

PENELITIAN TOKSISITAS AKUT NATRIUM NITRIT PADA HEWAN UJI TIKUS

Sri Endreswari *

The acute toxicity study of sodium nitrite in the period of observation for 14 days has been carried out on adult male and female rats. The substance was administered orally in the form of solution in distilled water. Each animal was observed carefully for six hours after administration, continued twice daily for 14 days, those including general appearance, body weight changes, signs of toxicity mortality and gross pathology finding. The signs of toxicity were tremor, ataxia and convulsion, mortalities were occurred in about two hours after administration. Some animal recovered after two - four hours.

The LD 50 in male mice was 121 (86,6 to 169,4) mg/kg b.w., in female was 116 (86 to 155,4) mg/kg b.w. Based on the LD 50 value, sodium nitrite is classified as moderately toxic substances.

Pendahuluan

P erkembangan teknologi pengguna zat kimia, seperti obat-obatan, kosmetika, zat tambahan makanan, pestisida dll., dapat mengakibatkan perbaikan kondisi kehidupan manusia, namun di sisi lain dapat merugikan kesehatan masyarakat bila cara penggunaannya tidak benar. Sehingga sebelum suatu zat kimia digunakan oleh masyarakat perlu diketahui informasi tentang toksisitasnya, dosis aman dll, yang biasanya dapat diperoleh melalui serangkaian uji toksisitas. Langkah awal evaluasi toksisitas yaitu melakukan uji toksisitas akut, untuk mendapatkan informasi kemungkinan adanya efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian zat dalam dosis tunggal. Disamping itu juga dapat diperoleh nilai Dosis Letal 50 (DL50), yang dapat digunakan sebagai petunjuk derajat toksisitas suatu senyawa kimia. Natrium nitrit merupakan salah satu zat tambahan makanan yang sering digunakan untuk pengawet daging sebagai produk makanan olahan, karena dapat menghambat pertumbuhan dan produksi toksin *Clostridium botulinum* dalam daging. Di samping itu dapat menyebabkan terjadinya warna yang khas, flavor, serta perubahan tekstur pada daging sehingga penampilan lebih

menarik. Pemaparan senyawa nitrit dilaporkan dapat menimbulkan beberapa penyakit antara lain kemungkinan terjadinya induksi kanker karena terbentuknya senyawa nitrosamin; penggunaan secara berkepanjangan dapat menyebabkan methemoglobinemia. Berdasarkan nilai DL50 (90 mg/kg) termasuk senyawa yang cukup toksis, sehingga penggunaannya sebagai zat tambahan makanan diatur dan diawasi dalam peraturan pemerintah^{1,2,3)}

Meskipun efek toksik natrium nitrit telah banyak diketahui, tetapi publikasi mutakhir secara lengkap tentang intensitas dan spektrum toksisitasnya bila terjadi keracunan secara akut tidak mudah diperoleh. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui intensitas dan spektrum toksisitas senyawa natrium nitrit bila terjadi keracunan secara akut dengan melakukan uji toksisitas akut menggunakan metode standar. Informasi data penelitian yang diamati meliputi gejala toksisitas, perubahan bobot badan, gejala "post-mortem" termasuk makropatologi organ utama, serta nilai DL50^{4,5,6,7)}

Bahan dan Cara Kerja

Hewan percobaan adalah tikus putih galus Sprague Dawley, jantan dan betina, umur 5

* Puslitbang Farmasi

minggu, diperoleh dari Laboratorium Perhewan Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan (PPOM). Tikus jantan dan betina dipelihara di dalam kandang terpisah dalam ruangan yang dijaga kebersihannya dengan suhu kamar $23,4 \pm 0,1$ °C, kelembaban relatif $64,0 \pm 2\%$ dan penerangan lampu selama 12 jam mulai jam 06.00 sampai jam 18.00. Hewan diberi makanan buatan PPOM dan minuman air dari PAM ad libitum. Serbuk natrium nitrit diperoleh dari Laboratorium Baku Pembanding PPOM.

