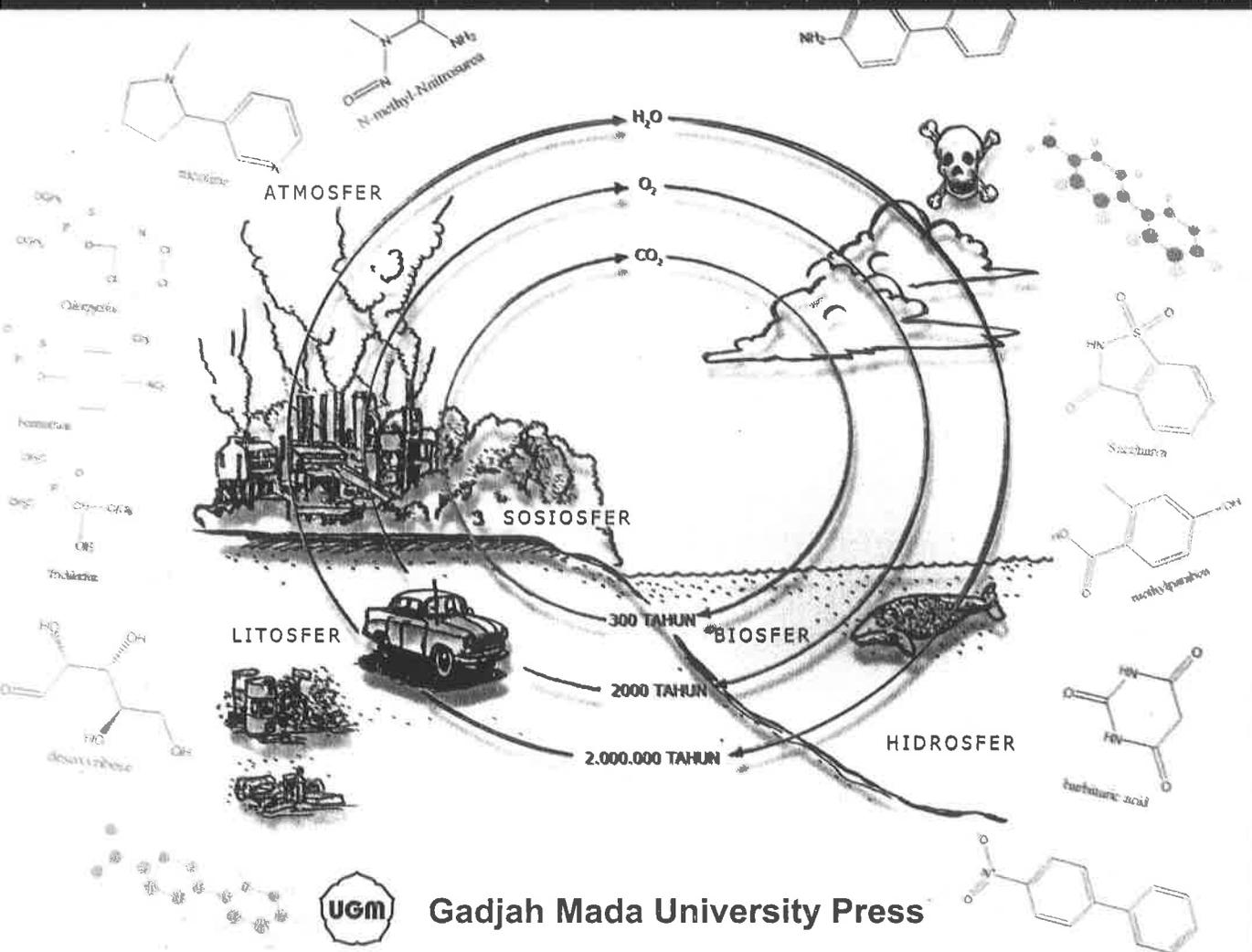


EDITOR:
JULI SOEMIRAT
HERTO DWI ARIESYADI

TOKSIKOLOGI LINGKUNGAN



TOKSIKOLOGI LINGKUNGAN

Editor

**Juli Soemirat, dr, M.P.H, Ph.D.
Herto Dwi Ariesyady, S.T, M.T., Ph.D.
Institut Teknologi Bandung**

GADJAH MADA UNIVERSITY PRESS

TOKSIKOLOGI LINGKUNGAN

Penulis:

Juli Soemirat, Herto Ariesyady

Korektor:

Siti

Desain sampul:

Pram's

Tata letak isi:

