

**STUDI KERUSAKAN GINJAL ANAK MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN (F1)
AKIBAT TERPAPAR 0,2 ppm dan 0,5 ppm IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
BERFORMALIN SELAMA 1 BULAN**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
MAHDI
NIM. 0310830063



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2008



RINGKASAN

MAHDI. Studi Kerusakan Ginjal Anak Mencit (*Mus musculus*) Jantan (F1) Akibat Terpapar 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Berformalin Selama 1 Bulan (dibawah bimbingan **Dr. Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS** dan **Ir. KARTINI ZAELANI, MS**)

Ikan yang ditambahkan formalin akan mempunyai daya simpan lebih lama. Hal ini disebabkan oleh reaksi formaldehid dengan protein, formaldehid bersifat mengeraskan jaringan protein sehingga aktivitas mikrobiologis terhenti. Akan tetapi fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme dalam tubuh akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan ginjal mencit F1 yang terpapar ikan berformalin selama 1 bulan memperlihatkan perubahan makroskopis ginjal yaitu berat ginjal mengalami kenaikan, begitupula dengan warna ginjal menjadi cokelat pucat. Ginjal yang rusak akibat formalin, secara mikroskopis akan terjadi kelainan pada sel glomerulusnya. Secara mikroskopis, kerusakan ginjal akibat formalin juga terlihat pada sel tubulusnya yang mengalami penggembungan dan beberapa selnya mengalami lisis. Gejala mikroskopis yang terjadi mengindikasikan bahwa pada sel-sel penyusun ginjal mulai mengalami nekrosis. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat diduga pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin per oral selama 1 bulan berpengaruh terhadap kerusakan secara mikroskopis ginjal anak (F1) mencit jantan.

Tujuan penelitian ini untuk memberikan gambaran mengenai kerusakan mikroskopis ginjal anak (F1) mencit dengan paparan berulang ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm secara oral selama 1 bulan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 15 September 2007 - 28 Desember 2007.

Metode penelitian yang digunakan bersifat eksperimen. Rancangan percobaan yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisa ragam yang dipakai adalah analisa menggunakan ANNOVA. Uji yang dilakukan apabila terdapat perbedaan adalah uji Duncan dan uji LSD.

Dari hasil penelitian didapat bahwa pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan ginjal anak mencit (*Mus musculus*). Kerusakan yang terjadi pada ginjal yaitu nekrosis pada tubulus dan pelebaran saluran kemih pada glomerulus. Kerusakan glomerulus mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis* dan kerusakan yang terjadi pada tubulus mengarah pada *acute tubular necrosis*. Kerusakan glomerulus berpengaruh pada kadar kreatinin. Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan terjadi kerusakan sistim filtrasi glomerulus.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Ilahi Robbi atas curahan nikmat dan karunia-Nya serta shalawat dan salam semoga tetap terlimpah pada Rasulullah Muhammad beserta keluarga dan para sahabatnya atas terselesaikannya laporan skripsi ini. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu prasyarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan saran, dorongan, kesabaran dan bantuannya saat membimbing dalam penyusunan laporan skripsi.
2. Ir. Kartini Zaelani, MS selaku dosen pembimbing II yang memberikan inspirasi, arahan dan bimbingannya dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan ini.
3. Kedua orang tuaku atas curahan kasih sayang, kesabaran mendidiku, support dan perhatiannya baik secara moril dan materiil, dan tak lupa keluarga besarku.
4. Saudaraku dan Sahabat-sahabatku THP '03 yang tersayang atas kasih sayang dan perhatiannya.
5. Team Mencit '02, '03, '04 dan semua pihak yang membantu, sehingga terselesaikannya laporan skripsi.

Kritik dan saran diharapkan karena penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan skripsi masih jauh dari sempurna. Penulis berharap semoga penulisan laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan bahan referensi bagi penelitian lebih lanjut. Semoga segala ikhtiyar saya diridhoi oleh Allah S. W. T. Amin ya Robbal 'alamin.

Malang, Desember 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Hipotesa	6
1.6 Waktu dan Tempat	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Ginjal	7
2.1.1 Struktur dan Fungsi Ginjal	7
2.1.2 Mekanisme Pencucian Darah Oleh Ginjal	9
2.1.3 Bagian-Bagian dari Nefron	11
2.1.4 Gangguan Fungsi Ginjal	12
2.2 Formaldehid	14
2.2.1 Pengertian Formalin dan Sifatnya	14
2.2.2 Ikan Berformalin	15
2.2.3 Metabolisme Formaldehid Dalam Tubuh	16
2.2.4 Penurunan Toksikn Dari Unduk Ke F1	20
2.3 Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sebagai Hewan Coba.....	21
2.4 Ikan Nila	24
3. MATERI dan METODE	25
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.2 Metode Penelitian	25
3.3 Rancangan Percobaan	26
3.4 Prosedur Kerja	26
3.4.1 Preparasi Hewan Uji	26
3.4.2 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan Berformalin	27
3.4.3 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Formalin	27
3.4.4 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan	28
3.4.5 Perlakuan Induksi Oral Ikan Berformalin Pada Mencit	28
3.4.6 Pembuatan Spesimen	28

3.4.7 Prosedur Pewarnaan <i>Haemotilin-Eosin</i> (He)	29
3.4.8 Prosedur Pengamatan	29
3.5 Gambaran Umum Keadaan Induk Mencit	30
4. HASIL dan PEMBAHASAN	32
4.1 Pengamatan Mikroskopis	32
4.1.1 Glomerulus	32
4.1.2 Tubulus	34
4.2 Uji Kreatinin	38
4.3 Analisa Turunan	40
5. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48



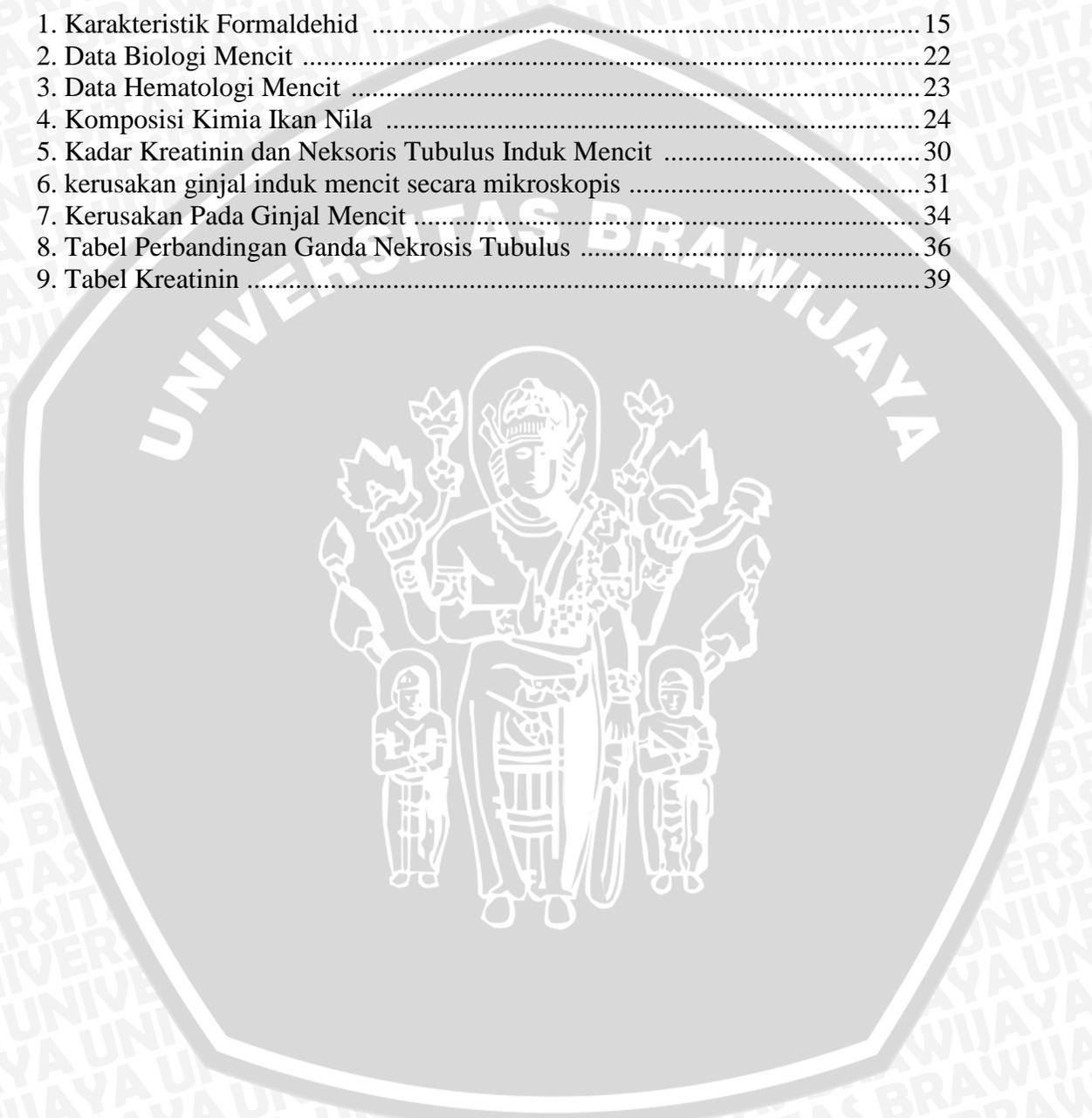
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Ginjal	9
2. Sistim Nefron	12
3. Histologi Ginjal Secara Mikroskopis	14
4. Metabolisme Formaldehid Dalam Tubuh	18
5. Glomerulus Normal	33
6. Pelebaran Saluran Kemih	33
7. Nekrosis Sel Tubulus	35



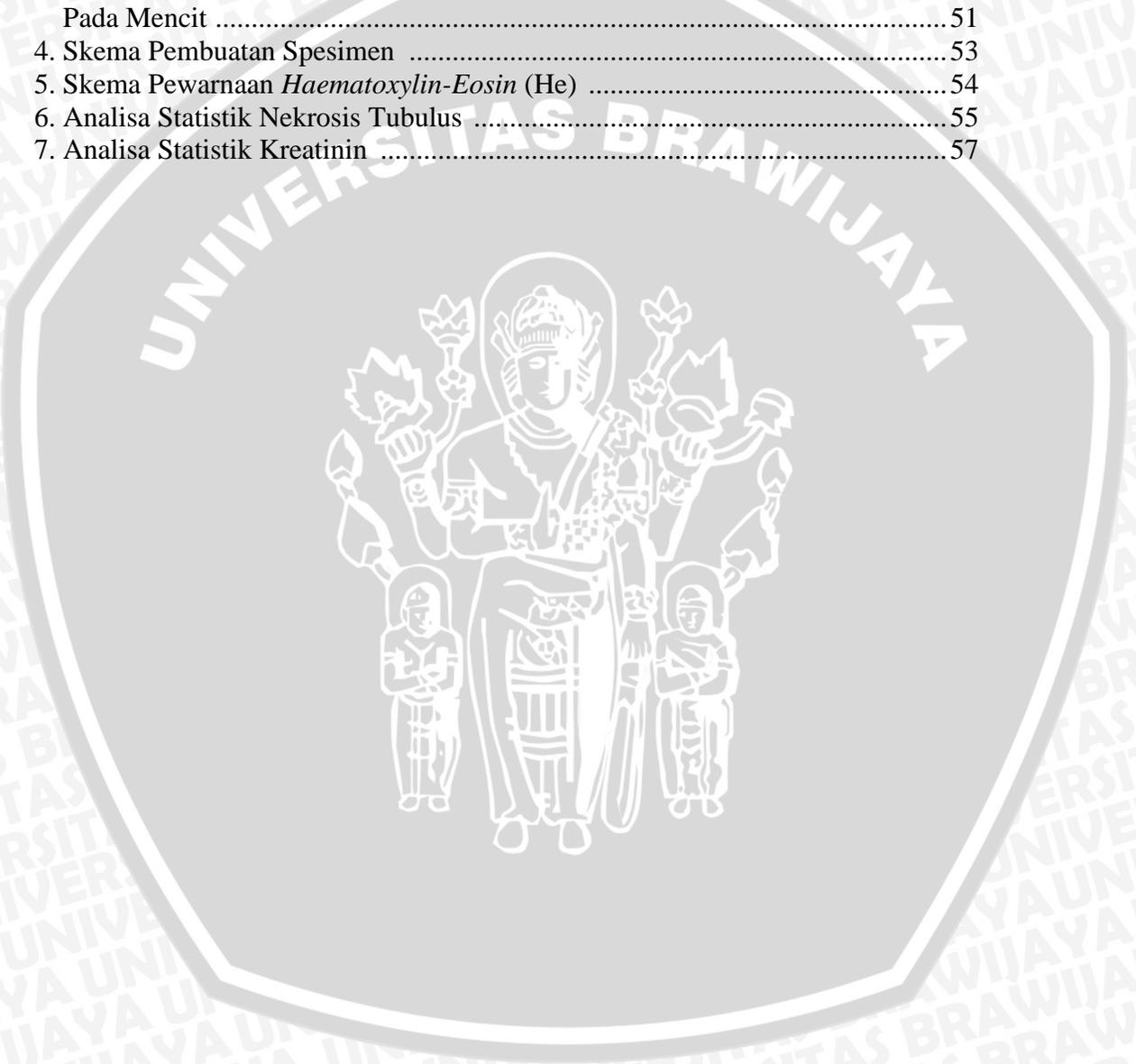
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik Formaldehid	15
2. Data Biologi Mencit	22
3. Data Hematologi Mencit	23
4. Komposisi Kimia Ikan Nila	24
5. Kadar Kreatinin dan Nekrosis Tubulus Induk Mencit	30
6. kerusakan ginjal induk mencit secara mikroskopis	31
7. Kerusakan Pada Ginjal Mencit	34
8. Tabel Perbandingan Ganda Nekrosis Tubulus	36
9. Tabel Kreatinin	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Pembuatan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan Nila Berformalin	48
2. Prosedur Pembuatan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan	50
3. Perhitungan Dosis Ikan Berformalin dan Volume Cekok Yang Diberikan Pada Mencit	51
4. Skema Pembuatan Spesimen	53
5. Skema Pewarnaan <i>Haematoxylin-Eosin</i> (He)	54
6. Analisa Statistik Nekrosis Tubulus	55
7. Analisa Statistik Kreatinin	57



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan adalah bahan pangan yang mudah busuk (*perishable food*) dimana untuk menjaga kesegarannya diperlukan suatu penanganan yang baik. Ikan yang tertangkap dan mati, jika dibiarkan begitu saja esok harinya sudah tidak begitu enak, dan 2-3 hari kemudian sudah tidak dapat dikonsumsi sama sekali karena busuk (Murniyati dan Sunarman, 2000). Salah satu penyebab kebusukan adalah bakteri. Oleh karena itu ada penyalahgunaan formalin pada ikan. Bakteri yang ada dipermukaan tubuh ikan dapat terbunuh sehingga produk olahan ikan dapat menjadi lebih panjang daya awetnya namun tidak memperhatikan efek dari formalin yang tertelan. Ikan yang mengandung formalin apabila dikonsumsi dalam jangka panjang akan memberikan dampak negatif dan membahayakan bagi kesehatan tubuh (Nurrachman, 2005).