Uji Pendahuluan

Untuk menetapkan dosis uji toksisitas akut dilakukan uji pendahuluan menggunakan tikus jantan dan betina masing-masing 5 ekor/kelompok. Digunakan beberapa dosis bertingkat, diberikan kepada masing-masing kelompok hewan uji hingga diperoleh dosis terkecil yang dapat memberikan 100% kematian dan dosis terbesar yang dapat memberikan 0% kematian hewan uji. Pengujian dilakukan menggunakan cara yang sama dengan uji sesungguhnya.⁵⁾

Uji Toksisitas Akut

Berdasarkan data uji terdahulu digunakan 5 tingkat dosis mulai dari 50 mg/kg bobot badan (bb) dengan kelipatan tetap (1,28) yaitu : 50,0; 64,0; 81,9; 104,9; 134,2 mg/kg bb. Masing-masing hewan jantan dan betina dikelompokkan secara acak setiap jenis kelamin 5 kelompok, 8 ekor/kelompok. Sediaan uji dibuat dengan cara melarutkan serbuk natrium nitrit dalam air suling hingga diperoleh kadar yang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Masing-masing sediaan uji diberikan secara oral, 0,5 ml/100g bb kepada setiap hewan uji dari setiap kelompok yang telah ditentukan. Sebelum pemberian sediaan uji hewan uji dipuaskan makan selama 18 jam, minuman tetap diberikan dan makanan kembali 4 jam setelah pemberian sediaan uji.⁵⁾

Setelah pemberian sediaan uji, setiap hewan diamati secara seksama selama 6 jam dan pengamatan dilanjutkan setiap hari dua kali selama 14 hari, kemudian percobaan diakhiri dan semua hewan yang masih bertahan hidup dikorbankan untuk diotopsi. Pengamatan yang dilakukan meliputi timbulnya gejala toksisitas, termasuk adanya perubahan kulit, bulu, mata, pernafasan sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, pola perilaku dll. Bobot badan ditimbang

1 minggu 2 kali dan pada akhir percobaan, terjadinya kematian diamati. Adanya kelainan makropatologi dari organ utama pada hewan yang mati maupun yang masih hidup diamati, meliputi timus, paru-paru, jantung, pankreas, limfa, ginjal, kelenjar anak ginjal, kandung kemih, testis/ovarium, kelenjar tiroid, lambung, usus, hati dan otak. Gejala toksisitas, waktu terjadinya gejala toksisitas dan kematian, jumlah kematian serta penemuan makropatologi dicatat. DL50 serbuk nitrit pada masing-masing hewan jantan dan betina dihitung menggunakan metode J.T. Lichtfield J.R. & Wilcoxon.^{5,7)}

Hasil Percobaan dan Pembahasan

Pada pengamatan gejala toksisitas dan mortalitas, baik pada hewan jantan maupun betina dapat dinyatakan bahwa efek toksik sudah mulai terjadi pada dosis 64,0 mg/kg, yaitu beberapa hewan memperlihatkan adanya penurunan aktivitas motorik dan terlihat lemah. Efek toksik pada umumnya terjadi 30 menit sampai 45 menit setelah pemberian sediaan uji. Dengan meningkatnya dosis uji terlihat adanya peningkatan intensitas gejala toksisitas yaitu efek toksik lebih menonjol pada dosis yang lebih besar ditandai dengan terjadinya kelumpuhan, tremor konvulsi berkali-kali kemudian koma dan mati. Kematian mulai terjadi pada dosis 64 mg/kg yaitu kurang lebih 2 jam setelah pemberian sediaan uji dan menunjukkan adanya kematian hewan uji. Hal ini mungkin disebabkan adanya perbedaan sensitivitas yang individual, mengingat sampai pada dosis tertinggi menunjukkan adanya hubungan dosis-respons.