Juli Soemirat

Diterbitkan dan dicetak oleh:

Gajah Mada University Press

Anggota IKAPI

Dimensi : 18,5 x 25 cm; xviii + 222 hlmn

ISBN: 978-979-420-976-9

1708222-B5E

Redaksi:

Jl. Grafika No. 1, Bulaksumur

Yogyakarta, 55281

Telp./Fax.: (0274) 561037

www.gmup.ugm.ac.id | gmupress@ugm.ac.id

Cetakan pertama : November 2003

Cetakan kedua : Juli 2005

Cetakan ketiga : Mei 2009

Cetakan keempat revisi : Maret 2015

Cetakan kelima : September 2017

2438.128.09.17

Hak Penerbitan © 2017 Gajah Mada University Press

Dilarang mengutip dan memperbanyak tanpa izin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun, baik cetak, photoprint, microfilm, dan sebagainya.

KATA PENGANTAR

Meningkatnya jumlah populasi mengharuskan dilakukannya industrialisasi untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat. Sebagai konsekuensi, jumlah bahan baku dan buangan industri semakin bertambah banyak, baik dalam kuantitas maupun kualitasnya, sehingga terjadi banyak pencemaran dan kerusakan lingkungan akibat berbagai racun. Keprihatinan masyarakat dunia akan banyaknya racun beserta efeknya pada organisme, mengintensifikasi pemanfaatan ilmu toksikologi lingkungan di seluruh dunia, termasuk di Indonesia.

Toksikologi lingkungan, diperlukan oleh berbagai pihak yang berkepentingan, bukan saja ahli kesehatan dan pengobatan, tetapi juga para ahli lingkungan, para pendidik, para mahasiswa, para pelajar, pemerhati lingkungan, bahkan juga ibu rumah tangga yang setiap hari perlu memikirkan menu yang sehat dan tanpa racun bagi keluarganya.

Namun demikian, buku ajar dalam bahasa Indonesia yang sangat diperlukan masih sukar didapat. Oleh karena itu, para penulis meluangkan waktu yang cukup lama untuk menuliskan buku ini dengan harapan agar buku ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca. Kami berusaha agar buku ini dapat dibaca dan dimengerti oleh berbagai pihak, tetapi hal ini tentu perlu dibatasi mengingat bahwa buku ini harus tetap bersifat ilmiah. Kami juga sadar bahwa masih terdapat banyak kekurangan, dan kami harap akan mendapat banyak masukan yang dapat digunakan untuk perbaikan di masa yang akan datang.

Akhirnya kami ingin mengucapkan banyak terima kasih pada berbagai pihak yang telah banyak membantu terbitnya buku ini, termasuk para mahasiswa Pascasarjana Teknik Lingkungan, ITB, yang telah banyak membantu kami dalam mencari literatur.

Bandung, Maret 2003
Para penulis

KATA PENGANTAR

Edisi Revisi

Pada kesempatan revisi buku ini kami telah menambahkan beberapa hal terbaru dalam bidang toksikologi, yaitu:

1. adanya cara penilaian/estimasi toksisitas akut,
2. adanya kesepakatan tentang pelarangan penggunaan insektisida dan zat kimiawi industri yang persisten,
3. adanya dampak zat-zat kimiawi tersebut terhadap manusia, dan
4. adanya kemajuan dalam penilaian/pemeriksaan toksikologis yang sangat lama dan kompleks, yakni dengan menggunakan pemodelan, sekalipun tidak kami bahas secara rinci.

Akhir kata, semoga buku ini dapat terus bermanfaat bagi para pembaca.