Sejumlah produk perikanan seperti ikan segar mengandung formalin sebagai bahan pengawet. Produk pangan berformalin tersebut dijual di sejumlah pasar dan supermarket. Adanya bahan aditif yang berfungsi sebagai pengawet berbahaya dalam makanan ini sebenarnya sudah lama menjadi rahasia umum (Judarwanto, 2006). Menurut BPPOM Surabaya, ikan segar yang mengandung formalin antara lain ikan dorang, ikan kuniran, ikan nila, dan cumi-cumi (Anonymous, 2005^a). Formalin sangat mudah larut dalam air. Jika dicampurkan dengan ikan misalnya, formalin dengan mudah terserap oleh daging ikan. Selanjutnya, formalin akan mengeluarkan (*dehydrating*) isi sel daging ikan, akibatnya bentuk ikan mampu bertahan dalam waktu yang lama (Wartamedika, 2007). Ikan berformalin tersebut jika dikonsumsi dan masuk ke tubuh manusia, maka formalin cepat teroksidasi membentuk asam format yang selanjutnya

akan menyebabkan keracunan terutama pada ginjal. Formaldehid akan bereaksi dengan DNA atau RNA sehingga data informasi genetik menjadi kacau. Akibatnya, penyakit-penyakit genetik baru mungkin akan muncul. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen. Bila sisi aktif dari protein-protein vital dalam tubuh dimatikan oleh formaldehid, maka molekul-molekul itu akan kehilangan fungsi dalam metabolisme. Akibatnya, kegiatan sel akan terhenti. Sifat merusak ini terletak pada gugus CO atau aldehyd. Gugus ini bereaksi dengan gugus amina, pada protein (Nurachman, 2005). Efek yang timbul apabila formalin tercampur dalam makanan dengan dosis rendah yaitu akan menyebabkan keracunan. Penggunaan formalin dalam jangka panjang dapat berakibat buruk pada organ tubuh, seperti kerusakan hati dan ginjal (Wikipedia, 2006). Salah satu bahan toksik yang dibersihkan oleh ginjal dari plasma darah adalah formalin, formalin yang difiltrasi oleh ginjal akan dibuang melalui urin (Conaway *et al.* 1996 dalam Schulte *et al.*, 2006). Ginjal sebagai organ yang bertugas memfiltrasi zat toksik dapat rusak. Kerusakan ginjal dapat berupa nekrosis pada sel penyusun ginjal.

Ginjal adalah organ yang memiliki kemampuan yang luar biasa, diantaranya sebagai penyaring zat-zat yang telah tidak terpakai (zat buangan atau sampah) yang merupakan sisa metabolisme tubuh (Anonymous, 2008^a). Fungsi utama ginjal adalah membersihkan darah dari sisa-sisa hasil metabolisme tubuh yang berada di dalam darah dengan cara menyaringnya. Jika kedua ginjal gagal menjalankan fungsinya, sisa-sisa hasil metabolisme yang diproduksi oleh sel normal akan kembali masuk ke dalam darah (Parni, 2008).

Ginjal yang rusak karena formalin, secara makroskopis akan terlihat mengembung, berwarna merah kehitaman, terjadi pendarahan dan lebih keras. Ginjal

yang rusak akibat formalin, secara mikroskopis akan terjadi kelainan pada sel glomerulusnya. Secara mikroskopis, kerusakan ginjal akibat formalin juga terlihat pada sel tubulusnya yang mengalami pembengkakan dan beberapa selnya mengalami lisis. Gejala mikroskopis yang terjadi mengindikasikan bahwa pada sel-sel penyusun ginjal mulai mengalami nekrosis (Fishcer, 2008). Nekrosis yang terjadi pada sel diawali dengan fase iskemia. Fase iskemia mengakibatkan terjadinya depleksi ATP. Fase depleksi ATP akan mengganggu sistem kanal ion yang terdapat pada sel. Gangguan kanal ion mengakibatkan air dari luar sel masuk dan mengakibatkan terjadinya edema pada sel. Sel yang edema akan lisis apabila membran sel tidak dapat mempertahankan bentuknya (Baraas, 2006).

Hasil penelitian Laili (2007) ginjal mencit F1 yang terpapar ikan berformalin selama 1 bulan memperlihatkan perubahan makroskopis ginjal yaitu berat ginjal mengalami kenaikan, begitupula dengan warna ginjal menjadi cokelat pucat, sedangkan untuk kadar kreatinin masih berada dalam batas normal. Oleh karena itu diperlukan kajian lebih lanjut mengenai efek toksik secara sub kronis pada turunan pertama (F1) untuk mengetahui sejauh mana kerusakan ginjal mencit secara mikroskopis. Ikan nila dapat dipakai sebagai bahan toksikan ikan berformalin. Paparan 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin secara oral selama satu bulan dapat dipakai sebagai pendekatan untuk menggambarkan efek toksik paparan berulang ikan berformalin pada kerusakan dari organ ginjal secara mikroskopis. Mencit yang digunakan adalah mencit jantan turunan pertama dari induk yang telah terpapar 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin selama 1 bulan.

1.2 Rumusan Masalah

Ikan yang ditambahkan formalin akan mempunyai daya simpan lebih lama. Hal ini disebabkan oleh reaksi formaldehid dengan protein, formaldehid bersifat mengeraskan jaringan protein sehingga aktivitas mikrobiologis terhenti. Akan tetapi fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme dalam tubuh akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggungjawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen (Anonymous, 2005^b).

Berdasarkan penelitian sebelumnya ginjal mencit F1 yang terpapar ikan berformalin selama 1 bulan memperlihatkan perubahan makroskopis ginjal yaitu berat ginjal mengalami kenaikan, begitupula dengan warna ginjal menjadi cokelat pucat, sedangkan untuk kadar kreatinin masih berada dalam batas normal. Menurut Winaya dan Suarsana (2005), menghitamnya hati mengindikasikan terjadinya kerusakan hati dan ginjal secara makroskopis. Akan tetapi pengamatan secara makroskopis tersebut belum dapat menggambarkan secara jelas terjadinya kerusakan secara mikroskopis pada hati dan ginjal. Ginjal yang rusak akibat formalin, secara mikroskopis akan terjadi kelainan pada sel glomerulusnya. Secara mikroskopis, kerusakan ginjal akibat formalin juga terlihat pada sel tubulusnya yang mengalami penggembungan dan beberapa selnya mengalami lisis. Gejala mikroskopis yang terjadi mengindikasikan bahwa pada sel-sel penyusun ginjal mulai mengalami nekrosis (Fishcer, 2008).

Nekrosis merupakan suatu fase kematian sel yang diakibatkan oleh suatu *cytotoxic* (senyawa yang dapat membunuh sel) (Studzinski, 1995). Toksikan seperti

formalin dapat mengakibatkan terjadinya iskemia. iskemia merupakan fase kurangnya suplai oksigen ke dalam jaringan yang diakibatkan terganggunya sistim pengangkutan oksigen oleh darah. Iskemia dapat merusak organ dalam seperti ginjal yang sangat rentan terhadap iskemia (Baraas, 2006).

Dari uraian diatas, paparan 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin pada F1 secara sub kronis belum diketahui secara pasti sejauh mana kerusakan ginjal mencit secara mikroskopis sehingga timbul suatu permasalahan apakah paparan berulang 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin peroral selama 1 bulan berpengaruh terhadap kerusakan secara mikroskopis ginjal anak (F1) mencit jantan.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh paparan berulang ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin per oral selama 1 bulan terhadap kerusakan secara mikroskopis ginjal anak (F1) mencit jantan.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran ginjal anak (F1) mencit dengan paparan berulang ikan nila berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin per oral selama 1 bulan terhadap kerusakan secara mikroskopis ginjal anak (F1) mencit jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Bagi peneliti untuk mengetahui pengaruh pemberian ikan nila berformalin secara oral terhadap kerusakan secara mikroskopis pada ginjal anak (F1) mencit jantan yang terpapar selama 1 bulan.

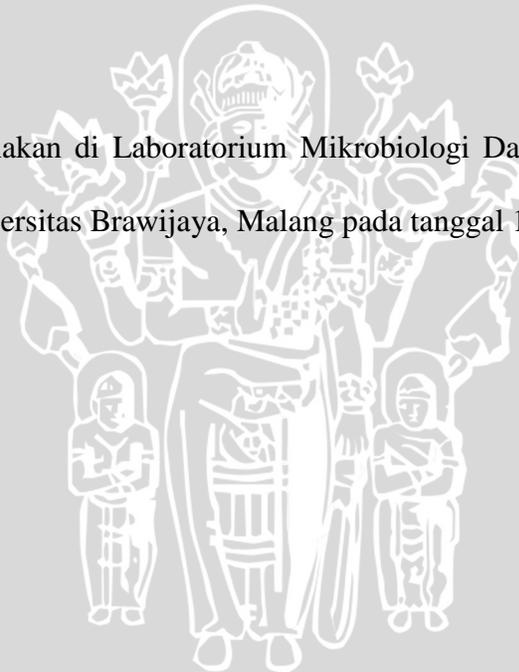
2. Bagi masyarakat, institusi dan lembaga-lembaga pemerintahan sebagai bahan informasi mengenai efek toksikologi ikan berformalin secara sub kronis.
3. Bagi pelaku industri sebagai dasar pertimbangan untuk menolak formalin sebagai bahan pengawet ikan.

1.5 Hipotesis

Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan nila berformalin per oral selama 1 bulan berpengaruh terhadap kerusakan secara mikroskopis ginjal anak (F1) mencit jantan.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 15 September 2007 - 28 Desember 2007.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Struktur dan Fungsi Ginjal

Ginjal merupakan organ penting dalam tubuh dan berfungsi untuk membuang sampah metabolisme dan racun tubuh dalam bentuk urin/air seni, yang kemudian dikeluarkan dari tubuh (Anonymous, 2008^a). Bentuk ginjal seperti kacang merah, jumlahnya sepasang dan terletak di dorsal kiri dan kanan tulang belakang di daerah pinggang. Berat ginjal diperkirakan 0,5% dari berat badan, dan panjangnya ± 10 cm. Setiap menit 20-25% darah dipompa oleh jantung yang mengalir menuju ginjal (Fendy, 2007).

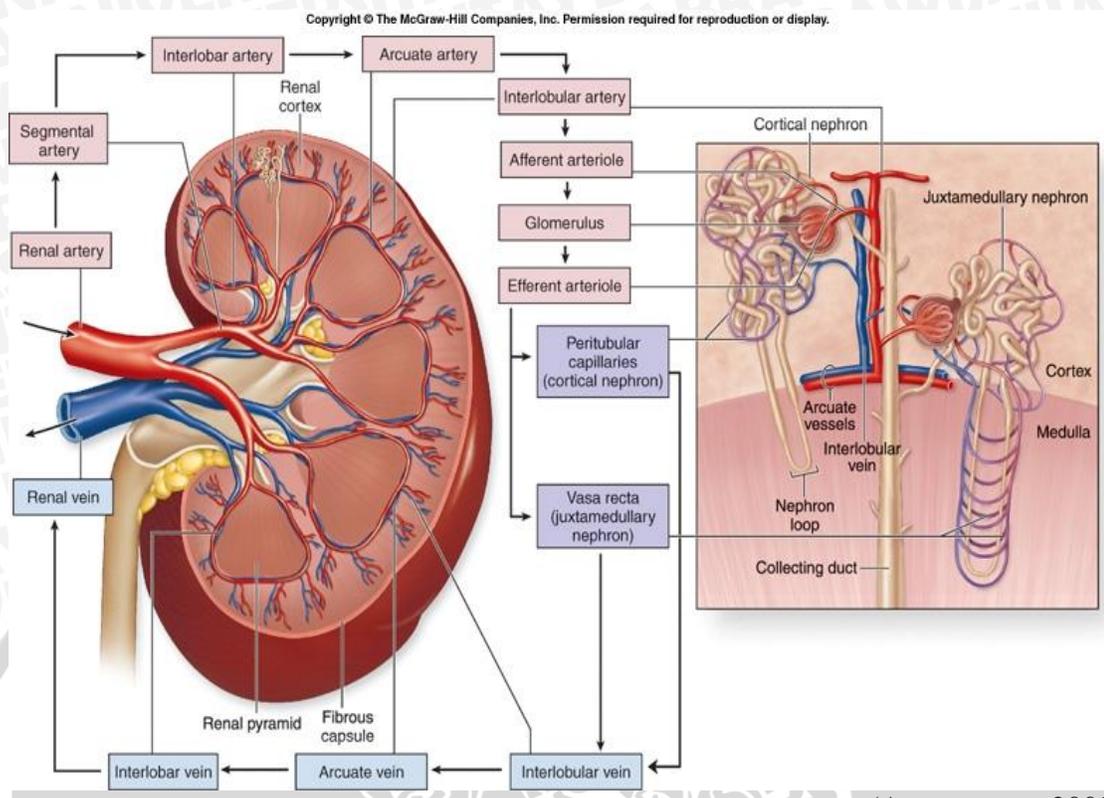
Ginjal terdiri dari tiga bagian utama yaitu: (1) korteks/bagian luar, (2) medulla/sumsum ginjal dan, (3) pelvis renalis/ rongga ginjal. Bagian korteks ginjal mengandung ± 100 juta nefron sehingga permukaan kapiler ginjal menjadi luas, akibatnya perembesan zat buangan menjadi banyak. Setiap nefron terdiri atas badan malphigi dan tubulus (saluran) yang panjang. Pada badan Malphigi terdapat kapsul Bowman yang bentuknya seperti mangkuk atau piala yang berupa selaput sel pipih. Kapsul bowman membungkus glomerulus. Glomerulus berbentuk jalinan kapiler arterial. Tubulus pada badan malphigi adalah tubulus proksimal yang bergulung dekat kapsul Bowman yang pada dinding sel terdapat banyak sekali mitokondria. Tubulus yang kedua adalah tubulus distal (Fendy, 2007).

Secara garis besar fungsi ginjal dibagi dua tahap. Tahap pertama adalah filtrasi, sedangkan tahap kedua terdiri dari reabsorpsi dan sekresi. Filtrasi terjadi di glomerulus dan reabsorpsi serta sekresi sebagai koreksi terhadap hasil filtrasi terjadi di tubulus.

Mekanisme filtrasi ditunjang oleh dua faktor utama yaitu pori glomerulus dan tekanan hidrostatik dan tekanan osmotik antara dua sisi membran glomerulus (Indra, 2006). Menurut Irawan (2008), bahwa ginjal mengeliminasi konstituen-konstituen plasma yang tidak diperlukan ke dalam urin sementara menahan bahan-bahan yang bermanfaat bagi tubuh.

Ginjal melaksanakan tiga proses dasar dalam menjalankan fungsi regulatorik dan ekskretoriknya: (1) filtrasi glomerulus, perpindahan non-diskriminatif plasma bebas protein dari darah ke dalam tubulus; (2) reabsorpsi tubulus, perpindahan selektif konstituen-konstituen tertentu dalam filtrat kembali ke darah kapiler peritubulus; dan (3) sekresi tubulus, perpindahan yang sangat spesifik zat-zat tertentu dari darah kapiler peritubulus ke dalam cairan tubulus. Segala sesuatu yang difiltrasikan atau disekresikan tetapi tidak direabsorpsi akan diekskresikan sebagai urin.

Menurut Guyton dan Hall (1997), bahwa sebenarnya fungsi dari ginjal ada dua macam yaitu membuang bahan-bahan sampah dari hasil pencernaan atau yang diproduksi oleh metabolisme, dan fungsi kedua dari ginjal adalah mengontrol volume dan komposisi cairan tubuh. Masud (1984) menambahkan bahwa fungsi utama dari ginjal adalah sebagai alat pembersih plasma darah dari bahan-bahan toksis, sisa metabolisme dan benda asing. Ginjal dapat membersihkan plasma darah dari bahan toksikan melalui sistim nefron yang terdapat di dalamnya. Sistim nefron ini terdiri atas glomerulus dan tubulus-tubulus. Salah satu bahan toksik yang dibersihkan oleh ginjal dari plasma darah adalah formalin, formalin yang difiltrasi oleh ginjal akan dibuang melalui urin (Conaway *et al.* 1996 dalam Schulte *et al.*, 2006). Struktur dan anatomi ginjal dapat dilihat pada Gambar 1



(Anonymous, 2008^b)

Gambar 1. Anatomi Ginjal.

2.1.2 Mekanisme Pencucian Darah Oleh Ginjal

Ginjal memiliki struktur yang cukup unik, yaitu pembuluh darah dan unit penyaring. Proses penyaringan terjadi pada bagian kecil dalam ginjal, yang disebut dengan nefron. Setiap ginjal memiliki sekitar satu miliar nefron. Pada nefron ini terdapat pembuluh darah kecil-kecil dan kapiler yang saling jalin menjalin dengan saluran-saluran yang kecil, yaitu tubulus. Tubulus-tubulus ini pertama kali menerima gabungan antara zat-zat buangan dan berbagai kimia hasil metabolisme yang masih bisa digunakan tubuh. Ginjal akan memilih zat-zat kimia yang masih berguna bagi tubuh (natrium, fosfor, dan kalium) dan mengembalikannya ke peredaran darah dan mengeluarkan lagi

kembali ke dalam tubuh. Dengan cara demikian, ginjal turut mengatur kadar zat-zat kimia tersebut dalam tubuh (Anonymous, 2008^e).