Beberapa hewan yang mengalami penurunan aktivitas motorik dan yang terlihat lemah, sembuh kembali setelah 2-4 jam. Pada dosis yang lebih tinggi, semua hewan yang mengalami gejala toksisitas kelumpuhan disertai tremor dan konvulsi semuanya mati dalam waktu 15 menit sampai 2 jam. Pada hewan jantan maupun betina kematian hewan uji 100% terjadi pada dosis 134,2 mg/kg. Berdasarkan pengamatan gejala toksisitas yang terjadi pada hewan uji tikus setelah pemberian natrium nitrit, efek toksisitas yang ditimbulkan dapat digolongkan sebagai efek eksitasi terhadap sistem syaraf pusat (tremor, konvulsi) serta efek terhadap aktivitas motorik. Terjadinya gejala toksisitas dan kematian dalam waktu yang relatif cepat yaitu antara 15 menit - 4 jam.

Hewan yang mengalami gejala toksisitas dan dapat sembuh kembali, tetap sehat, tidak ada yang mati dan tidak mengalami penurunan bobot badan pada umumnya sampai akhir percobaan, sehingga perlu dicatat bahwa tidak terlihat adanya efek toksik berlanjut. Hal ini juga ditandai bahwa setelah waktu terjadinya gejala toksisitas yaitu kurang lebih 4 jam setelah pemberian sediaan uji tidak terjadi lagi gejala toksisitas maupun kematian pada hewan yang hidup hingga akhir percobaan selama 14 hari. Hewan pada kelompok kontrol tidak ada satupun yang mengalami gejala toksisitas. Perubahan bobot badan digambarkan pada grafik seperti yang tertera pada gambar 1 dan 2. Pada grafik dapat dilihat bahwa bobot badan rata-rata hewan yang telah sembuh tidak mengalami penurunan sampai akhir percobaan, sama halnya dengan hewan pada kelompok kontrol.

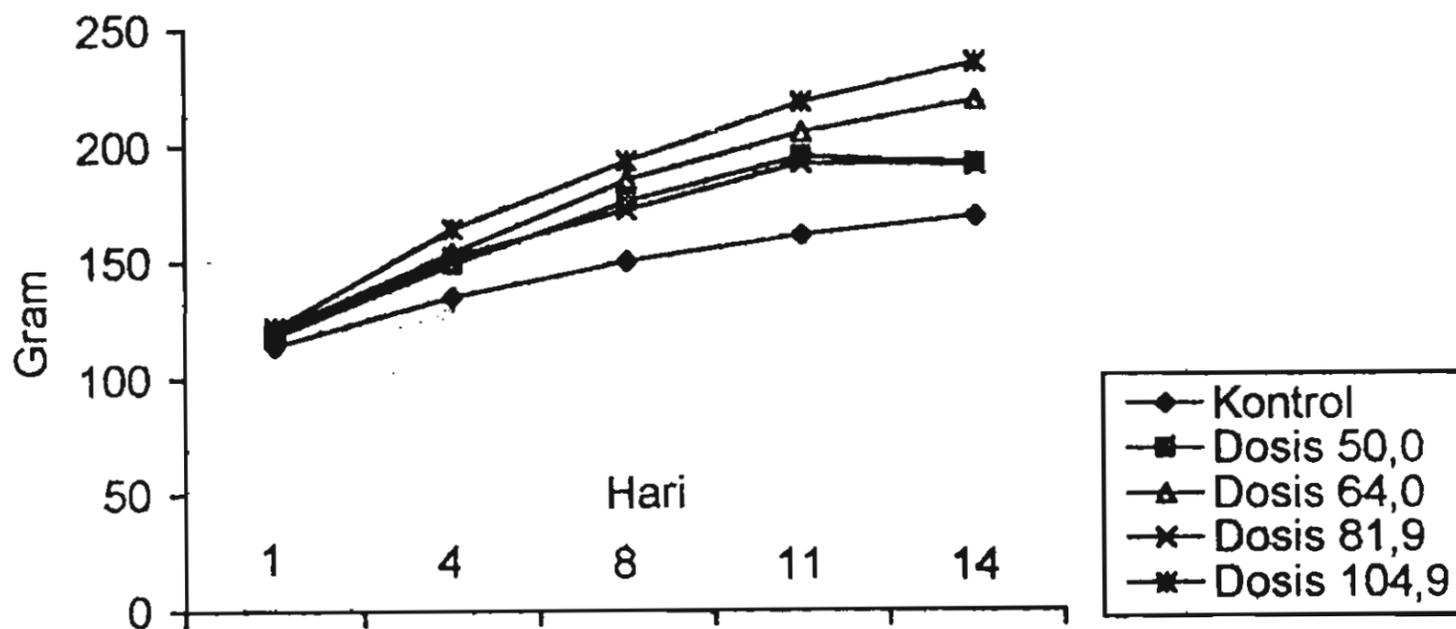
Hasil otopsi terhadap hewan uji pada dosis uji sampai dengan 104,9 mg/kg bb tidak terlihat adanya kelainan pada organ utama baik pada