Sekian,
Para penulis, Oktober 2014

DAFTAR KONTRIBUTOR

- Juli Soemirat : Staf Pengajar Luar Biasa Program Studi Teknik Lingkungan, Staf Luar Biasa Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Institut Teknologi Bandung, Peneliti Kesehatan Lingkungan, Toksikologi Lingkungan, dan Sistem Manajemen K3.
- Dwina Roosmini : Staf Pengajar Program Studi Teknik Lingkungan, Staf Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Institut Teknologi Bandung, Peneliti Toksikologi Organoklorin, Teknologi Tepat Guna Air Bersih dan Sanitasi Biaya Rendah, dan Pengendalian Vektor Penyakit.
- Indah Rachmatiah Siti Salami : Staf Pengajar Program Studi Teknik Lingkungan, Staf Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Institut Teknologi Bandung, Peneliti Toksikologi Limbah B-3, Bioremediasi, serta Makrofit.
- Katharina Oginawati : Staf Pengajar Program Studi Teknik Lingkungan, Staf Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Institut Teknologi Bandung, Peneliti Toksikologi Pestisida, Makanan, dan Pemberdayaan Masya-rakat.
- Herto Dwi Ariesyady : Staf Pengajar Program Studi Teknik Lingkungan dan Staf Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Institut Teknologi Bandung, Peneliti Toksikologi dan Mikrobiologi Molekuler, Logam Berat, dan Pengelolaan Lingkungan Air.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
KATA PENGANTAR EDISI REVISI	vi
DAFTAR KONTRIBUTOR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
Bab 1. PRINSIP DASAR TOKSIKOLOGI LINGKUNGAN	1
1.1. Interaksi Manusia dan Lingkungannya	1
1.2. Perkembangan Toksikologi	4
1.3. Berbagai Pencemar Terkenal dan Efeknya terhadap Kesehatan	6
1.4. Definisi	13
1.4.1. Toksikologi	13
1.4.2. Toksin atau Racun	13
1.4.3. Keracunan atau Intoksikasi	14
1.4.4. Toksisitas	14
1.4.5. Taraf Toksisitas	14
1.5. Tujuan Toksikologi Lingkungan	16
1.6. Pustaka	17
Bab 2. XENOBIOTIK	19
2.1. Klasifikasi Racun	19
2.1.1. Klasifikasi Berdasarkan Sumber	19
2.1.2. Klasifikasi Berdasarkan Wujud.....	20
2.1.3. Klasifikasi Berdasarkan Sifat Kimia-Fisika	20
2.1.4. Klasifikasi Berdasarkan Terbentuknya Pencemar/Xenobiotik	21
2.1.5. Klasifikasi Berdasarkan Efek Kesehatan	21
2.1.6. Klasifikasi Berdasarkan Kerusakan Organ Target	21
2.1.7. Klasifikasi Berdasarkan Hidup/Matinya Racun	22
2.2. Racun Biotis atau Biotoksin	22
2.2.1. Racun Mikroba	22
2.2.1.1. <i>Vibrio cholera</i>	23
2.2.1.2. <i>Clostridium botulinum</i>	24
2.2.1.3. <i>Clostridium tetani</i>	25
2.2.1.4. <i>Pseudomonas cocovenans</i>	25
2.2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.2.1.6. <i>Corynebacterium diphtheria</i>	27

2.2.2. Racun Jamur/Fungi atau Mikotoksin	28
2.2.2.1. <i>Claviceps purpurea</i>	28
2.2.2.2. <i>Aspergillus flavus</i>	28
2.2.2.3. <i>Fusarium roseum</i>	29
2.2.2.4. <i>Fusarium tricinctum</i>	29
2.2.2.5. <i>Penicillium sp.</i> dan <i>Aspergillus sp.</i>	30
2.2.3. Racun Algae	31
2.2.3.1. <i>Pyrrophyceae</i>	31
2.2.3.2. <i>Cyanophyceae</i>	32
2.2.3.3. <i>Chrysophyceae</i>	32
2.2.4. Tanaman Beracun	32
2.2.4.1. Curare	33
2.2.4.2. <i>Vicia Faba</i>	33
2.2.5. Hewan Beracun.....	34
2.2.5.1. Invertebrata	34
2.2.5.1.1. Arthropoda beracun	34
2.2.5.2. Vertebrata.....	35
2.2.5.2.1. Bisa ular	35
2.2.5.3. Mamalia	35
2.3. Kimiawi Biotoksin	35
2.4. Racun Abiotis	36
2.4.1. Racun Logam	37
2.4.1.1. Metabolisme logam	37
2.4.2. Racun Nonlogam/Organik	38
2.4.3. Efek Racun Abiotis	44
2.5. Pustaka	45
Bab 3. EKOKINETIKA	47
3.1. Pendahuluan	47
3.1.1. Sumber Racun	48
3.1.2. Emisi	48
3.1.3. Media Transpor	49
3.1.3.1. Transpor stratosferik	50
3.1.3.2. Transpor regional	51
3.1.3.3. Transpor lokal	51
3.1.3.4. Transpor akibat sumber titik	52
3.2. Proses Ekokinetika	52
3.3. Sifat Fisika Kimia	56
3.3.1. Berat Molekul dan Polaritas	56
3.3.2. Kelarutan	57
3.3.3. Volatilisasi atau Penguapan	58
3.3.4. Koefisien Partisi	59
3.3.5. Adsorpsi	59

