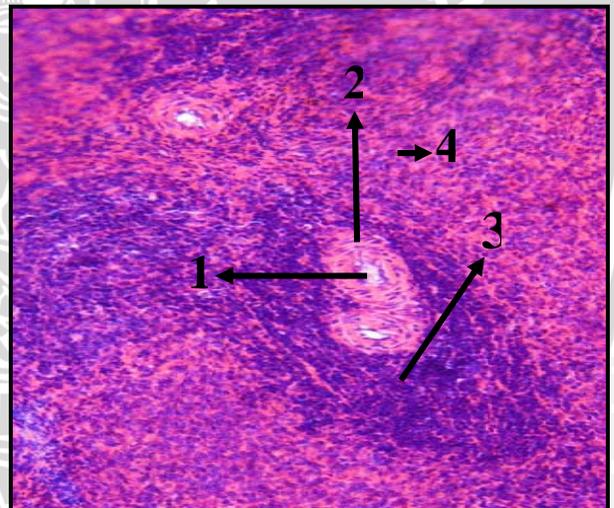
Gambar 44. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) 1 bulan (normal)



Gambar 45. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (15% : 5%) 2 bulan (normal)

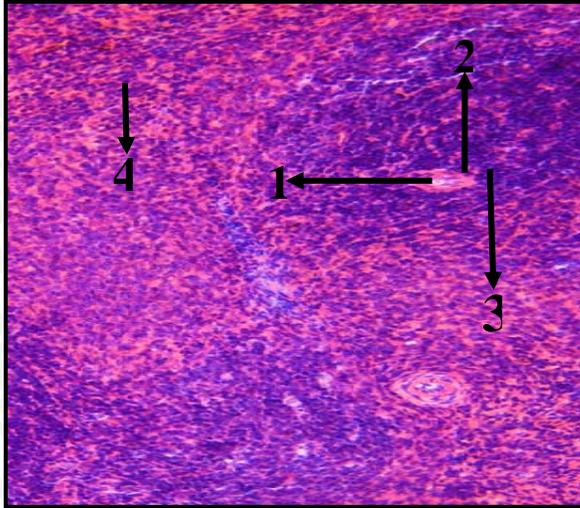


Gambar 46. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (10% : 10%) 2 bulan (normal)



Gambar 47. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (5% : 15%) 2 bulan (normal)

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



Gambar 48. Struktur histologis jaringan limpa tikus perlakuan (Kasein : Tepung ikan berformalin) (0% : 20%) 2 bulan (normal)