hewan yang mati maupun yang hidup; tetapi mulai dosis uji 134,2 mg/kg bb terjadi perdarahan usus pada semua hewan uji jantan dan betina, sedang semua hewan dari kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya gejala makropatologi pada semua organ.

Mortalitas kumulatif dari setiap dosis digambarkan pada Tabel 1, terlihat ada peningkatan persentase mortalitas dengan adanya peningkatan dosis, sehingga DL50 dapat dihitung, yaitu 116 (86,6 - 155,4) dan 121 (86,6 - 169,4) mg/kg bb untuk masing-masing hewan jantan dan betina. Bila dibandingkan terhadap harga DL 50 dari sumber pustaka yaitu 90,0 mg/kg bb ada sedikit perbedaan namun masih dalam rentang nilai DL50 yang diperoleh pada penelitian. Perbedaan ini masih dalam batas wajar mengingat adanya perbedaan kondisi pengujian, galur hewan uji yang digunakan dll. Berdasarkan nilai DL50 natrium nitrit yang diperoleh, natrium nitrit termasuk golongan senyawa yang moderately toxic¹⁾.

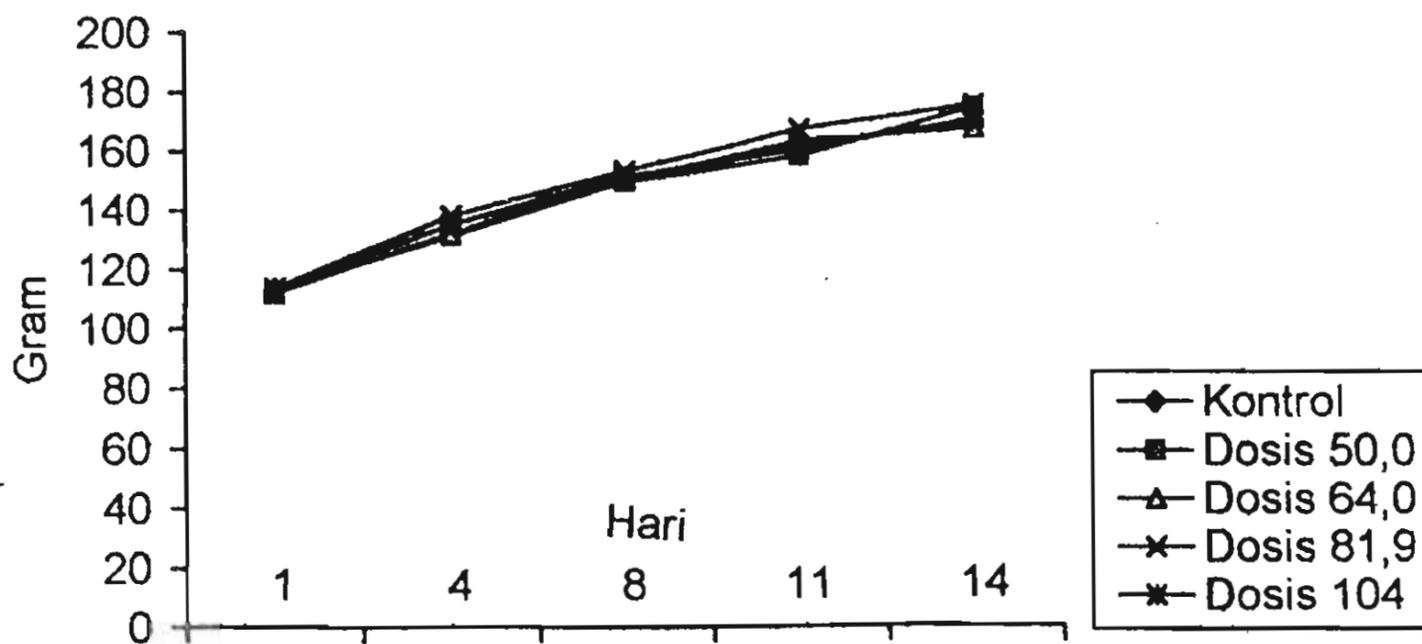
Gambar 1

Bobot Badan Rata-rata Tikus Jantan pada Uji Toksisitas Akut Natrium Nitrit Secara Oral



Gambar 2

Bobot Badan Rata-rata Tikus Betina pada Uji Toksisitas Natrium secara Oral



Tabel 1
Mortalitas Kumulatif Tikus pada uji Toksisitas Akut Natrium Nitrit

Hewan Uji	Waktu / Dosis	Jumlah Hewan Uji												
		1 jam	2 jam	3 jam	4 jam	5 jam	6 jam	24 jam	2 hr	3 hr	4 hr	6 hr	7 hr	14 hr
Tikus Jantan	50 mg/kg	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	64 mg/kg	0/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8
	81,9 mg/kg	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	104,9 mg/kg	1/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8	3/8
	134,2 mg/kg	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tikus Betina	50 mg/kg	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	64 mg/kg	0/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8
	81,9 mg/kg	0/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8
	104,9 mg/kg	1/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	3/8	3/8