3.4. Proses Transpor	62
3.4.1. Transpor dalam Air	63
3.4.1.1. Adveksi	63
3.4.1.2. Difusi	63
3.4.1.3. Dispersi	63
3.4.2. Transpor antara Air dan Udara	64
3.4.3. Transpor pada Partikel	65
3.4.4. Transpor dalam Tanah	65
3.4.5. Transpor dalam Air Tanah	65
3.4.6. Transpor dalam Udara/Atmosfer	66
3.4.6.1. Volatilisasi	66
3.4.6.2. Adveksi	66
3.4.6.3. Deposisi	66
3.5. Proses Transformasi	67
3.5.1. Transformasi Abiotik	67
3.5.1.1. Fotokimia	67
3.5.1.2. Sedimentasi	68
3.5.1.3. Hidrolisis	69
3.5.1.4. Oksidasi	70
3.5.1.5. Reduksi	70
3.5.2. Transformasi Biotik	70
3.6. Perkiraan Nasib Racun	71
3.6.1. Mobilitas	71
3.6.2. Persistensi	73
3.6.3. Akumulasi	73
3.7. Pustaka	77
Bab 4. FARMAKOKINETIKA	79
4.1. Portal Entri	79
4.1.1. Oral	80
4.1.2. Inhalasi	81
4.1.2.1. Gas	81
4.1.2.2. Partikulat	81
4.1.3. Insang	82
4.1.4. Dermal	83
4.1.5. Parenteral	83
4.2. Dosis Versus Konsentrasi	85
4.3. Absorpsi	87
4.3.1. Difusi	87
4.3.1.1. Difusi katalitis	88
4.3.2. Transpor Aktif	88
4.4. Distribusi	89
4.5. Metabolisme	89
4.5.1. Detoksifikasi	90

4.5.1.1. Oksidasi	92
4.5.1.2. Reduksi	94
4.5.1.3. Hidrolisis	95
4.5.1.4. Konjugasi	99
4.5.2. Toleransi dan Hipersensitivitas	99
4.5.3. Kumulasi	100
4.6. Metabolisme pada Hewan	100
4.7. Metabolisme pada Tumbuhan	101
4.7.1. Absorpsi pada Tumbuhan	101
4.8. Ekskresi	102
4.8.1. Pembuatan Urine	103
4.8.2. Pembuatan Empedu	103
4.9. Pustaka	105
Bab 5. EFEK BIOLOGIS	107
5.1 Prinsip Terjadinya Efek	107
5.2. Efek pada Elemen Sel	110
5.3. Efek pada Enzim	110
5.4. Efek pada DNA, RNA	111
5.5. Efek Berdasarkan Organ Target	113
5.5.1. Hepatotoksisitas	114
5.5.1.1. Mekanisme hepatotoksisitas	114
5.5.2. Neurotoksisitas	116
5.5.2.1. Penyebab dan mekanisme neurotoksisitas	116
5.5.2.1.1. Gangguan neurotransmisi	116
5.5.2.1.2. Gejala keracunan saraf pusat	120
5.5.2.1.3. Anoksia sel saraf	121
5.5.2.2. Agen Perusak Sel Saraf	121
5.5.3. Pneumotoksisitas	122
5.5.3.1. Penyebab pneumotoksisitas	122
5.5.4. Nefrotoksisitas	125
5.5.4.1. Penyebab nefrotoksisitas	126
5.5.4.2. Mekanisme nefrotoksisitas	126
5.5.5. Dermatotoksisitas	127
5.5.5.1. Penyebab dermatotoksisitas	127
5.5.6. Teratogenesis dan Reprodiktif toksisitas	128
5.5.6.1. Penyebab teratogenesis dan reprodiktif toksisitas	128
5.5.7. Hematotoksisitas	130
5.5.7.1. Penyebab hematotoksisitas	130
5.5.7.1.1. Kelainan sel-sel darah	130
5.5.7.1.2. Kelainan transpor gas	131
5.5.8. Oftalmotoksisitas	134
5.5.8.1. Penyebab oftalmotoksisitas	134
5.6. Efek Berdasarkan Gejala	135