Ginjal merupakan organ yang kompak, terikat pada dinding dorsal dan terletak retroperitoneal. Ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan. Ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, dan membawa toksikan melalui sel tubulus, serta mengaktifkan toksikan tertentu. Akibatnya ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik (Lu, 1995). Menurut Harper (1979), peranan ginjal homeostasis merupakan gabungan dari tiga proses, yaitu :

- (1) Filtrasi plasma darah oleh glomerulus
- (2) Absorpsi kembali zat-zat yang masih berguna oleh tubulus,
- (3) sekresi zat-zat oleh tubulus dari darah ke dalam lumen tubulus.

Mekanisme ginjal untuk membersihkan plasma darah dari bahan toksik, sisa metabolisme dan benda asing adalah melalui proses filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi oleh tubulus dan sekresi oleh tubulus. Kotoran dari plasma darah yang telah mengalami filtrasi pada glomerulus akan menuju tubulus. Tubulus akan mereabsorpsi kembali bahan-bahan yang diperlukan oleh tubuh dan bahan yang tidak berfungsi tidak akan direabsorpsi. Bahan-bahan yang tidak difiltrasi di glomerulus dan tidak diperlukan oleh tubulus akan diekskresi oleh tubulus sebagai urin dengan jalan disekresi melalui sel epitel tubulus (Mas'ud, 1995).

Glomerulus merupakan bagian dari sistim nefron yang berbentuk kapiler dan dikelilingi oleh kapsul bowman. Fungsi dari glomerulus adalah untuk memfiltrasi darah dari bahan-bahan yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh, hasil filtrasi akan dikeluarkan sebagai urin. Arteri yang terdapat pada ginjal mengalirkan darah ke glomerulus untuk difiltrasi. Glomerulus akan memfiltrasi 1/5 dari total plasma darah yang melewati

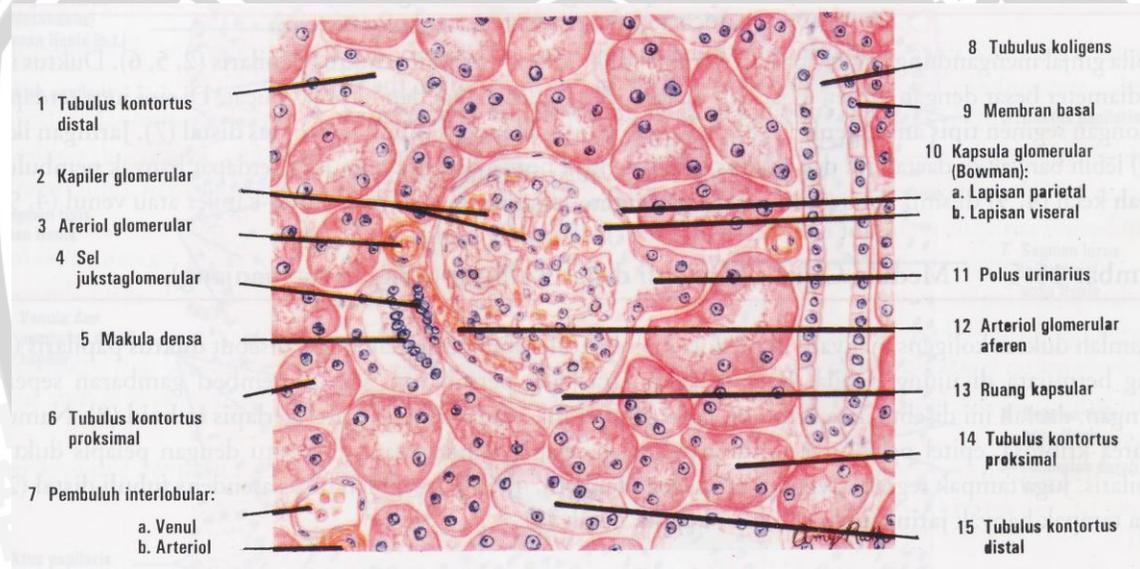
kapiler-kapilernya. Hasil filtrasi dari glomerulus akan di buang melalui tubulus proksimal. Tubulus merupakan bagian dari sistim nefron. Tubulus dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu tubulus proksimal, ansa henle dan tubulus distal. Tubulus proksimal merupakan tubulus yang langsung berhubungan dengan glomerulus. Filtrat hasil filtrasi glomerulus akan direabsorpsi kembali oleh tubulus proksimal. Tubulus proksimal akan mereabsorpsi kembali air, bahan organik (asam amino, glukosa, dan sebagainya), garam dan fosfat. Hasil dari reabsorpsi tubulus proksimal akan melewati ansa henle. Air dan ion Na^+ akan direabsorpsi kembali oleh ansa henle. Tubulus distal akan memproses hasil buangan dari ansa henle. Tubulus distal bekerja berdasarkan hormon yang dikeluarkan oleh sistim endokrin. Tubulus distal akan merespon dengan mereabsorpsi Ca^+ dan mensekresikan fosfat jika sistim endokrin melepaskan hormon paratiroid. Tubulus distal akan merespon dengan mereabsorpsi Na^+ dan mensekresikan K^+ jika sistim endokrin mengeluarkan hormon aldosteron. Tubulus distal juga bertugas mengatur pH darah dengan mengatur sekresi amonium dan ion hidrogen. Hasil akhir dari tubulus distal dapat disebut sebagai urin dan selanjutnya akan dikeluarkan dari sistim nefron untuk ditampung di ureter (Wikipedia, 2007).

2.1.3 Bagian-Bagian Dari Nefron

Unit anatomik yang juga merupakan unit fungsional ginjal adalah nefron. Nefron terdiri dari glomerulus dengan kapsul bowman, tubulus proksimal, ansa Henle dan tubulus distal. Kedua tersebut ginjal mempunyai kira-kira 2 juta nefron (Suryatmaja dan Rustadi, 2008).

Struktur nefron terdiri dari terdiri dari glomerulus dan tubulus. Glomerulus dengan diameter 200 μm terbentuk oleh invaginasi pembuluh darah kapiler membentuk jejaring kapiler dalam kapsula bowman tempat terjadinya filtrasi plasma sehingga dihasilkan

ultrafiltrat yang ditampung di celah bowman. Membran glomerulus tersusun oleh dua lapisan sel yaitu, sel endotel kapiler dan sel epitel kapsula bowman yang disebut podosit. Tubulus merupakan bentuk tabung ber dinding sel epitel yang terbagi menjadi beberapa bagian yang berfungsi mengubah cairan filtrat menjadi urin. Vascular dan epitel terbungkus dalam struktur kapsula bowman dan di antaranya terdapat celah bowman yang berlanjut ke lumen tubulus proksimalis. Di glomerulus inilah filtrat berpindah dari sistim vascular ke sistem tubulus (Indra, 2006). Bagian-bagian dari nefron dapat dilihat pada Gambar 2



(Eroschenko,2003)

Gambar 2. Sistem nefron.

2.1.4 Gangguan Fungsi Ginjal

Ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik dan merupakan organ yang lebih peka terhadap toksikan karena ginjal memiliki fungsi metabolisme dan ekskresi yang lebih tinggi. Mekanismenya karena ginjal mempunyai volume aliran darah yang

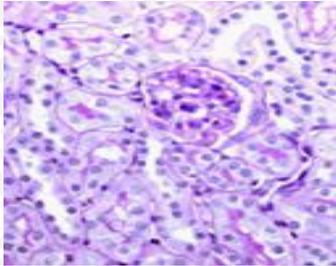
tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus, kemudian menonaktifkan toksikan tertentu. (Lu,1995).

Acute renal shutdown merupakan salah satu penyakit ginjal. *Acute renal shutdown* adalah ginjal yang tiba-tiba berhenti menjalankan fungsinya karena suatu sebab. Ada dua jenis *acute renal shutdown* yang sering terjadi yaitu, *glomerulonephritis* akut dan tubular nekrosis akut (Mas'ud, 1995).

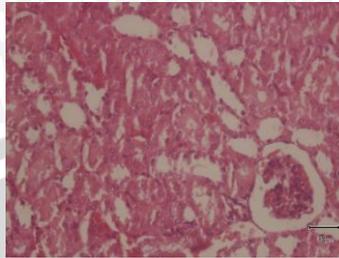
Glomerularnephritis merupakan salah satu kelainan fungsi nefron. *Glomerularnephritis* mempunyai beberapa macam kelainan yang dipandang dari sisi penyebabnya. *Glomerularnephritis sclerosis* adalah salah satu *glomerularnephritis* yang disebabkan oleh iskemia (Gallo *et al.*, 1980). Kelainan ini secara histologi ditandai oleh hilangnya sel-sel pembentuk glomerulus yang ditandai dengan pelebaran saluran kemih pada glomerulus. Hilangnya sel-sel pembentuk glomerulus biasanya diakibatkan oleh iskemia. Kelainan ini mengakibatkan protein dan zat lainnya (lemak, kreatinin dan sebagainya) yang sebenarnya tersaring oleh kapiler glomerulus lolos keluar bersama dengan urin (Guo *et al.*, 2006).

Acute Tubular Necrosis (ATN) merupakan kelainan ginjal yang menyebabkan *acute renal failure* dan bersiat reversibel. ATN biasanya dijumpai pada kasus keracunan dan iskemia. Pada kasus keracunan, kontak langsung pada sel-sel epitel tubulus dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel epitel tubulus. Kasus kedua terjadi akibat tubulus pada ginjal sangat peka terhadap iskemia, terutama tubulus proksimal. Iskemia yang terjadi dapat menyebabkan sel-sel tubulus proksimal rusak berat. Secara mikroskopik, ginjal yang mengalami ATN akan terjadi nekrosis pada sel-sel tubulusnya. Kelainan ini dapat sembuh apabila tingkat regenerasi sel lebih besar dibandingkan dengan nekrosis yang terjadi. Regenerasi sel yang terjadi terlihat adanya sel-sel pipih

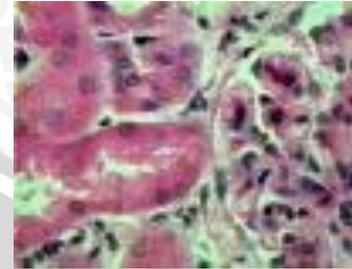
memanjang yang melebar (Effendi *et al.*, 1981). Gambaran secara mikroskopis ginjal normal dan yang mengalami kerusakan dapat dilihat pada Gambar 3.



(Zheng et al, 2008)
(A)



(Anonymous, 2008^e)
(B)



(Montemayor, 2003)
(C)

A : normal

B : *glomerular nephritis sclerosis* (Kelainan ini ditandai oleh hilangnya sel-sel pembentuk glomerulus yang ditandai dengan pelebaran saluran kemih pada glomerulus)

C : *acute tubular necrosis* (sel-sel pada tubulus banyak yang mengalami nekrosis)

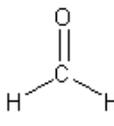
Gambar 3. Histologi ginjal secara mikroskopis

2.2 Formaldehid (Formalin)

2.2.1 Pengertian Formalin dan Sifatnya

Formalin adalah larutan formaldehid dalam air, dengan kadar antara 10%-40% Juwandarto (2006). Sedangkan menurut Cahyadi (2006), larutan formaldehid atau larutan formalin mempunyai nama dagang formalin, formol, atau mikrobisida mengandung kira-kira 37% gas formaldehid dalam air. Formalin pada dasarnya merupakan nama dagang dari larutan formaldehid dalam air dengan kadar 30-40 persen. Formalin dapat diperoleh dalam bentuk yang sudah diencerkan dengan kadar formaldehid 10, 20, 30 dan 40 persen, juga dalam bentuk tablet dengan berat sekitar lima gram (Anonymous, 2006) Biasanya ditambahkan 10-15% metanol untuk menghindari polimerisasi. Larutan ini sangat kuat dan dikenal dengan formalin 100% atau formalin 40%, yang mengandung 40 gram formaldehid dalam 100 ml pelarut (Cahyadi, 2006). Karakteristik formaldehid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Formalin

Formaldehid	
	
Sifat Kimia dan Fisika	
Nama sistematis	Metanal
Nama lain	Formalin, formol, metil aldehida, metilen oksida
Rumus molekul	CH ₂ O
Ikatan rangkap	C=O
Penampilan	Cairan jernih (tidak berwarna)
Bau	Berbau menusuk
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Berat jenis	1.08
pH	2.8
Volatilasi (21°C)	100
Titik didih	96°C
Titik cair	15°C
Tekanan uap	1,3 pada 20°C

Sumber: Winarno dan Rahayu (2004)

Sifat dari formalin adalah merupakan bahan yang mudah menguap, pada temperatur kamar (bau merangsang yang tidak enak), dapat larut didalam air. Zat ini dapat dioksidasi, direduksi, mengadisi dan dapat membentuk alkohol sekunder. Pada pengawetan jenazah dia bersifat mengubah protein menjadi zat yang kenyal dan padat (Tarigan, 2004).

2.2.2 Ikan Berformalin

Formalin yang dicampur dengan daging ikan dapat mengawetkan daging tersebut untuk beberapa hari. Formalin yang masuk ke dalam daging akan bereaksi dengan protein. Reaksi antara protein dengan formalin akan membentuk suatu ikatan kimia yang sangat kuat. Ikatan kimia yang terbentuk antara protein dengan formalin biasanya disebut dengan jembatan metilen. Jembatan metilen yang terbentuk dapat mengeluarkan

air dari protein yang diikat. Kelebihan jembatan metilen biasanya digunakan dalam industri penyamakan. Protein yang telah membentuk jembatan metilen akan berubah struktur luarnya, sehingga mengakibatkan perubahan bentuk (Kiernan, 2004). Formalin yang ditambahkan dalam ikan tidak akan memberikan efek pada tubuh dalam jangka pendek. Efek negatif formalin yang digunakan dalam pangan bersifat menahun, apabila tercemar dalam dalam jumlah banyak. Pemakaian formalin dalam makanan dapat menyebabkan keracunan pada organ fungsional. Formalin juga bisa menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan, mengganggu fungsi hati, ginjal (Anonymous, 2007^a). Beberapa penelitian pada tikus percobaan sangat mendukung dampak negatif asupan formalin terhadap organ pencernaan (Anonymous, 2007^b).