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

Tabel 18. Presentase perbandingan antara berat limpa dengan berat badan

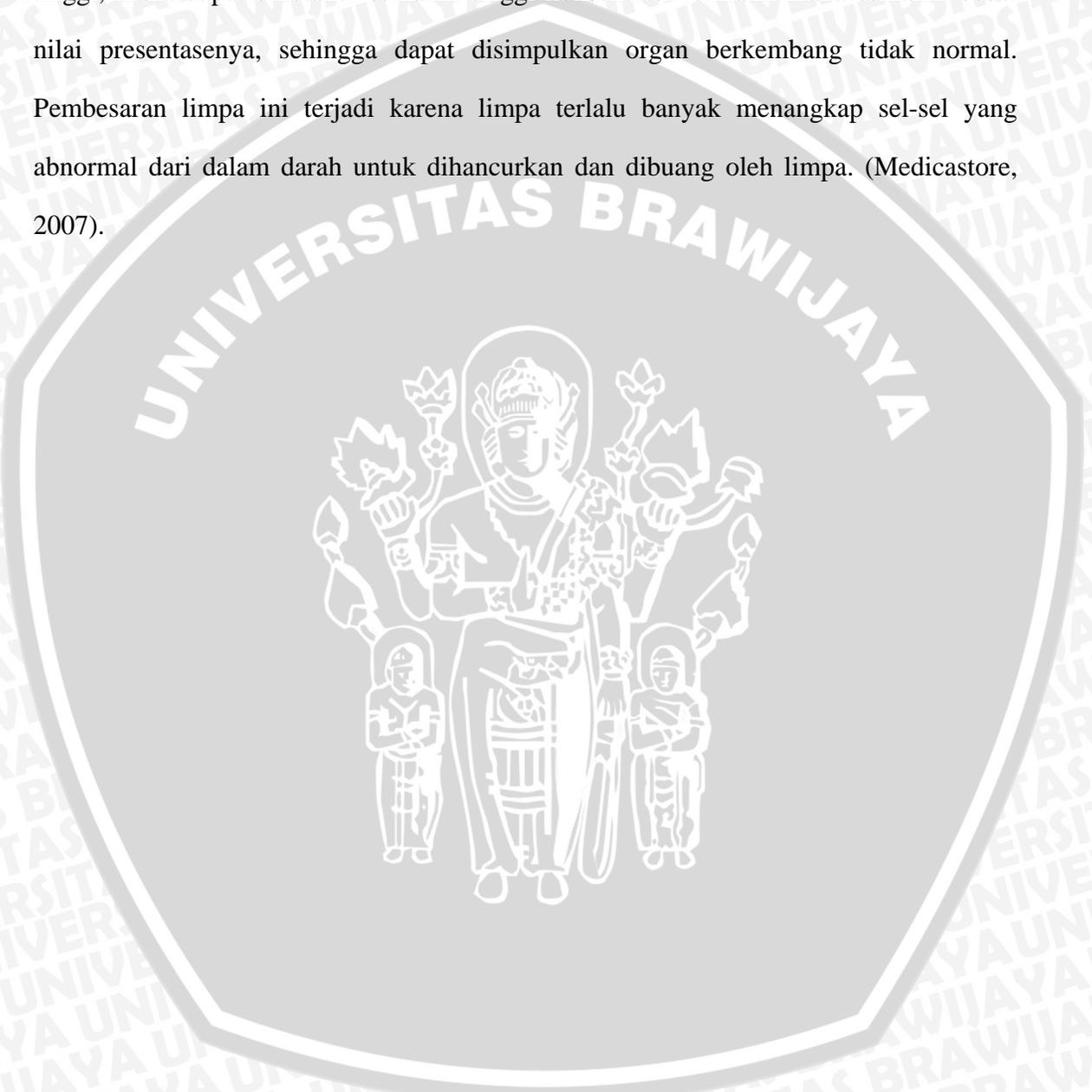
Lama konsumsi (bulan)	Jenis pakan (kasein : tepung ikan berformalin) (%)	Berat organ limpa (g)	Berat badan sebelum dibedah (g)	Presentase perbandingan berat organ limpa dan berat badan (%)
1	20 : 0	0,34±0.03	123,10±9,47	0,28 (a)
	15 : 5	0,31±0.03	108,93±14,32	0,29 (a)
	10 : 10	0,31±0.02	108,67±8,27	0,29 (a,b)
	5 : 15	0,25±0.02	85,37±8,62	0,29 (a,b)
	0 : 20	0,13±0.02	41,13±9,32	0,33 (b)
2	20 : 0	0,82±0,01	208,30±1,30	0,39 (a)
	15 : 5	0,59±0,02	148,87±9,4	0,40 (a)
	10 : 10	0,64±0,07	160,30±24,82	0,40(a,b)
	5 : 15	0,55±0,02	137,57±3,23	0,40 (a,b)
	0 : 20	0,20±0,01	49,30±10,83	0,41 (b)

Keterangan : ulangan = 3

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

Berdasarkan data pada Tabel 18. dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin dalam pakan maka semakin rendah berat organ limpa. Hal ini dikarenakan

pertumbuhan organ mengikuti pertumbuhan berat badan. Tikus perlakuan 1 (0% : 20%) dan 2 (0% : 20%) memiliki berat badan rendah, maka berat organ limpanya pun rendah. sehingga memiliki nilai presentase perbandingan berat organ dengan berat badan yang tinggi, maka dapat diketahui semakin tinggi konsentrasi formalin maka semakin besar nilai presentasinya, sehingga dapat disimpulkan organ berkembang tidak normal. Pembesaran limpa ini terjadi karena limpa 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

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsumsi ikan berformalin pada kisaran residu yang terdapat di pasaran berpengaruh terhadap pertumbuhan dan organ dalam (hati, ginjal, dan limpa) tikus wistar. Semakin tinggi substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin dan waktu konsumsi yang semakin lama maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan kondisi jaringan organ dalam (hati, ginjal, limpa) tikus putih wistar. Tikus yang mengkonsumsi ransum perlakuan berupa substitusi kasein dengan tepung ikan berformalin pada konsentrasi (0% :20%) selama 2 bulan menunjukkan laju pertumbuhan berat badan yang terendah dan memiliki resiko paling tinggi terhadap terjadinya kerusakan pada anatomi jaringan (degenerasi vakuola, nekrosis) pada organ dalam (hati, ginjal, limpa)

Kerusakan pada anatomi jaringan organ dalam tikus wistar disebabkan karena tingginya kandungan formalin pada ransum perlakuan dan dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama sehingga formalin terakumulasi dalam tubuh tikus dan mengakibatkan terjadinya degenerasi vakuola dan nekrosis pada jaringan organ dalam tikus (hati,ginjal).