5.6.1. Fibrosis	136
5.6.2. Granuloma	136
5.6.3. Demam	136
5.6.4. Asfiksia	136
5.6.5. Alergi	137
5.6.6. Mutan, Kanker, dan Teratoma	137
5.6.7. Keracunan Sistemik	140
5.6.8. Keracunan Logam Berat	141
5.7. Pustaka	142
Bab 6. TOKSISITAS PESTISIDA	143
6.1. Pestisida	143
6.1.1. <i>Fate</i> Pestisida	143
6.1.2. Klasifikasi Pestisida	144
6.1.2.1. Klasifikasi berdasarkan organisme target	144
6.2. Insektisida	145
6.2.1. Sistem Saraf	145
6.2.1.1. Sistem saraf mamalia	146
6.2.1.2. Sistem transmisi	147
6.2.2. Toksisitas	148
6.2.3. Klasifikasi Insektisida	149
6.2.3.1. Klasifikasi berdasarkan rumus kimia	150
6.2.3.2. Klasifikasi berdasarkan mekanisme kerja	150
6.2.3.3. Klasifikasi berdasarkan jenis racun	150
6.2.4. Organoklorin	150
6.2.5. Organofosfat dan Karbamat	156
6.2.6. Piretroid	160
6.2.6.1. Piretroid alam	160
6.2.6.2. Piretroid sintetik	160
6.2.7. Insektisida di Lingkungan	160
6.2.7.1. Residu insektisida dalam tanah	160
6.2.7.2. Residu insektisida dalam air	162
6.2.7.3. Residu insektisida di udara	162
6.2.7.4. Residu insektisida pada tanaman	162
6.2.7.5. Residu insektisida di lingkungan kerja	163
6.3. Herbisida	163
6.4. Fungisida	164
6.5. Rodentisida	165
6.5.1. Beberapa Jenis Rodentisida	166
6.6. Fumigan	167
6.7. Pustaka	167
Bab 7. UJI TOKSISITAS KUANTITATIF	170
7.1. Pendahuluan	170
7.2. Analisis Kuantitatif	171
7.3. Uji Toksisitas	174

7.3.1. Tingkatan Uji Toksisitas	174
7.3.1.1. Uji tingkat I	176
7.3.1.2. Uji tingkat II	177
7.3.1.3. Uji tingkat III	178
7.4. Uji Toksisitas dan Rantai Makanan	179
7.5. Uji Toksisitas Atas Dasar Dosis dan Respons	181
7.5.1. Organisme Percobaan	182
7.5.1.1. Anatomi	183
7.5.1.2. Fisiologi	183
7.5.1.3. Spesies	183
7.5.1.4. Respons	184
7.5.2. Periode Eksperimen	184
7.5.3. Penentuan Seri Dosis	184
7.5.4. Kurva Dosis Respons	184
7.5.5. Interaksi	187
7.5.6. Kurva Konsentrasi Subletal	188
7.6. Ekstrapolasi Bioesei ke Manusia	189
7.6.1. Ekstrapolasi Zat yang Tidak Karsinogenik	189
7.6.2. Ekstrapolasi Zat yang Karsinogenik	190
7.7. Permasalahan Uji Toksisitas	190
7.7.1. Masalah Organisme Percobaan	191
7.7.2. Perbedaan antara Lingkungan Alamiah dan Lingkungan Laboratoris... ..	191
7.8. Pemantauan	191
7.9. Pustaka	192
Bab 8. PENELITIAN TOKSIKOLOGI	193
8.1. Senyawa Toksik	195
8.1.1. Pemilihan Hewan Uji	195
8.1.2. Penelitian Toksisitas Skala Laboratorium	197
8.1.2.1. Penelitian pada perairan	197
8.1.2.2. Penelitian pada limbah padat	199
8.1.2.3. Penelitian toksisitas di udara	200
8.1.2.4. Karakteristik kimia	201
8.2. Transpor dan Transformasi Toksikan	204
8.2.1. Penelitian Skala Laboratorium	204
8.2.2. Penelitian Skala Lapangan	207
8.3. Efek pada Lingkungan	208
8.3.1. Kuantifikasi Eksposur	209
8.3.2. Respons dari Organisme Target	211
8.4. Pustaka	212
INDEKS	215