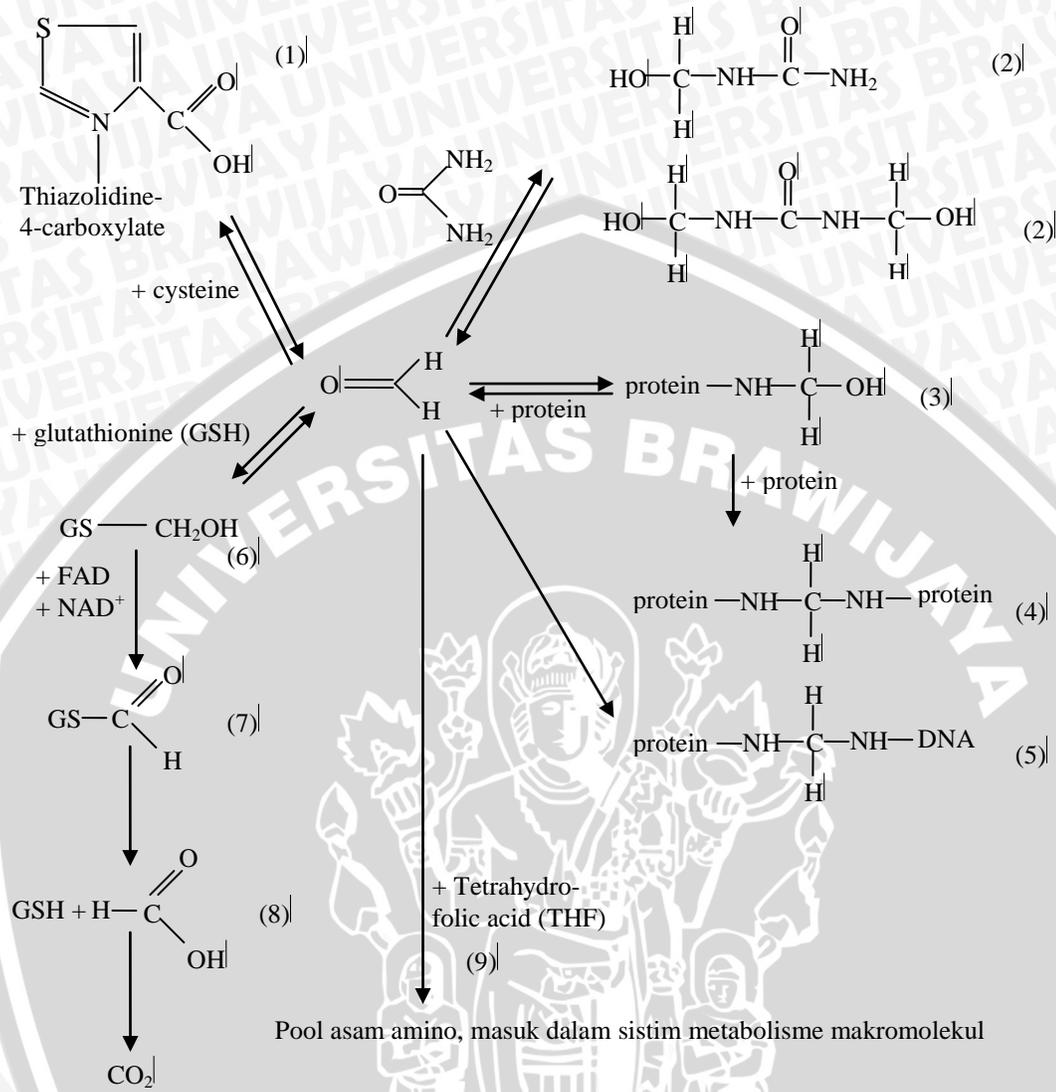
Ikan yang ditambahkan formalin akan mempunyai daya simpan lebih lama. Hal ini disebabkan oleh reaksi formaldehid dengan protein, formaldehid bersifat mengeraskan jaringan protein sehingga aktivitas mikrobiologis terhenti. Akan tetapi fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme dalam tubuh akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*cross-linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggungjawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen (Anonymous, 2005^b).

2.2.3 Metabolisme Formaldehid Dalam Tubuh

Formalin masuk ke dalam tubuh melalui beberapa jalur. Pertama, saluran pernapasan. Paling banyak terpapar formaldehid terjadi melalui inhalasi atau kontak kulit/mata. Penguapan formaldehid diserap oleh paru-paru. Formaldehid terakumulasi dalam sel, bereaksi dengan protein selular dan DNA. Kenyataan bahwa formaldehid

terakumulasi tiap dosis. Oleh karena itu, paparan kronik dengan formaldehid dalam jumlah sangat sedikit harus dihindari (Amirudin, 2006).

Ada beberapa kemungkinan mengenai jalur metabolisme formalin dalam tubuh. Mekanisme pertama adalah formalin bergabung dengan cystein untuk membentuk *thiazolidine-4-carboxylate*. Jalur kedua adalah berikatan dengan urea untuk membentuk *hydroxymethyladducts* atau dengan protein (seperti protein darah, serum albumin atau protein lendir), reaksi *irreversible* adalah hasil dari reaksi satu molekul formalin dengan 2 molekul protein (jalur ketiga). Formalin juga dapat bereaksi dengan protein dan DNA membentuk ikatan silang protein dan DNA (jalur keempat). Formalin bereaksi spontan dengan *gluthationin* (GSH) di dalam sel membentuk *S-hydroxymethylglutathione* dan dengan keberadaan NAD^+ , *S-hydroxymethylglutathione* akan diubah oleh *formaldehyde-dehidrogenase* (FAD) menjadi *S-formylglutathione* (jalur keenam). Keberadaan air dalam sel akan memicu proses hidrolisis *S-formylglutathione*, sehingga menghasilkan GSH dan asam formiat. Asam formiat akan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urine dengan mengubahnya menjadi garam sodium, selain itu asam formiat juga dapat diubah menjadi CO_2 dan diekskresikan melalui paru-paru. Jalur lain metabolisme formalin adalah dengan mengikatnya dengan asam tetrahidrofolik. Formalin yang terkandung dalam asam tetrahidrofolik merupakan dapat digunakan oleh tubuh sebagai bahan utama dalam sintesis purin, thymidin dan asam amino lainnya dan disimpan di dalam pool asam amino (Conaway *et al.*, 1996 dalam Schulte *et al.*, 2006). Metabolisme formalin dalam tubuh dapat dilihat pada gambar. 4



Gambar 4. Metabolisme formalin dalam tubuh manusia

Formaldehid merupakan salah satu zat toksik yang dapat menyebabkan terganggunya sintesis protein dan menghambat laju aliran darah yang menyebabkan terjadinya iskemia (Schiif, 1975). Iskemia merupakan fase kurangnya suplai oksigen ke dalam jaringan yang diakibatkan terganggunya sistim pengangkutan oksigen oleh darah. Iskemia dapat merusak organ dalam seperti ginjal yang sangat rentan terhadap iskemia. Iskemia merupakan suatu proses yang menyebabkan gagalnya respirasi fosforilasi

oksidatif di mitokondria sehingga pembentukan ATP menurun tajam, sementara ATP yang ada sebagai sumber energi, dipecah menjadi ADP dan AMP untuk berbagai aktivitas sel. Depleksi ATP menyebabkan keluarnya ion Ca^{+} dari retikulum endoplasmik ke dalam sitoplasma, dan ion Ca^{+} ini memacu aktivitas enzim fosfolipase yang dependen terhadap kalsium, sehingga terjadi degradasi fosfolipid membran sel dan disfungsi kanal-kanal ion. Ion K^{+} pun keluar dari sel dan ion Na^{+} justru masuk ke dalam sel. Masuknya ion Na^{+} selalu disertai oleh H_2O dan sel pun mengalami edem pada retikulum endoplasmik, mitokondria dan sistem intrasel yang lain mengalami dilatasi, dengan fungsi yang makin menurun. Sintesis protein dan enzim-enzim intrasel pun menurun. Edem sel sesungguhnya masih reversibel, apabila episode iskemia segera diikuti oleh episode reperfusi, sehingga pembentukan ATP pun normal kembali. Apabila secara morfologik, sel sudah mengalami defek pada membran sel, vakuolisasi mitokondria, ruptur lisosom, piknosis nukleus, kariolisis dan karioreksis, biasanya perubahan yang terjadi sudah bersifat ireversibel. Perubahan tersebut menyebabkan menurunnya pH dan asidotik, akumulasi asam laktat dan pemecahan fosfat ester, disertai dengan perubahan komposisi ion di dalam sel. Berbagai komponen molekuler pun lepas keluar sel dan selanjutnya terjadi nekrosis setelah iskemia berlangsung 1-2 jam (Baraas, 2006). Saat melakukan proses fosforilasi oksidatif, sel akan memompa ion Na keluar sel dan memasukkan ion K ke dalam sel. Proses ini membutuhkan energi dan dilakukan oleh enzim KNa-ATPase . Apabila metabolisme energi ini terganggu menyebabkan produksi ATP menurun, terjadi kebocoran pada membran sel sehingga ion dapat menembus plasma membran dan sel tidak mampu memompa keluar Na. Akibatnya terjadi proses osmosis dengan masuknya air ke dalam sel sehingga terjadi pembengkakan sel.

2.2.4 Penurunan Toksikan dari Induk Ke F1

Sepanjang siklus reproduksi, toksikan dapat mengganggu fungsi reproduksi. Toksikan bekerja langsung pada sistem reproduksi (oosit maupun spermatozoa) atau konsepsi secara tidak langsung lewat organ endokrin tertentu. Sebelum zat kimia dapat bekerja secara langsung, zat itu harus mencapai organ sasaran dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Konsentrasi ini dapat lebih tinggi atau lebih rendah daripada konsentrasi dalam darah (Lu, 1995).

Mencit berkembang biak sepanjang tahun, masa reproduktif mencit biasanya terjadi bulan april hingga September. Mencit memiliki masa kehamilan selama 4 – 6 hari dan masa menyusui 19 – 20 hari. Pada usia 5 minggu biasanya mencit betina sudah dapat bereproduksi (Ballenger, 2005).

Dalam masa kehamilan dan menyusui pada mencit, nutrisi yang diperoleh dari induk sangat mempengaruhi perkembangbiakan anak mencit. Pada saat kehamilan janin mendapatkan nutrisi dari plasenta sehingga nutrisi yang diperoleh induk mencit sangat berpengaruh terhadap perkembangan janin. Pada saat menyusui induk mencit menghasilkan air susu sebanyak satu hingga dua liter. Walaupun nutrisi yang diperoleh dari induk sedikit akan tetapi sangat berpengaruh besar terhadap perkembangbiakan anak mencit (meikle and westberg, 2001).

Menurut scullte et al (2006), tidak ada perbedaan genotip dari pengaruh paparan formaldehid pada jenis kelamin. Dikatakan oleh Lu (1995), efek toksikan pada kromosom menyebabkan terjadinya perubahan dalam jumlah kromosom serta bias menyebabkan DNA repair tidak sempurna. Migliore et al (1989) menyebutkan, didalam jaringan dan plasma ada banyak enzim detoksifikasi formaldehid, sehingga paparan formaldehid sulit bias sampai ke sel kelamin jantan (male germ cell).

Formaldehid bereaksi dengan protein dan asam nukleat. Formaldehid berikatan dengan rantai tunggal DNA, bukan dengan rantai ganda DNA. Ikatan ini bersifat *reversible*. Tetapi apabila terbentuk ikatan silang (*cross-link*) formaldehid dengan DNA dan protein, maka ikatan ini akan sangat kuat dan bersifat *irreversible* (Inchem, 1989). Formaldehid bebas yang tidak mengalami metabolisme akan terikat secara stabil dengan makromolekul seluler protein DNA yang dapat berupa ikatan silang (*Cross linked*). Ikatan silang formaldehid dengan DNA dan protein ini diduga bertanggung jawab atas terjadinya kekacauan informasi genetik dan konsekuensi lebih lanjut seperti terjadi mutasi genetik dan sel kanker (Anonymous, 2006).

Formaldehid dapat mengakibatkan kerusakan gen, dan mutasi yang dapat diwariskan (Nurachman, 2005). Formaldehid yang mengikat [DNA](#) [protein](#) akan mengganggu ekspresi [genetik](#) normal (Wikipedia, 2006). Formaldehid yang bereaksi dengan DNA atau RNA akan mengacaukan data informasi genetik dan menyebabkan penyakit-penyakit genetik baru yang mungkin akan muncul. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen. Bila sisi aktif dari protein-protein vital dalam tubuh dimatikan oleh formaldehid, maka molekul-molekul itu akan kehilangan fungsi dalam metabolisme. Akibatnya, kegiatan sel akan terhenti (Nurachman, 2005).

2.3 Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Coba

Mencit termasuk dalam *genus Mus*, *subfamily Murinae*, *family Muridae*, *ordo Rodentia*. Mencit yang sudah dipelihara di laboratorium sebenarnya masih satu famili dengan mencit liar. Sedangkan mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak

memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Peningkatan temperatur tubuh tidak mempengaruhi tekanan darah, sedangkan frekuensi jantung, *cardiac output* berkaitan dengan ukuran tubuhnya. Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari dari pada siang hari. Traktus respiratorus terdiri dari tiga bagian yaitu: *anterior (nostril, cavum canalis, nasopharynx)*, *intermediate (larynx, trachea, bronchi)*, *posterior* (paru-paru kiri dan kanan, paru kiri terdiri dari satu lobus dan paru kanan terdiri dari empat lobus).

Tiga pasang kelenjar sative yakni submaksilaris (*submandibularis*), parotid dan sublingualis yang terdapat pada bagian ventral daerah leher terdapat pada mencit. Lambung mencit seperti pada tikus, terbagi dalam glandular dan non glandular (Kusumawati, 2004). Adapun data biologi mencit terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Biologi Mencit

Keterangan	Jumlah
Berat badan (g) :	
Jantan	20-40
Betina	18-35
Lama hidup (tahun)	1-3
Temperatur tubuh (°C)	36,5
Kebutuhan air	ad libitum
Kebutuhan makanan (g/hari)	4-5
Pubertas (hari)	28-49
Lama kebuntingan (hari)	17-21
Mata membuka (hari)	12-13
Tekanan darah :	
Sistolik (mmHg)	133-160
Diastolik (mmHg)	102-110
Frekuensi respirasi (per menit)	163
Tidal volume (ml)	0,18 (0,09-0,38)

Sumber : Fox (1984) dalam Kusumawati (2004)

Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencitlah yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004). Sedangkan menurut Lu (1995), hewan ini digunakan karena mudah didapat, ukurannya kecil, mudah ditangani, dan data toksikologinya relatif lebih banyak. Selain itu penetapan toksisitas pada hati sering merupakan penelitian jangka pendek dan jangka panjang yang biasanya dilakukan pada mencit. Adapun data hematologi mencit terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Hematologi Mencit

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

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

2.4 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Menurut Prihatman (2000), Ikan nila merupakan jenis ikan konsumsi air tawar dengan bentuk tubuh memanjang dan pipih kesamping dan warna putih kehitaman. Ikan nila berasal dari Sungai Nil dan danau-danau sekitarnya. Sekarang ikan ini telah tersebar ke negara-negara di lima benua yang beriklim tropis dan subtropis. Sedangkan di wilayah yang beriklim dingin, ikan nila tidak dapat hidup dengan baik. Bibit ikan didatangkan ke Indonesia secara resmi oleh Balai Penelitian Perikanan Air Tawar pada tahun 1969. Setelah melalui masa penelitian dan adaptasi, barulah ikan ini disebarluaskan kepada petani di seluruh Indonesia. Nila adalah nama khas Indonesia yang diberikan oleh Pemerintah melalui Direktur Jenderal Perikanan.

Ikan nila adalah salah satu komoditas budidaya yang memiliki prospek pasar yang cukup tinggi. Selain mempunyai spesifik rasa, padat dagingnya, mudah disajikan dalam berbagai menu, juga harganya relatif murah sehingga terjangkau oleh masyarakat luas. Terlebih kini *fillet* nila merupakan komoditas ekspor yang mulai diminati oleh negara-negara importir khususnya Arnerika Serikat, sebagai alternatif sumber protein non-kelesterol (DKP, 2005). Komposisi kimia ikan nila menurut Dolaria (2003) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kimia Ikan Nila

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

Sumber: Dolaria (2003).

3. MATERI DAN METODE

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat pemeliharaan tikus mencit, seperangkat alat bedah, seperangkat alat untuk pewarnaan dan alat untuk mengamati jaringan ginjal mencit. Alat yang dipakai untuk memelihara tikus mencit adalah kandang tikus, tempat minum tikus dan suntikan untuk memberikan perlakuan kepada tikus mencit. Alat-alat yang digunakan untuk pewarnaan adalah cawan petri, pipet serologis, pinset, mikrotom, erlenmeyer, dan *beaker glass*. Alat untuk mengamati adalah mikroskop dan layar digital untuk memperjelas gambar sel.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), hewan percobaan yaitu mencit (*Mus musculus*) induk, formalin, larutan fiksatif, alkohol, xylol murni, parafin, dan zat warna *haemotoxylin-eosin*.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan memperbandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 1988).