	134,2 mg/kg	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Nilai DL50 merupakan indeks toksisitas suatu senyawa kimia, namun Informasi yang diperoleh dari hasil penelitian toksisitas akut sangat diperlukan untuk membuat rancangan uji toksisitas selanjutnya seperti uji toksisitas sub-kronis, teratogenesis dll, untuk menentukan dosis uji, target organ dll.

Kesimpulan

Dari hasil uji toksisitas akut natrium nitrit, dapat dilihat bahwa dengan peningkatan dosis, terjadi peningkatan efek toksis dan secara jelas persentase mortalitas juga meningkat, sehingga harga DL50 dapat dihitung. Gejala toksisitas utama yang muncul adalah, aktivitas motorik menurun, tremor, konvulsi dan koma yang terjadi dalam jangka waktu yang relatif cepat (15' - 4 jam). Gejala makropatologi pada hewan mati maupun hidup terlihat dengan adanya perdarahan usus yang dimulai pada dosis 134,2 mg/kg bb. Hewan yang mengalami keracunan dapat sembuh kembali tanpa mengalami penurunan bobot badan. Harga DL50 natrium nitrit pada tikus secara oral, selama waktu pengamatan 14 hari, sbb :

- Tikus betina : 116 (86,6 ∞ 155,4)mg/kg bb
- Tikus jantan : 121 (86,6 ∞ 169,4) mg/kg bb

Dilihat dari harga DL50 tersebut diatas, natrium nitrit dapat digolongkan sebagai zat yang *moderately toxic*¹⁾.

Daftar Pustaka

1. Ted A. Loomis Ph.D. M.D, 1978. *Essential of Toxicology*, Third Ed., Sea & Febiger, Philadelphia.
2. *The Merck Index*, 11th edition, 1987. Merck & Co, Inc, USA,
3. A. Larry Branen et al. 1990A. *Food Additives*, Marcel Dekker, New York.
4. WHO, 1978. *Principle and Methods for Evaluating The Toxicity of Chemical*, Geneva.
5. Guideline for testing of Chemical, *The Organization of Economic Cooperation and Development (OECD)*, 1980.
6. Gerhard Zbinden, 1973. *Progress in Toxicology*, USA.
7. G.E. paget, *Methods in Toxicology*. 1970. Wallace Hayes, Ph.D, *Principle Methods of Toxicology*, Raven Press 1986
8. J.T. Litchfield, J.R. & F, Wilcoxon, A. 1948. *Simplified Method of Evaluating Dose effect Experiments*, Stamford Research Laboratories, Connecticut,