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Ringkasan Hasil Berbagai Penelitian Pengaruh Racun terhadap Fauna dan Flora	7
Tabel 1.2.	Kadar Metil-Merkuri Normal dan Abnormal dalam Darah dan Rambut.....	9
Tabel 1.3.	Taraf Toksisitas.....	14
Tabel 1.4.	Definisi Kategori Bahaya Nilai Toksisitas Akut, Estimasi Toksisitas Akut (ATE).....	15
Tabel 2.1.	Perbedaan Endotoksin dan Eksotoksin	23
Tabel 2.2.	Kimiawi Racun Biota, Sumber dan Efeknya	36
Tabel 2.3.	Lampiran Peraturan Menteri Perindustrian No. 148/M/SK/1985 tentang Bahan Berbahaya dan Beracun	36
Tabel 2.4.	Beberapa Jaringan Target bagi Logam	40
Tabel 2.5.	Logam Nonradioaktif Penyebab Tumor pada Manusia dan Hewan Percobaan Berdasarkan <i>Portal of Entry</i> dan Jenis Tumor.....	41
Tabel 2.6.	Beberapa Logam dan Nonlogam Beserta Efeknya	44
Tabel 3.1.	Perbedaan Transpor dan Transformasi	50
Tabel 3.2.	Hujan Asam di Eropa (gram S/m^2)	52
Tabel 3.3.	Kelarutan Beberapa Senyawa dalam Air Murni (dw) dan Air Lasut (sw) pada 20°C.....	57
Tabel 3.4.	Nilai Log K_{ow} dari Beberapa Pestisida	59
Tabel 3.5.	Sifat Fisika–Kimia Beberapa Zat Kimia.....	61
Tabel 3.6.	Oksidan Atmosferis	68
Tabel 3.7.	Kecepatan Hidrolisis untuk 2,4-D-Ester.....	69
Tabel 3.8.	Kategori Afinitas Racun Kimia terhadap Kompartemen Lingkungan Dihubungkan dengan Sifat Fisika–Kimia Molekulnya.....	72
Tabel 3.9.	Kategori Persistensi.....	73
Tabel 3.10.	Klasifikasi Pestisida Dilihat dari Mobilitas dan Persistensi dalam Tanah	73
Tabel 3.11.	Karakteristik Xenobiotik Organik untuk Bioakumulasi.....	75
Tabel 3.12.	Faktor Biokonsentrasi	76
Tabel 3.13.	Empat Tingkatan Model Fugasitas	77
Tabel 4.1.	Enzim Hidrolitik dalam Saluran Pencernaan.....	80
Tabel 4.2.	Reaksi Biotransformasi Beserta Lokasinya	91
Tabel 4.3.	Biotransformasi Mikrosomal dalam Sel Hati	91
Tabel 5.1.	Pertanyaan Swedish Q16.....	120
Tabel 5.2.	Beberapa Toksikan Paru-Paru, Sumber serta Efeknya	123
Tabel 5.3.	Kuesioner Efek Saluran Pernapasan.....	124
Tabel 5.4.	Racun Lingkungan Beserta Target pada Sistem Reproduksi Laki-Laki.....	129

Tabel 5.5.	Beberapa Zat Kimia yang Berpengaruh terhadap Reproduksi Pria dan Wanita	130
Tabel 5.6.	Contoh Kelainan Genetik pada Manusia	138
Tabel 6.1.	Klasifikasi Toksisitas Insektisida pada Tikus	148
Tabel 6.2.	Klasifikasi Insektisida Ditinjau dari Mekanisme Terjadinya Efek.....	151
Tabel 6.3.	Gejala Keracunan Akut dan Kronis akibat Organoklorin	152
Tabel 6.4.	POPs. Beserta Klasifikasinya	153
Tabel 6.5.	Dampak Penggunaan Insektisida Selama 40 tahun	153
Tabel 6.6.	Gejala Keracunan Organofosfat	158
Tabel 6.7.	Jenis dan Efek Piretroid	160
Tabel 7.1.	Gejala Keracunan Beserta Berbagai Penyebabnya.....	170
Tabel 7.2.	Pemeriksaan Organ secara Patologis Anatomis pada Uji Subkronis dan Kronis	179
Tabel 7.3.	Contoh Toksisitas Akut Berdasarkan Dosis dan Portal Entri	180
Tabel 7.4.	Contoh Toksisitas Berbagai Toksin bila Masuk Per Os.....	180
Tabel 7.5.	Induksi Kanker pada Tikus dengan Berbagai Dosis 4-Dimetil Azo Benzene	181
Tabel 7.6.	Nilai LD ₅₀ Untuk Cypermetrin pada Berbagai Hewan Uji	182
Tabel 7.7.	Klasifikasi Karsinogenisitas IARC	189
Tabel 7.8.	Perbedaan Kondisi Alamiah dan Laboratorium	191
Tabel 8.1.	Kelebihan dan Kekurangan Pendekatan Penelitian Ekotoksikologi pada Gambar 8.1.....	195
Tabel 8.2.	Prinsip Umum dalam Evaluasi Eksposur	210