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Sebagai ulangan adalah ulangan yang masing-masing terdiri dari 9 mencit. Analisa ragam yang dipakai adalah analisa menggunakan ANNOVA. Uji yang dilakukan apabila terdapat perbedaan adalah uji perbandingan berganda (LSD dan Duncan). Uji LSD dan Duncan dilakukan untuk melihat beda antara perlakuan dengan kontrol. Perlakuan yang dicobakan adalah 0,2 ppm ikan; 0,2 ppm formalin; 0,2 ppm ikan berformalin, 0,5 ppm ikan; 0,5 ppm formalin; 0,5 ppm ikan berformalin serta tanpa perlakuan (Kontrol).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ikan nila dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm. Dibandingkan dengan kontrol negatif ikan dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, sedangkan sebagai kontrol positif formalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm serta kontrol nol. Variabel terikatnya adalah nekrosis sel ginjal anak mencit jantan didukung uji kreatinin.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Preparasi Hewan Uji

Hewan uji yang dipakai adalah tikus mencit dewasa yang sebelumnya diaklimasi terlebih dahulu selama 1 minggu di laboratorium. Setelah melalui proses aklimasi selanjutnya mencit akan dipapar sesuai dengan perlakuan yang diberikan (pembuatan perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 1). Perlakuan yang diberikan kepada mencit adalah pemberian ikan berformalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, ikan dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm, formalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm serta kontrol nol (tanpa perlakuan). Perlakuan diberikan secara oral saat pagi hari

saat lambung kosong selama 6 kali per minggu per bulan. Besarnya dosis perlakuan yang diberikan terhadap mencit tergantung dari berat mencit tersebut (contoh perhitungan dosis yang diberikan kepada mencit dapat dilihat pada Lampiran). Perlakuan diberikan kepada mencit selama 1 bulan.

3.4.2 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan Berformalin

Ikan nila disiangi, dicuci kemudian di fillet. Diambil fillet daging ikan sebesar 100 gr ditambah 100 ml aquades kemudian di blender. Setelah itu disaring, dipisahkan filtrat dan residu. Residu diambil sebanyak 20 gram kemudian ditambahkan formalin, setelah itu diencerkan sampai menjadi konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm. Didiamkan 2 jam, larutan ikan berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm siap untuk digunakan. Untuk lebih jelasnya, prosedur pembuatan ikan nila berformalin, proses pengenceran dan penghitungan volume ikan nila berformalin dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.3 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm formalin

Pembuatan formalin 0,5 ppm menggunakan rumus pengenceran untuk mengetahui volume formalin yang dibutuhkan dalam 100 ml aquadest. Rumus pengencerannya sebagai berikut :

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

V_1 : volume formalin yang dibutuhkan

N_1 : konsentrasi formalin

V_2 : volume aquadest

N_2 : konsentrasi formalin yang dibutuhkan

Perhitungan volume formalin yang dibutuhkan adalah sebagai berikut:

- 0,2 ppm:

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

$$V_1 = 0,54 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,54 \text{ ml}$$

- 0,5 ppm:

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 0,5 \text{ ppm}}{37 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,351 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,351 \text{ ml}$$

Jadi volume formalin yang dibutuhkan untuk membuat 100 ml formalin 0,2 ppm adalah 0,54 ml dan 0,5 ppm yaitu sebesar 1,351 ml.

3.4.4 Penyediaan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan

Ikan nila dicuci bersih dan filet. Daging ikan nila diambil sebanyak 100 g ditambah dengan 100 ml aquades dan kemudian diblender sampai halus. Daging yang telah halus disaring dan filtratnya dibuang dan didapatkan residu. Residu kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai menjadi larutan ikan. Proses pengenceran dan penghitungan volume ikan nila berformalin dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.5 Perlakuan Induksi Oral Ikan Berformalin Pada Mencit.

Induksi toksikan dilakukan dengan pemberian peroral setiap hari pada pagi hari selama 3 bulan. Bahan toksik diinduksikan langsung ke lambung dengan metode sonde. Perhitungan dosis ikan berformalin dan volume cekok yang diberikan pada mencit dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.6 Pembuatan Spesimen

Pertama-tama mencit dibius sampai tidak sadar dengan formalin 37-40% kemudian dibedah untuk diambil organ yang diamati, dilakukan dengan cepat agar

mencit dalam keadaan hidup. Jaringan ginjal dicuci dengan PBS sebanyak 3-5 kali untuk membersihkan dari kontaminan. Kemudian difiksasi pada formalin 10%. Setelah itu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit. Dilakukan *Clearing* menggunakan xilol sebanyak 2 kali masing-masing 60 menit. Kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C, dilakukan *block* dalam parafin keras pada cetakan dan didiamkan selama sehari. Keesokan harinya ditempelkan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-6 um dengan rotary microtome. Dilakukan mounting pada gelas objek dengan gelatin 5%. Proesdur pembuatan spesimen organ dapat pada lampiran 4.

3.4.7 Prosedur Pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* (HE)

Perwarnaan dilakukan untuk mempermudah pengamatan di bawah mikroskop. Metode pewarnaan yang dipakai adalah metode *Haematoxylin-Eosin* (HE), dimana sel akan terlihat berwarna merah agar mudah dibedakan organel-organelnya apabila dilihat di bawah mikroskop. Tahap pertama dalam pewarnaan adalah deparafinasi menggunakan xylol dan dilanjutkan dengan rehidrasi dengan menggunakan alkohol. Pemberian zat warna *Haematoxylin* dilakukan setelah rehidrasi. Tahap selanjutnya adalah dilakukan mordanting dan diferensiasi. Setelah tahap diferensiasi, dilakukan pewarnaan dengan zat warna *Eosin* yang digabung dengan dehidrasi menggunakan alkohol. Tahap terakhir adalah perekatan sampel di atas *objek glass* dan dilakukan penutupan dengan *cover glass*. Skema kerja pewarnaan dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.4.8 Prosedur Pengamatan

Pengamatan terhadap sel ginjal dilakukan dengan bantuan alat perbesaran (mikroskop). Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel mati dan total sel dari tubulus dan glomerulus ginjal. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 400X

apabila bentuk sel telah terlihat jelas dan dapat dibedakan antara sel mati dan sel hidup, apabila kurang jelas maka digunakan perbesaran 1000X. Pengamatan dilakukan untuk setiap ulangan dengan jumlah total hitungan 1000 sel. Perhitungan per seribu sel dimaksudkan untuk menghomogenkan data dan untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

3.5 Gambaran Umum Keadaan Induk Mencit

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dapat diketahui bahwa gambaran umum induk dengan pemberian 0,2 dan 0,5 ppm ikan nila berformalin per oral selama 1 bulan dapat dilihat pada tabel 5. sedangkan kerusakan ginjal induk mencit secara mikroskopis dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 5. Kadar Kreatinin dan Nekrosis Tubulus Induk Mencit

Perlakuan	Kadar kreatinin (m/dl)	Prosentase nekrosis tubulus
kontrol nol	0,23	0,50
0,2 ppm ikan nila berformalin	0,28	1,96
kontrol positif (0,2 ppm formalin)	0,44	6,55
kontrol negatif (0,2 ppm ikan)	0,25	1,22
0,5 ppm ikan nila berformalin	0,29	4,01
kontrol positif (0,5 ppm formalin)	0,45	7,25
kontrol negatif (0,5 ppm ikan)	0,28	1,17

Data kreatinin menunjukkan beda nyata pada setiap perlakuan, tetapi kadar kreatinin yang diukur masih dalam batas ambang normal sesuai dengan standar kreatinin mencit menurut Kusumawati (2004). Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan bahwa terjadi kerusakan pada glomerulus ginjal sehingga kreatinin dapat lolos dari sistim filtrasi glomerulus. Kerusakan yang terjadi akibat paparan ikan berformalin dosis sangat rendah belum menunjukkan kerusakan yang parah pada glomerulus ginjal meski telah terjadi peningkatan kadar kreatinin.

Tubulus merupakan bagian dari sistim nefron yang bertugas untuk mereabsorpsi zat-zat yang masih diperlukan oleh tubuh dan mensekresi zat-zat yang sudah tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Tubulus mengandung banyak mitokondria karena tubulus bekerja untuk melakukan transport aktif (Wikipedia, 2007). Transport aktif memerlukan banyak energi sehingga keberadaan mitokondria pada tubulus sangat penting, mengingat bahwa tubulus bekerja untuk mengatur keseimbangan ion dalam tubuh (Mas'ud, 1995). Kerusakan pada mitokondria tubulus dapat mengakibatkan gangguan pada sistim keseimbangan ion tubuh. Menurut Baraas (2006), iskemia yang terjadi pada sel dapat merusak sistim kerja dari mitokondria.

Iskemia merupakan suatu fase kurangnya suplai oksigen ke dalam tubuh akibat terganggunya darah oleh suatu zat (Wikipedia, 2008^b). Ischemia dapat mengakibatkan deplesi ATP yang berarti mengganggu transport ion pada kanal ion membran sel. Rusaknya kanal ion membran sel dapat mengakibatkan sel tersebut nekrosis (Baraas, 2006). Kerusakan tubulus akibat nekrosis dinamakan *Acute Tubular Nekrosis* (ATN) (Effendi *et al.*, 1981).

Tabel 6. Kerusakan Ginjal Induk Mencit Secara Mikroskopis

Perlakuan	Kerusakan			
	Infiltrasi limfosit	Pendarahan	Pelebaran saluran kemih	Nekrosis Tubulus
Kontrol	-	-	-	-
0,2 ppm ikan	-	-	+	-
0,5 ppm ikan	-	-	+	+
0,2 ppm ikan berformalin	-	-	+	+
0,5 ppm ikan berformalin	-	-	+	+
0,2 ppm formalin	-	-	+	+
0,5 ppm formalin	-	-	+	+

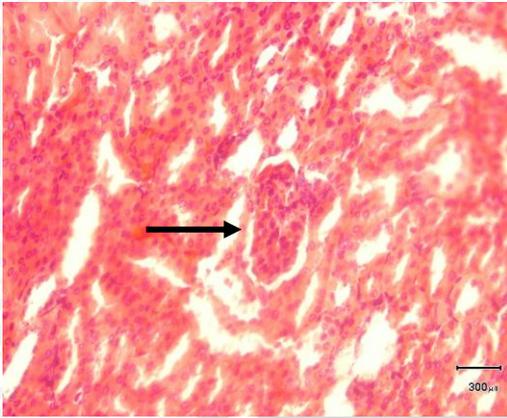
Keterangan. - : tidak terjadi, + : terjadi

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

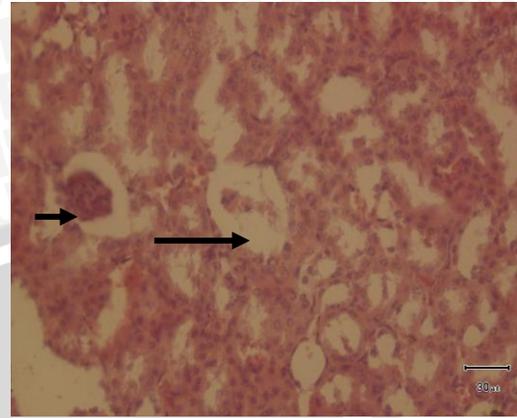
4.1 Pengamatan Mikroskopis

4.1.2 Glomerulus

Dari pengamatan yang dilakukan secara mikroskopis terhadap preparat ginjal, diperoleh gambaran sebagai berikut : untuk kelompok kontrol, glomerulus tampak normal sebagai suatu massa yang bulat dan tersusun atas sel-sel endotel kapiler glomerulus berisi eritrosit, terdapat di dalam Kapsula Bowman dengan lapisan visceral dan parietal Kapsula Bowman yang terdiri dari epithelium pipih selapis, Di sekitar glomerulus terdapat tubulus. Glomerulus normal ditunjukkan oleh gambar 5 (tanda panah menunjukkan glomerulus sehat). Glomerulus yang normal tidak terjadi pembesaran saluran kemih dan pengecilan kapiler glomerulus. Glomerulus yang normal terlihat dialiri oleh darah. Gambar 6 menunjukkan kerusakan glomerulus yang ditandai oleh pelebaran saluran kemih. Menurut gallo *et al.* (1980) kerusakan yang terjadi pada glomerulus ditandai dengan pelebaran saluran kemih mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis*. kerusakan pada glomerulus akibat paparan ikan berformalin ditunjukkan oleh gambar 6 (tanda panah menunjukkan kerusakan glomerulus). Glomerulus yang rusak terlihat mengecil dan saluran kemihnya membesar, hal ini diakibatkan karena hilangnya sel *podocyte*. Sel *podocyte* yang berfungsi sebagai filter plasma darah pada glomerulus rentan rusak akibat iskemia. Rusaknya sel *podocyte* mengakibatkan lolosnya zat-zat yang masih diperlukan oleh tubuh seperti protein dan kreatinin



Gambar 5. Glomerulus normal
(Haematoxylin-Eosin, 400X)



Gambar 6. *Glomerulonephritis sclerosus*
(Haematoxylin-Eosin, 400X)

Pengamatan terhadap kerusakan yang terjadi pada ginjal akibat perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada tabel 7. Pelebaran saluran kemih dan nekrosis tubulus mengindikasikan bahwa ginjal mencit rusak akibat paparan formalin. Pelebaran saluran kemih hanya terdapat pada perlakuan kontrol negatif (0,2 ppm ikan dan 0,5 ppm ikan), 0,2 ppm dan 0,5 ppm ikan berformalin, dan kontrol positif (0,2 ppm formalin dan 0,5 ppm formalin). Nekrosis tubulus terjadi pada semua perlakuan yang diberikan kepada mencit. Pendarahan dan infiltrasi limfosit tidak terjadi pada semua perlakuan yang diberikan kepada mencit. Tidak terjadinya pendarahan dan infiltrasi ginjal mencit mengindikasikan bahwa tingkat kerusakan belum parah. Infiltrasi limfosit merupakan peristiwa masuknya sel limfosit ke dalam jaringan sebagai respon terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Hasil pengamatan kerusakan ginjal secara mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Kerusakan pada ginjal mencit

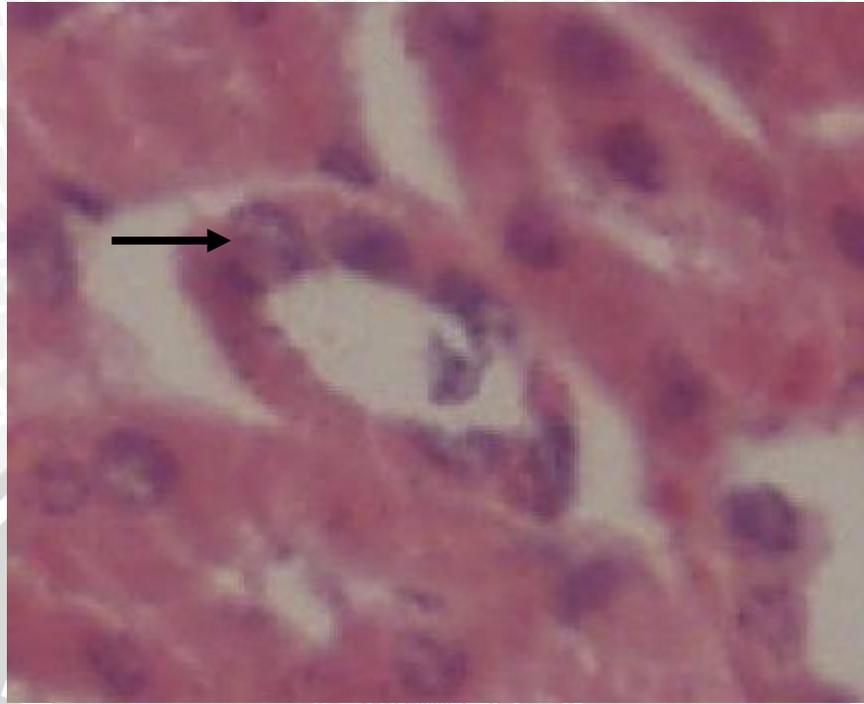
Perlakuan	Kerusakan			
	Infiltrasi limfosit	Pendarahan	Pelebaran saluran kemih	Nekrosis Tubulus
Kontrol	-	-	-	-
0,2 ppm ikan	-	-	+	++
0,5 ppm ikan	-	-	+	++
0,2 ppm ikan berformalin	-	-	+	++
0,5 ppm ikan berformalin	-	-	+	++
0,2 ppm formalin	-	-	+	++
0,5 ppm formalin	-	-	+	+++

Keterangan:

- : tidak terjadi
- + : kerusakan 0 – 15%
- ++ : kerusakan 16 – 35%
- +++ : kerusakan 36 – 50%
- ++++ : kerusakan > 50%

4.1.2 Tubulus

Sedangkan hasil pengamatan tubulus dapat dilihat pada Gambar 7 menunjukkan terjadinya *Acute Tubular Necrosis* (ditunjukkan oleh tanda panah). *Acute Tubular Necrosis* ditandai dengan hilangnya inti sel dari badan sel. Hal ini diakibatkan oleh pecahnya sel yang mengakibatkan enzim autolisis yang terkandung dalam lisosom berhamburan keluar. Enzim autolisis yang keluar dari sel akan memecah organel-organel sel yang terdapat di dalam sel menjadi lebih sederhana.