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsumsi ikan berformalin terhadap organ tubuh tikus Wistar lainnya (usus dan lambung) dan pada penelitian ini masih pada tahap subkronis sehingga masih perlu dilakukanya penelitian lebih lanjut hingga tahap kronis. Lebih baik jangan menggunakan formalin sebagai bahan pengawet makanan, tetapi konsumsi ikan berformalin pada kisaran residu 0,14% selama 1 bulan masih dapat ditolerir oleh tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1999^a. Toxicological Profile For Formaldehyde. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp111.14.00>. 16 Januari 2006. 166-267 pp.
- _____, 2005^a. Ancaman Ikan Asin, Mie Basah, Baso, Tahu. <http://www.blog.boleh.com/s/sn/snhadi/?pv43092>. Diales 30 Maret 2006. 1-2 pp.
- _____, 2005^b. Kompas: Kami Terpaksa Menggunakan Formalin. <http://www.kompas.com/Kesehatan/news/0512/29/072208.htm>. Diakes 29 Januari 2006. 1-2 pp
- _____. 2005^c. Mengenal Formalin. <http://www.suarapembaharuan.com>. Diakses 20 Juli 2006. 2 hal.
- _____, 2005^d. Suara Pembaharuan Daily : Mengenal Formalin. <http://www.suarapembaharuan.com/news/2005/12/30/utama/ut04.html>. Diales 5 Januari 2006. 1-2 pp.
- _____. 2005^e. Pengembangan Limbah Sebagai Bahan Baku Sekunder Untuk Pakan dan Pupuk. <http://www.ampl.or.id.mht>. Diakses 21 Agustus 2006. 1 hal.
- _____. 2005^f. Kompas : Kami Terpaksa Menggunakan Formalin. <http://www.kompas.com/Kesehatan/news/0512/29/072208.htm>. Diakses 20 Juli 2006. 1 hal.
- _____. 2006^a. Awas Bahaya Formalin. <http://www.suara-merdeka.co.id>. Diakses 20 Juli 2006. 3 hal.
- _____, 2006^b. Tahu, Makanan Favorit Yang Keamanannya Perlu Diwaspadai. <http://www.indosiar.com/welcome/forum/topik.asp?>. Diales 23 Januari 2006. 1 pp
- _____, 2006^c. Waspada Bahan Kimia Lain Dalam Makanan. <http://www.kompas.co.id>. Jakarta. Diales 6 Januari 2006. 1 pp.
- _____, 2006^d. Bahaya Dibalik Gurihnya Ikan Asin. <http://www.indosiar.com/wellcome/forum/topik.asp?>. Diales 23 Januari 2006. 1 pp.
- _____. 2006^e. Formaldehyde and Cancer : Questions and Answers. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/risk/formaldehyde.14:37>. Diakses 6 Agustus 2006. 1 hal.

- Anonymous, 2006^g. Health. <http://www.Bisnis Indonesia.com>.
- Afrianto, E dan Liviawaty. 1989. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisius. Yogyakarta.105-109 hal.
- Astuti, M. 1986. Uji Gizi I. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 57 hal.
- Atmodjo,A.P. 1990. Album Patologi Anatomi. Universitas Airlangga. Surabaya. 54 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.
- Barbour, C and Packers. 1962. Determination of Free Formaldehyde. Pasific Fisheries Technologist. Washington.
- Bowen I.D and R A Lockshin. 1981. Cell Death in Biology and Pahtology. Britis Library in Cataloguing Data. London. Chapman and Hall. Hlm 9-29.
- Bolt, H.M. 1987. Experimental Toxicology of Formaldehyde. J Cancer Res Clin Oncol 113. 305-309 pp.
- Casanova Schimitz M, Raymond MD, Heck H d'A. 1984. Oxidation Of Formaldehyde Ald Acetaldehyde By NAD Dependent Dehydrogenases In Rat Nasal Mucosal Homogenates. Biochem Pharmacol 33:1137-1142.
- Donatus. I. A. 2001. Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 7-103 hal.
- Develander, G and J.A Ramaley. 1980. Dasar-dasar Histologi. Edisi Kedelapan. Alih Bahasa : Dr. Ir. Wisnu Gunarso. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hal 287.
- Djojopranoto, M. 1963. Buku Peladjaran Patologi. Djilid 1. Dasar-dasar Patologi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. 183 hal.
- Damjanov 2000. Histopatologi. Alih Bahasa B U Pendit. (Ed) M Himawan. Jakarta. Widya Medika. Hlm 1-20.
- Elvandari. R. 2006. Pengaruh Cara dan Konsentrasi Perendaman Larutan Formalin Dalam Pembuatan Ikan Asin Kuniran (*Upeneus moluccensis*) Terhadap Residunya Dalam Produk Setelah Digoreng. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak Diterbitkan. 50 hal .
- Effendie, M. I. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta. 163 hal.