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Pengaruh Pembangunan terhadap Kesejahteraan dan Lingkungan	3
Gambar 1.2.	Proses Xenobiotik Memasuki Lingkungan dan Organisme serta Kembali ke Lingkungan	17
Gambar 2.1.	Rumus Bangun Beberapa Racun Kimiawi	42
Gambar 2.2.	Rumus DDT dan PCB	43
Gambar 3.1.	<i>Input</i> ke dalam Lingkungan dari Berbagai Sumber Emisi, baik Industrial maupun Domestik.....	49
Gambar 3.2.	Proses Ekokineta: Emisi – Imisi	53
Gambar 3.3.	Interaksi Xenobiotik dengan Berbagai Faktor di Lingkungan	54
Gambar 3.4.	Skema Proses-Proses dalam Ekokineta	55
Gambar 3.5.	Benzena, Fenol, dan Asam Benzoat dengan Perbedaan Polaritas	56
Gambar 3.6.	Grafik Umum Freundlich Adsorpsi Isoterm.....	60
Gambar 3.7.	Transpor Xenobiotik dari Air (Kedalaman = Z) ke Udara	64
Gambar 4.1.	Skema Limitasi Masuknya Xenobiotik Lewat Insang	82
Gambar 4.2.	Skema Portal Entri, Distribusi, dan Ekskresi	84
Gambar 4.3.	Skema Proses Farmakokineta	85
Gambar 4.4.	Diagram Konsep Interaksi Toksisitas	86
Gambar 4.5.	Kecepatan Difusi Sebanding dengan Gradien Konsentrasi	87
Gambar 4.6.	Laju Transpor Aktif Versus Konsentrasi	88
Gambar 4.7.	Skema Urutan Kejadian Setelah Imisi	90
Gambar 4.8.	Contoh Beta-Oksidasi Alkohol.....	92
Gambar 4.9.	Contoh Desulfurisasi Paration	93
Gambar 4.10.	Oksidasi Benzena dan Naftilamina	94
Gambar 4.11	Contoh Reduksi Nitro, Azo, dan Aldehida	95
Gambar 4.12.	Rumus di-etil-heksil-ftalat (DEHP).....	96
Gambar 4.13.	Contoh Hidrolisis Ester dan Amida oleh Enzim Esterase dan Amidase	96
Gambar 4.14.	Reaksi Umum Hidrolisis	97
Gambar 4.15.	Skema Proses Metabolisme Fase I dan II secara Menyeluruh	97
Gambar 4.16.	Contoh Konjugasi dengan Glukuronida dan Glukosida	98
Gambar 4.17.	Contoh Kumulasi DDT dalam Rantai Makanan	101
Gambar 4.18.	Skema Ginjal dan Kandung Kemih.....	104
Gambar 4.19.	Proses Pembuatan Urine.....	104
Gambar 4.20.	Hubungan Hati dengan Kantong Empedu dan Usus Dua Belas Jari	105
Gambar 5.1.	Kerja Reseptor di dalam Sel	108
Gambar 5.2.	Skema Mekanisme Terjadinya Respons.....	109
Gambar 5.3.	DNA dengan Penemunya	111
Gambar 5.4.	Sintesis Protein, Transkripsi, Translasi	112