Gambar 7. Nekrosis sel tubulus (*Haematoxylin-Eosin*, 400X)

Uji LSD dilakukan untuk melihat pengaruh antara perlakuan dengan setiap kontrol yang diberikan kepada mencit. Uji LSD menghasilkan tabel perbandingan ganda nekrosis tubulus yang dapat digunakan untuk melihat perbandingan antara perlakuan dengan kontrol yang diberikan. Tabel perbandingan ganda nekrosis tubulus dapat dilihat pada Tabel 8. Tabel perbandingan berganda menunjukkan bahwa Dari hasil analisa statistik menggunakan uji LSD menunjukkan perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol, kontrol positif (0,2 ppm formalin), dan kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Sedangkan pada perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata dengan kontrol ($p < 0.05$), kontrol positif (0,5 ppm formalin), dan kontrol negatif (0,5 ppm ikan). Menurut Effendi *et al.* (1981) tubulus ginjal mencit sangat rentan terhadap fase iskemia, dimana formalin bebas dapat mengakibatkan fase iskemia apabila masuk ke dalam tubuh. Formalin bebas dapat membloking sistim kerja dari darah untuk

mensuplai oksigen ke jaringan dan menyebabkan se-sel darah merah menjadi *immatur* (berkurangnya kemampuan darah untuk mengangkut oksigen). Menurut Fatimah (2006), paparan kronis formalin menyebabkan menurunnya kadar elektrolit intra dan ekstrasel, disintegrasi sel, meningkatnya kekentalan darah, dan meningkatnya jumlah sel darah merah yang immatur, di mana kemampuannya dalam mengikat oksigen belum sempurna. Sel darah immatur merupakan suatu peristiwa dimana kemampuan darah untuk mengikat oksigen berkurang akibat adanya formaldehid. Peristiwa tersebut terjadi karena formaldehid memiliki berat molekul yang lebih rendah dibandingkan dengan oksigen.

Tabel 8. Tabel Perbandingan Ganda Nekrosis Tubulus

Perlakuan	Kontrol	P
0,2 ikan berformalin	kontrol	0,000 (*)
	0,2 ikan	0,000 (*)
	0,2 formalin	0,000 (*)
0,5 ikan berformalin	kontrol	0,000 (*)
	0,5 ikan	0,000 (*)
	0,5 formalin	0,000 (*)

(*) Berbeda nyata

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol positif (0,2 ppm formalin). Diduga pemberian formalin ke tubuh ikan menyebabkan terjadinya ikatan antara formalin dengan protein tubuh ikan, sehingga formalin bebas yang terkandung di dalam perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (0,2 ppm formalin). Ada kemungkinan formalin lebih toksik dibandingkan ikan berformalin. Hal ini diduga bahwa pada efek toksik ikan berformalin telah berkurang karena formalin telah bereaksi dengan protein ikan. Menurut Kiernan (2000), kelompok aldehid dapat berikatan dengan nitrogen dan atom protein, atau dengan dua atom jika keduanya

menutup bersama, pembentukan ikatan silang $-\text{CH}_2-$ disebut jembatan metilen (*methylene bridge*).

Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Diduga didalam tubuh ikan terkandung senyawa bersifat racun selain formalin. Perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol negatif (0,2 ppm formalin). Diduga pemberian formalin ke tubuh ikan menyebabkan terjadinya ikatan antara formalin dengan protein tubuh ikan, sehingga formalin bebas yang terkandung di dalam perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (0,2 ppm formalin). Apabila formalin bereaksi dengan makanan misalnya ikan, gugus aldehid spontan bereaksi dengan protein dalam makanan (misalnya ikan). Namun bila formaldehid habis bereaksi maka sifat racun formalin akan hilang. Makanan berformalin akan beracun bila didalamnya mengandung sisa formaldehid bebas (yang tidak bereaksi) hampir selalu ada dan sulit dikendalikan. Itulah sebabnya formalin untuk pengawetan makanan tidak dianjurkan karena sangat beresiko (Nurachman, 2006).

Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol negatif (0,5 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa 0,5 ppm ikan berformalin berpengaruh terhadap kerusakan tubulus ginjal. Diduga perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan fase iskemia sehingga tubulus ginjal mengalami nekrosis. Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berpengaruh nyata terhadap kontrol positif (0,5 ppm formalin), mengindikasikan bahwa paparan formalin yang lebih tinggi dapat mempengaruhi kerusakan tubulus ginjal menciit. Diduga perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin mengandung formalin bebas lebih rendah dibandingkan dengan 0,5 ppm formalin sebagai kontrol positif karena formalin yang diberikan kepada ikan bereaksi dan menurunkan kadar formalin bebasnya. Turunnya kadar formalin bebas pada

perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan tingkat kerusakan yang tidak parah dibandingkan dengan kontrol positif. Conaway *et al.* (1996) dalam Schulte *et al.*, (2006), menambahkan bahwa formalin mudah berikatan dengan protein, dimana ikatan antara protein dengan formalin tidak mudah putus dan bersifat *irreversible*.

4.2 Uji Kreatinin

Kreatinin adalah suatu zat sisa metabolisme yang terbentuk dari hasil pemecahan kreatin dalam rangkaian proses perubahan makanan menjadi energi. Kreatinin dikeluarkan dari dalam tubuh melalui ginjal. Kadar yang meninggi di dalam darah dapat menjadi indikasi dari berkurangnya fungsi ginjal (Geocities, 2000). Kadar kreatinin merupakan salah satu tes fungsi ginjal. Kreatinin secara eksklusif diekskresi melalui ginjal, terutama melalui proses filtrasi glomerulus dan sedikit sekali melalui sekresi tubulus (Noer, 2006).

Uji LSD dilakukan untuk melihat pengaruh antara perlakuan dengan setiap kontrol yang diberikan kepada mencit. Uji LSD menghasilkan tabel perbandingan ganda kreatinin yang dapat digunakan untuk melihat perbandingan antara perlakuan dengan kontrol yang diberikan. Tabel perbandingan ganda kreatinin dapat dilihat pada Tabel 9. Tabel perbandingan berganda menunjukkan bahwa perlakuan 0,2 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol positif (0,2 ppm formalin) dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif (0,2 ppm ikan). Perlakuan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata terhadap kontrol dan kontrol positif (0,5 ppm formalin) dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif (0,5 ppm ikan). Analisis statistik pengaruh perlakuan terhadap nekrosis ginjal dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel 9. Tabel Kreatinin

Perlakuan	Kontrol	P
0,2 ikan berformalin	Kontrol	0,000 (*)
	0,2 ikan	0,055
	0,2 formalin	0,000 (*)
0,5 ikan berformalin	Kontrol	0,000 (*)
	0,5 ikan	0,0559
	0,5 formalin	0,000 (*)

(*) Berbeda nyata

Pada perlakuan 0,2 dan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata dengan kontrol positif (0,2 dan 0,5 ppm formalin) mengindikasikan bahwa paparan formalin yang lebih tinggi dapat mempengaruhi kerusakan glomerulus ginjal mencit. Diduga perlakuan 0,2 dan 0,5 ppm ikan berformalin mengandung formalin bebas lebih rendah dibandingkan dengan 0,2 dan 0,5 ppm formalin sebagai kontrol positif karena formalin yang diberikan kepada ikan bereaksi dan menurunkan kadar formalin bebasnya. Turunnya kadar formalin bebas pada perlakuan 0,2 dan 0,5 ppm ikan berformalin menyebabkan tingkat kerusakan yang tidak parah dibandingkan dengan kontrol positif. Conaway *et al.* (1996) dalam Schulte *et al.*, (2006), menambahkan bahwa formalin mudah berikatan dengan protein, dimana ikatan antara protein dengan formalin tidak mudah putus dan bersifat *irreversible*. Kiernan (2000), kelompok aldehid dapat berikatan dengan nitrogen dan atom protein, atau dengan dua atom jika keduanya menutup bersama, pembentukan ikatan silang $-CH_2-$ disebut jembatan metilen (*methylene bridge*).

Pada perlakuan 0,2 dan 0,5 ppm ikan berformalin tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (0,2 dan 0,5 ppm ikan) yang mengindikasikan bahwa di dalam tubuh ikan terdapat senyawa lain yang dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan glomerulus ginjal dan bersifat toksikan. Pada perlakuan 0,2 dan 0,5 ppm ikan berformalin berbeda nyata dengan kontrol mengindikasikan bahwa 0,2 ppm ikan berformalin mempengaruhi

kerusakan ginjal menciit, khususnya pada glomerulus. Diduga formalin bebas yang terkandung dalam tubuh ikan berformalin membloking sistim kerja dari darah untuk mengangkut oksigen sehingga jaringan ginjal khususnya glomerulus yang rentan terhadap fase iskemia (kurangnya jaringan karena suplai oksigen) rusak. Menurut Nurrachman (2005), makanan berformalin akan beracun hanya jika di dalamnya mengandung sisa formaldehid bebas.

Data kreatinin menunjukkan beda nyata pada setiap perlakuan, tetapi kadar kreatinin yang diukur masih dalam batas ambang normal sesuai dengan pernyataan Kusumawati (2004). Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan bahwa terjadi kerusakan pada glomerulus ginjal sehingga kreatinin dapat lolos dari sistim filtrasi glomerulus. Kerusakan yang terjadi akibat paparan ikan berformalin dosis sangat rendah belum menunjukkan kerusakan yang parah pada glomerulus ginjal meski telah terjadi peningkatan kadar kreatinin. kadar kreatinin menciit normal berkisar antara 0,30-1,00 mg/dl.

4.3 Analisa Turunan

Dari hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya (induk) menunjukkan adanya peningkatan jumlah nekrosis pada sel tubulus, peningkatan kadar kreatinin. Metabolit yang terbentuk dari metabolisme racun terkadang lebih toksik dari pada zat kimia induknya. Aksi racun atas tempat aksi tertentu di dalam tubuh akan ditanggapi dengan berbagai respon biokimia, respon dan perubahan fisiologi (fungsional) dan respon hispatologi dan perubahan struktural. Bentuk respon-respon tersebut dapat berupa berupa sintesis protein, pergeseran system hormonal, perubahan tekanan darah, kontraksi otot, nekrosis, karsinogenesis dan sebagainya (Donatus, 2001).

Pemaparan berulang dan penumpukan racun pada tubuh hewan uji induk mencit diduga sebagai penyebab timbulnya efek toksik seperti naiknya kadar kreatinin pada anak mencit sebagai indikasi adanya kerusakan pada ginjal. Intensitas dan lama pemaparan merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi ketoksikan suatu racun selain jenis, jalur dan waktu pemaparan. Racun didalam tubuh yang sulit dimetabolisme akan disimpan didalam gudang penyimpanan. Gudang penyimpanan tersebut berupa protein, lemak, tulang dan enzim. Efek toksik akibat pemejanan yang kronis terjadi bila racun menumpuk didalam tubuh (Donatus, 2001). Dalam masa kehamilan dan menyusui pada mencit, nutrisi yang diperoleh dari induk sangat mempengaruhi perkembangbiakan anak mencit. Pada saat kehamilan janin mendapatkan nutrisi dari plasenta sehingga nutrisi yang diperoleh induk mencit sangat berpengaruh terhadap perkembangan janin (meikle and westberg, 2001).

Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya cacat genetik yang jelas, akan tetapi pada hewan uji mengalami kenaikan jumlah nekrosis sel pada tubulus dan kenaikan kadar kreatinin yang mengindikasikan bahawa ginjal telah mengalami kerusakan. Formaldehyde dapat mengakibatkan kerusakan gen, dan mutasi yang dapat diwariskan (Nurachman, 2005). Formaldehid yang bereaksi dengan DNA atau RNA akan mengacaukan data informasi genetik dan menyebabkan penyakit-penyakit genetik baru yang mungkin akan muncul. Bila gen-gen rusak itu diwariskan, maka akan terlahir generasi dengan cacat gen. Bila sisi aktif dari protein-protein vital dalam tubuh dimatikan oleh formaldehid, maka molekul-molekul itu akan kehilangan fungsi dalam metabolisme. Akibatnya, kegiatan sel akan terhenti (Nurachman, 2005).

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

- Pemberian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berformalin 0,2 ppm dan 0,5 ppm berpengaruh terhadap kerusakan ginjal anak mencit (*Mus musculus*).
- Kerusakan yang terjadi pada ginjal yaitu nekrosis pada tubulus dan pelebaran saluran kemih pada glomerulus.
- Kerusakan glomerulus mengarah pada *glomerularnephritis sclerosis* dan kerusakan yang terjadi pada tubulus mengarah pada *acute tubular necrosis*.
- Kerusakan glomerulus berpengaruh pada kadar kreatinin. Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan terjadi kerusakan sistem filtrasi glomerulus.

5.2 Saran

Bagi para konsumsi ikan serta para peneliti diharapkan dapat memahami bahwa konsumsi ikan berformalin sangat berbahaya bagi tubuh walaupun tidak secara langsung memberikan efek keracunan dan kematian yang akan terjadi dalam waktu yang lama apabila terus menerus dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005^a. Masyarakat Sendiri Suka Formalin. <http://www.kompas.com>. Diakses 14 Desember 2007 pukul 21.00 WIB.
- _____. 2005^b. Bahan Berbahaya yang Dilarang untuk Pangan. <http://www.indonesia.go.id> Diakses tanggal 10 Maret 2007 pukul 21.00 WIB.
- _____. 2007. Nephron. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008 pukul 21.00 WIB.
- _____. 2007^a. Formalin. <http://www.pom.go.id>. Diakses tanggal 3 Mei 2008 pukul 21.00 WIB.
- _____. 2007^b. Formaldehida. Wikipedia edisi bahasa Indonesia. <http://id.wikipedia.org/wiki/Formalin> Diakses tanggal 28 Maret 2008 pukul 21.00 WIB.
- _____. 2008^a. Memahami fakta Dibalik Ginjal. <http://surabayamazing.blogspot.com/2007/11/apakah-fungsi-ginjal.html>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- _____. 2008^b. Anatomy of Kidney. <http://www.comprehensive-kidney-facts.com/kidney-anatomy.html>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- _____. 2008c. Glomerulonefritis. <http://www.gamewood.net/rnet/renalpath/tut51e.jpg>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Ariks. 2006. Kami Terpaksa Menggunakan Formalin. www.cybertokoh.com/mod/php. Diakses pada tanggal 18 Mei 2008 pukul 21.00 WIB.
- Baraas, Faisal. Apoptosis Charming to Death. <http://www.dietary.go.id/>. Diakses tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Bellenger, B. L. 2005. Animal Diversity. www.animaldiversity.ummz.umich.edu/information. Diakses tanggal 26 desember 2008 pukul 08.30 WIB.
- Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. PT. Bumi Aksara. Jakarta.