- Hadiwiyoto, S.1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan. Jilid 1. Liberty. Yogyakarta.275 hal.
- Heck H, Chin T.Y., and Schmitz M.C. 1993. Distribution of [^{14}C] Formaldehyde in Rats Alter Inhalation Exposure. In: Gibson JE, ed. Formaldehyde Toxicity. Washington, DC: Hemisphere Publishing Corporation, 26-37 hal.
- Instanref. 2006. Chemical, Toxicity, Safety and Enviromental Analysis Information for Formaldehyde. <http://instrantref.com/formald.htm>. Diakses tanggal 4 Februari 2006 pukul 11:43. 2pp.
- Koeman J.H. 1987. Pengantar Umum Toksikologi. Alih Bahasa : R.H. Yudono. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 84 hal.
- 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.
- Kiernan, J.A. 2000. Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde and Glutaraldehyde : What They are annd What They Do. <http://publish.uwo.cankiernan/formglut.htm>. Diakses tanggal 21 Juni 2006 pukul 08.45. 1-2 pp
- Murniyati..S.dan Sunarman. 2000. Pendinginan Pembekuan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta.211-213 hal.
- Maulany, R. 2006. Bahaya Formalin dalam Makanan. <http://www.ranesi.nl/tema/pengetahuan/kesehatan050926>. Diakses tanggal 14 September 2006 pukul 12:32. 1 hal.
- Medicastore. 2007. Pembesaran Limpa. http://www.medicastore.com/med/detail_pyk.php?=&iddtl=163&idktg=12&idob at=&UID=20070417074058124.81.53.2.htm. Diakses tanggal 17 April 2007 pukul 07:42. 3 hal.
- Nasional Research Council (NRC). 1978. Nutrient Requirements of Sciences. Washington DC.
- Natzir, M. 1998. Metodologi Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 622 hal.
- Nurachman, Z. 2006. Formalin. Gatra 21 Januari 2006. 2 hal.
- Newzeland, 2005. Komposisi Protein Produk Calsium Caseinat. Jakarta.
- Price, S.A dan L.M Wilson.1982. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Bagian 2. Edisi 2. Alih Bahasa : Adji Dharma. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 486 hal

- _____.1985. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Bagian 1. Edisi 2. Alih Bahasa : Adji Dharma. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 645 hal
- Rismana, E. 2004. Mengenal Formalin, Bahaya dan Cara Mengetahuinya. <http://www.cakrawal.co.id.pikiranrakyat-iptek.htm>. Diales Tanggal 6 Januari 2006. 1-2 pp
- Rasyid, T. 2006. Mengenal Formalin, Bahaya dan Cara Mengetahuinya. <http://www.nail.archive.com.rantaunet.org/msg.13550.htm>. Diakses 6 Agustus 2006. 4 hal.
- Susanto.H.S. 1983. Metode Pewarnaan. Bharatara Karya Aksara. Jakarta. 394 hal.
- Sitompul, S. M dan Bambang G. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. UGM Press. Yogyakarta.72 hal.
- Sudarmadji. S, B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta. 160 hal.
- Suartama, K. 2001. Teknik Pengalengan Ikan Lemuru. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.4-6 hal.
- Supariasa, N. I. Bakri, B. Fajar I. 2001. Penilaian Status Gizi. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 332 hal.
- Siswanto A. 2002. Toksikologi Industri. Disajikan dalam pelatihan Hiperkas dan Keselamatan Kerja Bagi Dokter Perusahaan. Departemen Tenaga Kerja. 16-33 hal.
- Small, N.E. 2004. Using Activities for Reaction Kinetics. <http://chemical.good.uk/people/jack/Projects/proj2003.net/small.LAP.doc>. Diakses pada tanggal 18 Juli 2006 pukul 10:11. 7 pp.
- Wasito. 1991/1992. Hewan Model Dalam Uji Gizi. Pusat Antar Universitas. Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 175 hal.
- Winarno, F.G. 1993. Formalin dan Boraks Dalam Tahu, Mie dan Bakso. Dimuat pada Harian Suara Pembaharuan. Edisi Mei 1993. 293-294 pp
- 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.

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

Yuniati, H. 2004. Analisis Zat Gizi Bahan Makanan Untuk Melengkapi Daftar Komposisi Bahan Makanan. Kumpulan Laporan Penelitian. http://www.p3gizi.litbang.depkes.go.id/Abstrak-lapen_2004.htm. Diakses 21 Agustus 2006. 1 hal.

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