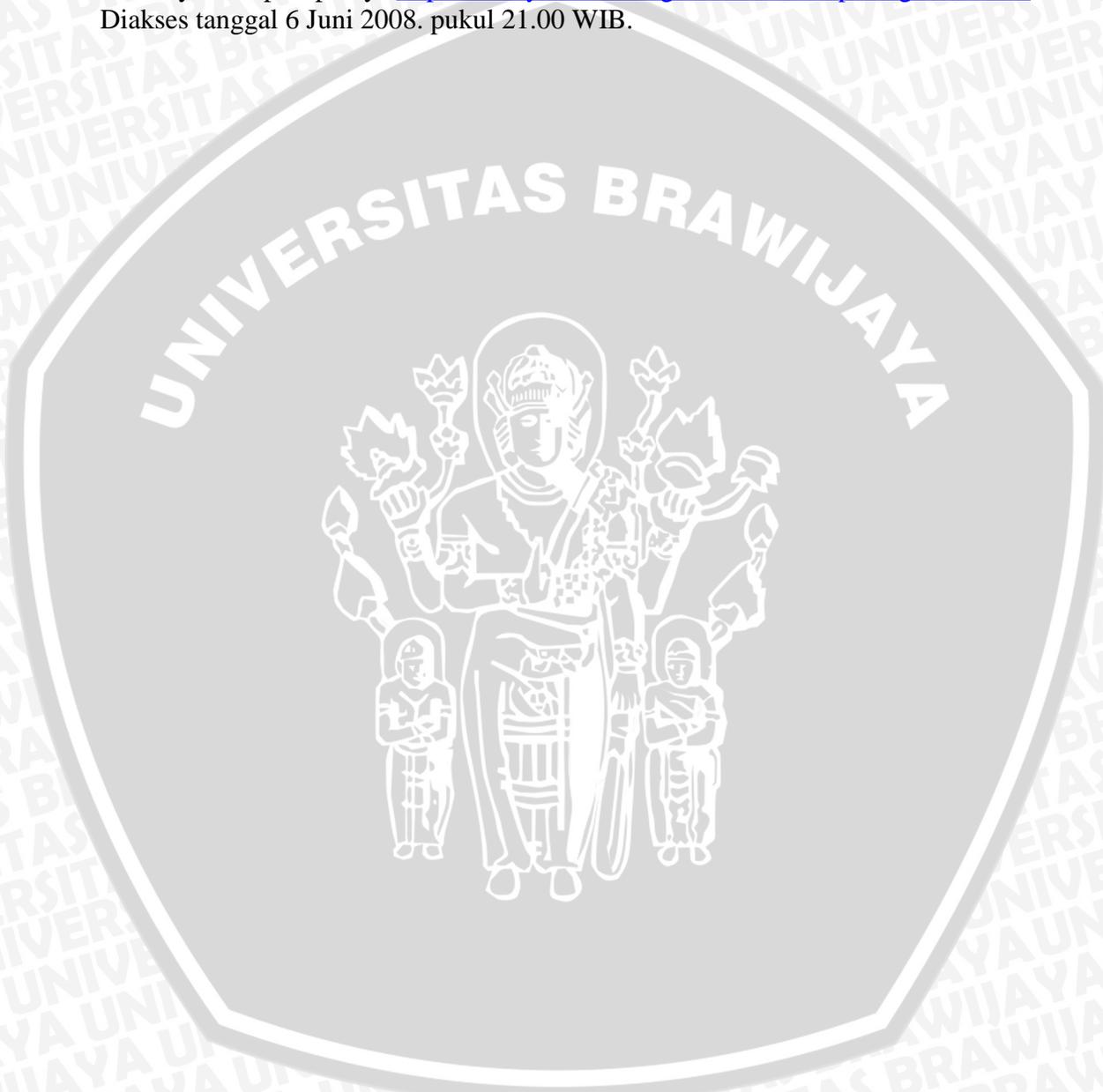
- DKP. 2005. Dalam Rangka Program Aksi 100 Hari, DKP Panen Raya INBUDKAN Nila di Kabupaten Subang. Ditjen Perikanan Budidaya. <http://www.dkp.go.id>. Diakses tanggal 28 November 2008 pukul 21.00 WIB.
- Dolaria, N. 2003. Komposisi Kimia Beberapa Jenis Ikan Segar dan Hasil Olahannya. Departemen Kelautan dan Perikanan RI. <http://www.dkp.go.id>. Diakses tanggal 28 November 2007 pukul 21.00 WIB.
- Effendi, H., Jazir, J., Lubis, H. R., Hoesodowidjojo, S. 1981. Fisiologi dan Pathofisiologi Ginjal. IKAPI. Bandung.
- Eroschenko, V. P. 2003. Atlas Histolgi. Universitas Pelita Harapan. Jakarta.
- Fatimah. 2006. Ada Apa Dengan Formalin. <http://www.percikan-iman.com/mapi/>. Diakses pada tanggal 29 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Fendy. Selamat Datang di Media Ilmu Science For Biology Education. <http://pangeran-biologyforum.com/2007/11/blog-post.html>. Diakses tanggal 13 Juli 2008 pukul 04.30 WIB.
- Fischer. 2008. The Toxic Effect of Formaldehyde and Formaline. www.medline.org. Diakses tanggal 10 Agustus 2007 pukul 04.30 WIB.
- Gallo, G.R., Fienner, H.D., Gluck, M.C., Baldwin, G.S. 1980. Role of intrarenal vascular sclerosis in progression of poststreptococcal glomerulonephritis. www.ncbi.nlm.nih.gov. Diakses tanggal 10 desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Guyton, A. C. dan Hall J. E. 1997. Fisiologi Kedokteran. Universitas Pelita Harapan. Jakarta.
- Guo, J.K., Schedl, A., Krause S.D. 2006. Bone Marrow Transplantation Can Attenuate the Progression of Mesangial Sclerosis. <http://stemcells.alphaamedpress.org>. Diakses tanggal 13 Juli 2008 pukul 04.30 WIB.
- Harper, H.A. 1979. Biokimia. 7th edition. Penerbit Buku Kedokteran E.G.C., Jakarta
- Indra, M. R. 2006. Fisiologi Ginjal. Laboratorium Ilmu Faal FK UNIBRAW. Universitas Brawijaya Malang.
- Irawan, H. 2008. Sistem Kemih. <http://panji1102.com/2008/03/sistem-kemih.html>. Diakses tanggal 13 Juli 2008 pukul 04.30 WIB.
- Judarwanto, W. 2006. Pengaruh Formalin Bagi Sistem Tubuh. Rumah Sakit Bunda Jakarta. www.Puterakembara.com. Diakses tanggal 19 September 2007 pukul 21.00 WIB.

- Kiernan, J.A. 2004. Effect of Formaldehyde in Fixation. www.shoun.laboratory.co.id. Diakses tanggal 28 Agustus 2007 pukul 04.30 WIB.
- Kirslam. 2006. Bahaya Formalin dalam Makanan. <http://www2.rnw.nl/>. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04,30 WIB.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. Penerjemah Edi Nugroho, Zunilda S. B, dan Iwan Darmansyah. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Mas'ud, Ibnu. 1984. pengantar Belajar Dasar-Dasar Ilmu Faal Ginjal. Universitas Brawijaya. Malang.
- Meikle D and Westberg. 2001. Maternal Nutrition and Reproduction of Daughter In Wild House Mice (Mus musculus). www.reproduction.online.org. diakses tanggal 26 desember 2008 pikul 08.30 WIB.
- Migliore L, L ventura, R barale, N Loprieno, S costellino, R dolci. 1989. Micronuclei And Nuclear Anomalies Induced In The Gastrointestinal Epithelium Of Rats Treated With Formaldehyd.
- Montemayor, E. 2003. Kidney with Acute Tubular Necrosis. http://www.tigerpath.com/unit_06.htm. Diakses tanggal 14 Februari 2008 pukul 21.00 WIB.
- Murray, R.K, D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2003. Biokimia Harper. Alih Bahasa A. Hartono. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Murniyati , A. S dan Sunarman. 2000. Pendinginan, Pembekuan Dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta
- Naria, E. 2004. Resiko Pemajanan Formaldehyd Sebagai Bahan Pengawet Tekstil Di lingkungan Kerja. Bagian Kesehatan Lingkungan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara. USU digital library. Diakses tanggal 19 September 2007 pukul 21.00 WIB.
- Nashihah,M. 2004. *Awas, bahaya Formalin*. <http://www.google.com> Diakses tanggal 14 Februari 2008 pukul 21.00 WIB.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. PT Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Noer, M.S. 2006. Evaluasi fungsi ginjal secara laboratorik. Lab - SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.

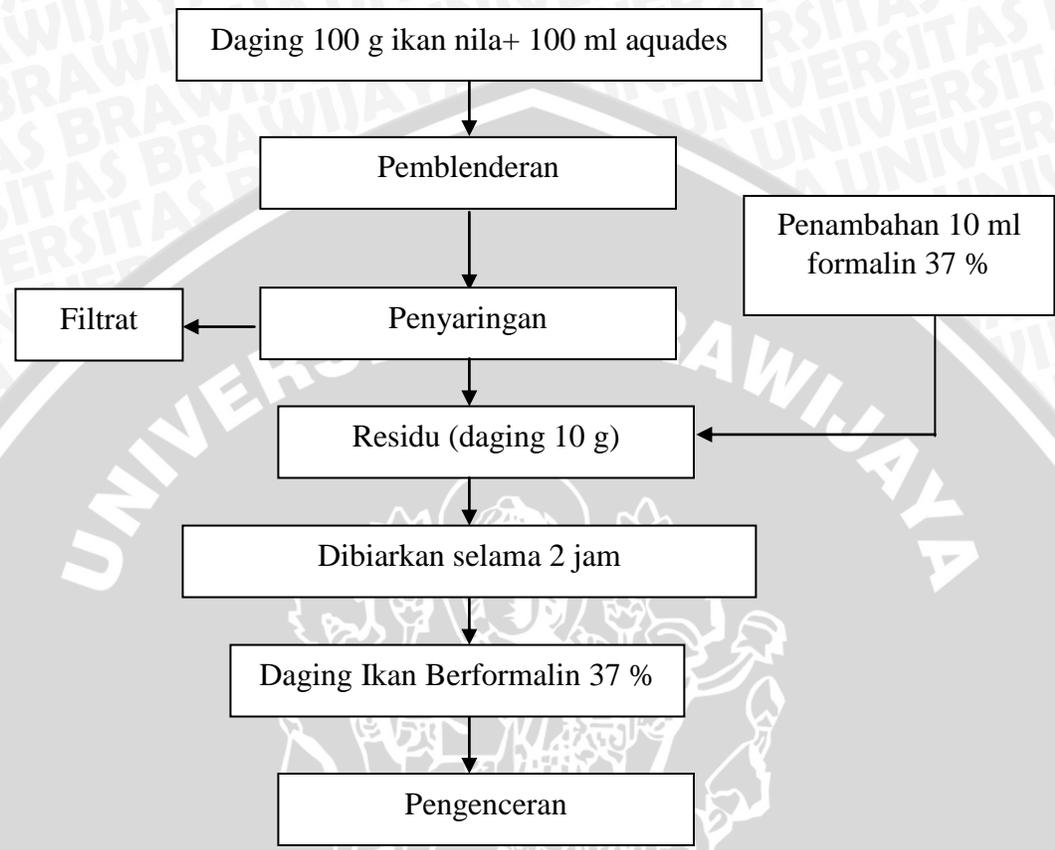
- Nurachman, Z. 2005. Formalin. www.tonangardyanto.com/. Diakses tanggal 28 Desember 2007 pukul 04.30 WIB.
- Parni. 2008. Jangan Biarkan Ginjal Mengganjal. http://www.sahabatginjal.com/display_articles.aspx?artid=1. Diakses tanggal 14 Februari 2008 pukul 21.00 WIB.
- Prihatman, Kemal. 2000. Budidaya Ikan Nila (Oreochromis Niloticus). <http://www.digilib.brawijaya.ac.id/>. Diakses tanggal 13 Mei 2008 pukul 05.00 WIB.
- Schulte, Herausgegeben von A., Madle, U.B.S., Mielke, H., Herbst, U., H.-B. Richter-Reichhelm, Appel, K.E., U. Gundert-Remy. Assessment of the Carcinogenicity of Formaldehyde [CAS No. 50-00-0]. <http://www.bfr.bund.de/>. Diakses tanggal 12 Januari 2008 pukul 20.00 WIB.
- Singarimbun, M dan S. Effendi. 1983. Metodologi Penelitian Survei. Lembaga Penelitian Peneranga Sosial. Matahari Bhakti. Jakarta.
- Studzinski, G.P. 1995. Cell Growth and Apoptosis. New Jersey Medical School. New Jersey.
- Suryabrata, Sumadi. 1988. Metodologi Penelitian. CV. Rajawali. Jakarta
- Tafakur. 2006. [Formalin..... Hati-Hati Lho....](http://www.tafakur2005.blogspot.com) www.tafakur2005.blogspot.com. Diakses tanggal 6 februari 2008 pukul 21.00 WIB.
- Wartamedika. 2007. Bahaya Penggunaan Formalin. www.wartanet.org/formalin.or.id. Diakses tanggal 6 februari 2008 pukul 21.00 WIB.
- Widjaja, K.A. 2006. Mengenal Formalin dan Bahayanya. <http://www.wismamas.tk>. Diakses tanggal 19 September 2006.
- Wikipedia. 2006. Formaldehyde. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.
- _____. 2007. Nephron. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.
- _____.^a. 2008. Glomerularnephritis. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.
- _____.^b. 2008. Ischemic Heart Disease. www.wikipedia.org/. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.

Winarya, I. B. O dan I. N Suarsana. 2005. Perubahan Morfologi Hati dan Ginjal Yang Diinduksi Karbontetraklorida (CCl_4). Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar.

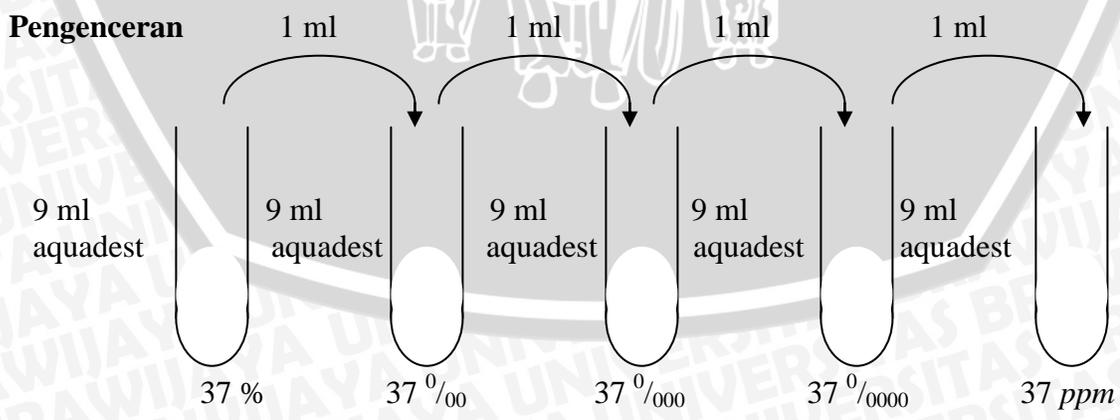
Zheng, L Zheng, Y Wang, H Wu, L Kairaitis, C Zhang, Y-C Tay, Y Wang, S I Alexander and D C H Harris. NK cells do not mediate renal injury in murine adriamycin nephropathy. <http://kidney.niddk.nih.gov/kudiseases/pubs/glomerular/>. Diakses tanggal 6 Juni 2008. pukul 21.00 WIB.



Lampiran 1 Prosedur Pembuatan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan Berformalin



Gambar 5. Prosedur Pembuatan Larutan Ikan Nila Berformalin



Gambar 6. Prosedur Pengenceran Larutan Formalin 37 ppm

Setelah dilakukan pengenceran, untuk mencapai kadar yang ditentukan maka dicari dengan rumus $V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$. Rincian dari rumus tersebut adalah sebagai berikut:

V_1 adalah volume awal larutan yang dicari

K_1 adalah konsentrasi larutan setelah diencerkan

V_2 adalah volume akhir larutan yang dikehendaki

K_2 adalah konsentrasi larutan yang dikehendaki

Diketahui volume akhir ikan berformalin dengan konsentrasi 0,2 ppm dan 0,5 ppm yang diperlukan adalah 100 ml, konsentrasi awal yang didapatkan setelah pengenceran adalah sebesar 37 ppm, maka perhitungan besarnya volume awal yang akan diencerkan adalah sebagai berikut:

- 0,2 ppm Ikan Berformalin

$$V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$$

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

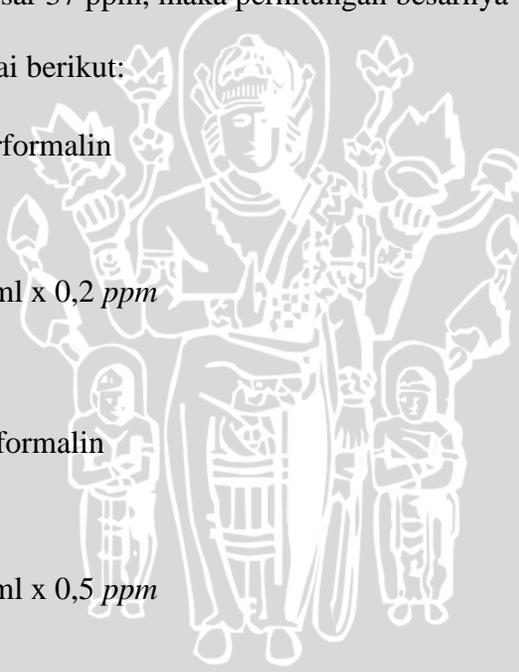
$$V_1 = 0,54 \text{ ml}$$

- 0,5 ppm ikan berformalin

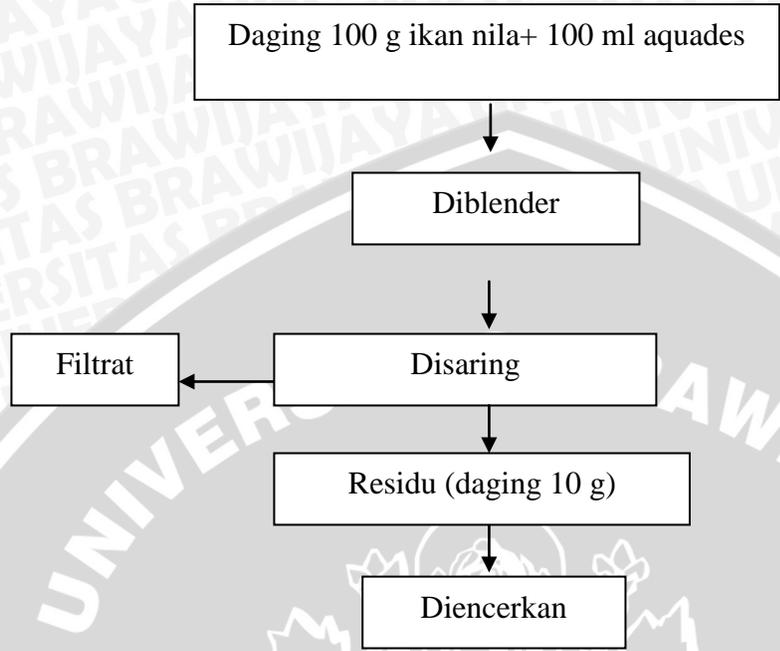
$$V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$$

$$V_1 \times 37 \text{ ppm} = 100 \text{ ml} \times 0,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,35 \text{ ml}$$



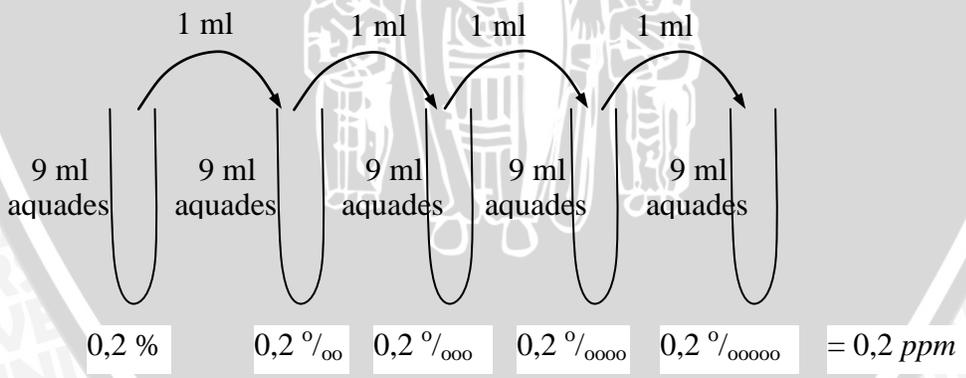
Lampiran 2. Prosedur Pembuatan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan



Gambar 7. Prosedur Pembuatan Larutan 0,2 ppm dan 0,5 ppm Ikan

Pengenceran

Proses pengenceran 0,2 ppm 0,5 ppm ikan nila adalah sebagai berikut:



Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ikan Berformalin dan Volume Cekok yang Diberikan pada Mencit

Dari hasil penelitian Rahmawati (2007) ikan mengandung 148,325 ppm formalin, sedangkan konsumsi ikan 71,23 g/hr dan berat badan manusia 50 kg, maka penentuan dosis 0,2 ppm dapat diperoleh dari:

$$\begin{aligned} \text{Dosis ikan berformalin} &= \frac{\text{konsentrasi} \times \text{berat ikan}}{\text{berat badan}} \\ &= \frac{148,325 \text{ ppm} \times 71,23 \text{ g/hari}}{50 \text{ kg}} \\ &= \frac{148,325 \text{ mg/kg} \times 71230 \text{ mg}}{50.000.000 \text{ mg}} \\ &= 0,2 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Volume cekok yang diberikan untuk berat mencit 20 g

$$\begin{aligned} &= \frac{20 \text{ g} \times 0.0002 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \\ &= 0,000004 \text{ g} \\ &= 0.004 \text{ mg} \\ &= 0.004 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jika berat jenis formaldehid ekuivalen dengan berat jenis air, maka 1 ml formalin= 1mg.

Sehingga volume 0.2 ppm formalin sebanyak 0.004 ml = 0,02 ppm dalam air 0,04 ml.

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

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

Konsentrasi 0,5 ppm diasumsikan karena ikan mengandung 350 ppm formalin, sedangkan konsumsi ikan masyarakat diperkirakan 71,23 g/hr dan berat badan manusia 50 kg, maka penentuan dosis 0,5 ppm dapat diperoleh dari:

Dosis ikan berformalin = (konsentrasi x berat ikan) / berat badan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{350 \text{ ppm} \times 71,23 \text{ g/hari}}{50 \text{ kg}} \\
 &= \frac{350 \text{ mg/kg} \times 71230 \text{ mg}}{50.000.000 \text{ mg}} \\
 &= 0,5 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Besarnya volume cekok yang diberikan berdasarkan berat mencit setiap harinya.

Adapun penentuan volume cekok yang diberikan pada berat rata-rata mencit 20 g adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 \text{Formalin } 0,5 \text{ ppm} &= 0,5 \text{ mg} / 1000.000 \text{ mg} \\
 &= 0,0005 \text{ g/Kg} \\
 \text{Berat rata-rata mencit (20 g)} &= 20 \text{ g} \times 0,0005 \text{ g/1000 g} \\
 &= 1 \times 10^{-5} \text{ g} \\
 \text{Volume cekok mencit (20g)} &= 1 \times 10^{-2} \text{ mg} \\
 \text{Volume cekok mencit (20g) } 0,5 \text{ ppm} &= 1 \times 10^{-2} \text{ ml} \\
 &= 0,01 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jika berat jenis formaldehid ekuivalen dengan berat jenis air, maka 1 ml formalin = 1 mg. Sehingga volume 0.5 ppm formalin sebanyak 0.01 ml.

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

$$= \frac{\text{berat badan mencit}}{\text{berat rata-rata mencit (20 g)}} \times 0,01 \text{ ml}$$

Besarnya volume larutan yang diberikan berdasarkan berat badan masing-masing mencit.

Lampiran 4. Skema pembuatan spesimen

**Mencit
dibus, dibedah
diambil organ ginjal**



Fiksasi
direndam dalam larutan fiksatif yang digunakan adalah bufer netral formalin pH 7, formalin 37-40% formaldehid 100 ml, Na_2PO_4 6.5 g, $\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ 4 g, aquades 900 mL) selama 1 jam



Dehidrasi
dimasukkan dalam larutan alkohol
alkohol 70% selama 1 jam
alkohol 80% selama 1 jam
alkohol 90% selama 1 jam
alkohol 100% selama 1 jam



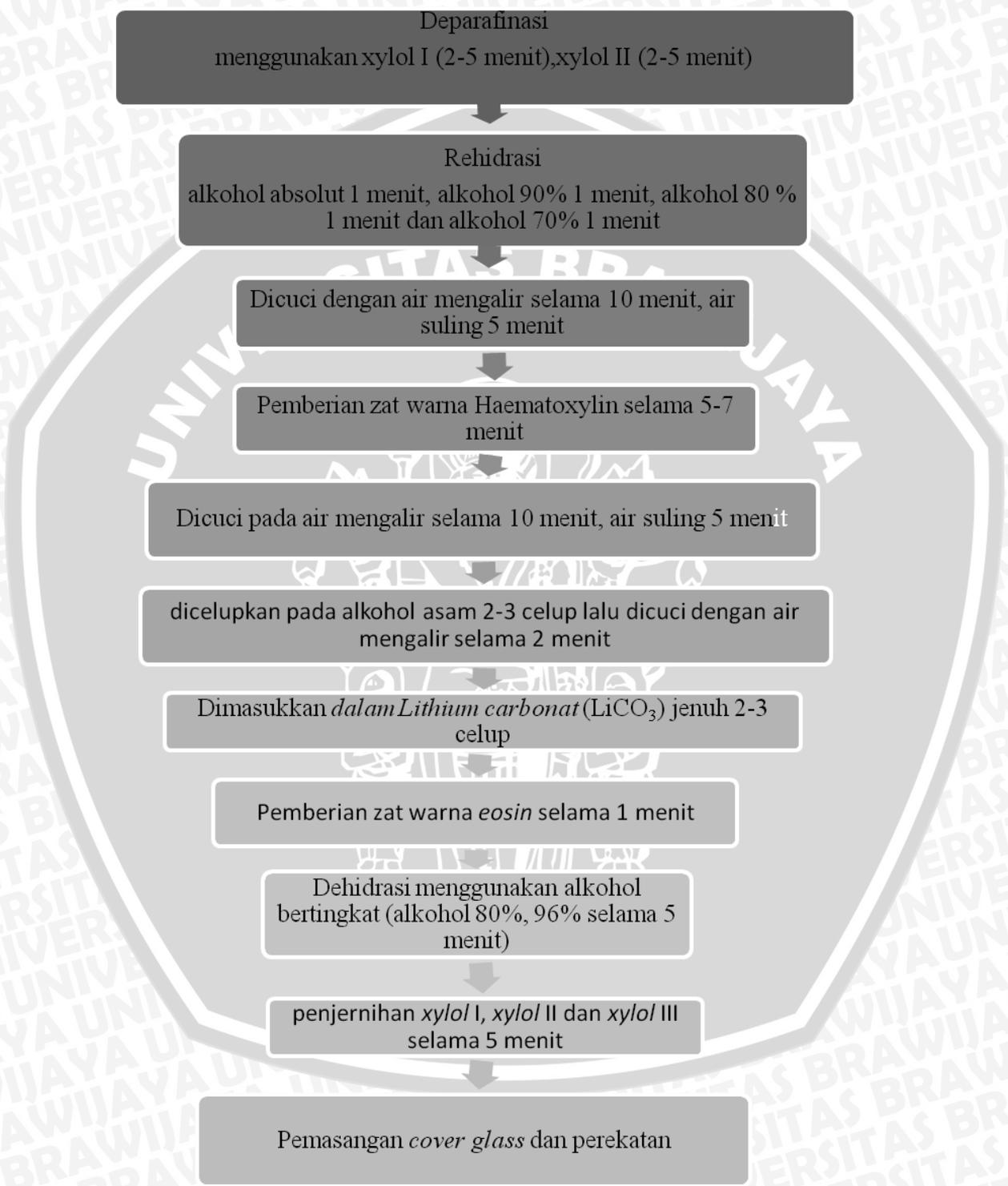
Penjernihan
dilakukan secara bertahap
direndam dalam larutan xylol I selama 1 jam
direndam dalam larutan xylol II selama 1 jam
direndam dalam larutan xylol III selama 1 jam



Pemotongan dengan mikrotom



Lampiran 5. Skema pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* (HE)



Lampiran 6. Analisa Statistik Nekrosis Tubulus

Nekrosis Tubulus

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
kontrol	0,00	0,00	0,50
0,2 ikan	18,03	17,36	16,54
0,5 ikan	19,24	20,52	20,01
0,2 ikan berformalin	21,08	21,02	20,22
0,5 ikan berformalin	25,28	24,87	25
0,2 formalin	32,94	32,93	32,37
0,5 formalin	37,5	38,15	36,88

Anova

Nekrosis

	Jk	db	KT	F hit	P
Sumber keragaman	2609.468	6	434.911	1654.884	.000
Galat	3.679	14	.263		
Total	2613.147	20			

Duncan

Nekrosis

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
Control	3	,1667					
0,2 ikan	3		17,3100				
0,5 ikan	3			19,9233			
0,2 ikan berformalin	3			20,7733			
0,5 ikan berformalin	3				25,0500		
0,2 formalin	3					32,7467	
0,5 formalin	3						37,5100
Sig.		1,000	1,000	,062	1,000	1,000	1,000

Multiple Comparisons (LSD)

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
0,2 ikan berformalin	kontrol	20.60667(*)	.41857	.000
	0,2 ikan	3.46333(*)	.41857	.000
	0,2 formalin	-11.97333(*)	.41857	.000
	0,5 ikan	.85000	.41857	.062
	0,5 formalin	-16.73667(*)	.41857	.000
	0,5 ikan berformalin	-4.27667(*)	.41857	.000
0,5 ikan berformalin	kontrol	24.88333(*)	.41857	.000
	0,2 ikan	7.74000(*)	.41857	.000
	0,2 formalin	-7.69667(*)	.41857	.000
	0,2 ikan berformalin	4.27667(*)	.41857	.000
	0,5 ikan	5.12667(*)	.41857	.000
	0,5 formalin	-12.46000(*)	.41857	.000

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



Lampiran 7. Analisa Statistik Kreatinin

Uji Kreatinin

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
Kontrol	0,23	0,22	0,23
0,2 ikan	0,27	0,25	0,25
0,5 ikan	0,28	0,28	0,28
0,2 ikan berformalin	0,30	0,27	0,28
0,5 ikan berformalin	0,30	0,28	0,29
0,2 formalin	0,38	0,43	0,44
0,5 formalin	0,41	0,44	0,45

Anova

Kreatinin

	Jk	db	KT	F hit	P.
Sumber keragaman	,120	6	,020	107,983	,000
Galat	,003	14	,000		
Total	,123	20			

Duncan

Kreatinin

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kontrol	3	,2267			
0,2 ikan	3		,2600		
0,2 ikan berformalin	3		,2833	,2833	
0,5 ikan	3		,2833	,2833	
0,5 ikan berformalin	3			,2900	
0,2 formalin	3				,4200
0,5 formalin	3				,4400
Sig.		1,000	,065	,579	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Multiple Comparisons (LSD)

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
0,2 ikan berformalin	kontrol	,05667(*)	,01113	,000
	0,2 ikan	,02333	,01113	,055
	0,2 formalin	-,13667(*)	,01113	,000
	0,5 ikan	,00000	,01113	1,000
	0,5 formalin	-,15667(*)	,01113	,000
	0,5 ikan berformalin	-,00667	,01113	,559
0,5 ikan berformalin	kontrol	,06333(*)	,01113	,000
	0,2 ikan	,03000(*)	,01113	,017
	0,2 formalin	-,13000(*)	,01113	,000
	0,2 ikan berformalin	,00667	,01113	,559
	0,5 ikan	,00667	,01113	,559
	0,5 formalin	-,15000(*)	,01113	,000

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