Gambar 5.5.	Perubahan Pasangan Basa	113
Gambar 5.6.	Skema Hubungan Hepar, Usus, Vena Cava, Kandung Empedu, Jantung, Ginjal, dan Tungkai Bawah	115
Gambar 5.7.	Neuron Beserta Bagian-Bagiannya (Sensoris dan Motoneuron).....	117
Gambar 5.8.	Transmisi Impuls pada Neuron.....	118
Gambar 5.9.	Skema Sistem Pernapasan Beserta Isi Masing-Masing Bagian	123
Gambar 5.10.	Efek Gas Kromium yang Korosif pada Tulang Hidung dan Kerusakan Alveoli	124
Gambar 5.11.	Skema Organogenesis pada Usia Janin (minggu).....	128
Gambar 5.12.	Kurva Disosiasi Oksihemoglobin pada Karboksihemoglobin 50%	132
Gambar 5.13.	Skema Mata.....	134
Gambar 5.14.	Skema Sebuah Sel	139
Gambar 5.15.	DNA = <i>Double Helix</i> dan Contoh Urutan Basa	139
Gambar 5.16.	Rumus Bangun Basa Nukleotida.....	140
Gambar 6.1.	<i>Fate</i> Pestisida	144
Gambar 6.2.	Kerja Masing-Masing Jenis Insektisida	146
Gambar 6.3.	Celah Sinaptik.....	147
Gambar 6.4.	Transmisi Impuls	149
Gambar 6.5.	Klasifikasi Struktur Organoklorin.....	155
Gambar 6.6.	Ikatan Kimia Organofosfat dan Karbamat	156
Gambar 6.7.	Skema Interaksi Organofosfat dan Karbamat dengan Enzim Asetilkolinesterase	157
Gambar 6.8.	Struktur Kimia Jenis-Jenis Organofosfat.....	159
Gambar 6.9.	Struktur Kimia Insektisida Karbamat.....	159
Gambar 6.10.	Struktur Kimia Piretroid Sintetik	161
Gambar 6.11.	Biodegradasi Diazinon oleh Mikroorganisme	161
Gambar 6.12.	Struktur Kimia Herbisida	164
Gambar 6.13.	Struktur Kimia Fungisida	165
Gambar 6.14.	Struktur Kimia Berbagai Rodentisida	166
Gambar 6.15.	Jenis-Jenis Fumigan	167
Gambar 7.1.	Rantai Makanan, Ukuran, dan Tingkat Trofis.....	172
Gambar 7.2.	Skema Uji Toksisitas secara Lengkap	175
Gambar 7.3.	Kurva-Kurva Dosis Respons	186
Gambar 7.4.	Kurva Dosis Respons, Konsentrasi Subletal, Zat Esensial dan Nonesensial..	188
Gambar 8.1.	Hubungan antara Kenyataan Ekologis di Alam dengan Tingkat Kemudahan Pendekatan Prosedur Penelitian.....	194
Gambar 8.2.	Beberapa Senyawa Karsinogenik yang Terdiri dari Molekul Aromatik Planar Tersubstitusi pada Posisi-4	202
Gambar 8.3.	Senyawa Tidak Karsinogenik yang Terdiri dari Molekul Aromatik Planar yang Mengandung Cincin yang Tidak Tersubstitusi pada Posisi-4	203
Gambar 8.4.	Model Ekosistem Metcalf	206
Gambar 8.5.	Model Kolam untuk Melihat Keseimbangan Materi dalam Prediksi <i>Fate</i> Suatu Senyawa Kimia di Lingkungan	207

TOKSIKOLOGI LINGKUNGAN

Buku *Toksikologi Lingkungan* ini disusun atas dorongan semakin banyaknya pencemar lingkungan akibat beragamnya kegiatan manusia, yang menggunakan bahan baku sintesis yang beracun. Limbah dari kegiatan tersebut umumnya bersifat berbahaya dan beracun. Limbah ini akan mencemari lingkungan air, udara, tanah, dan lain-lain. Selama di dalam lingkungan, pencemar akan mengalami transportasi dan transformasi di berbagai komponen lingkungan. Pada akhirnya pencemar akan masuk ke badan manusia melalui udara, air, makanan sehingga menyebabkan keracunan.

Selama ini masyarakat beranggapan bahwa keracunan menyebabkan gejala akut muntaber. Sementara itu keracunan akibat pencemar lingkungan lebih banyak bersifat kronis, misalnya Pb dapat menurunkan IQ pada anak-anak, Hg menimbulkan cacat bawaan, Cd menimbulkan penyakit ginjal dan melunaknya tulang-tulang, benzene dan radiasi menimbulkan kanker darah, CO menyebabkan penyakit jantung, tekanan darah tinggi, dan meningkatkan kadar kolesterol, organoklorin bersifat karsinogenik, serta berbagai pencemar yang bersifat *endocrine hormone disrupter* sehingga mengganggu reproduksi spesies.

Kasus pencemaran lingkungan sudah banyak ditemukan, seperti timah hitam berasal dari bensin bertimbal, air raksa berasal dari penambangan emas rakyat, penggunaan insektisida, dan lain-lain. Namun demikian, intoksikasi akibat bahan berbahaya dan beracun (B3) tersebut belum tercatat secara khusus karena belum disadari adanya kemungkinan penyakit akibat pencemar lingkungan.

Efek yang sangat parah tersebut mengakibatkan terbitnya berbagai peraturan pemerintah yang mengharuskan berbagai limbah diuji toksisitasnya. Selain itu, diharapkan juga partisipasi masyarakat agar tidak mencemari lingkungan.

Besar harapan kami agar buku ini dapat dimanfaatkan oleh masyarakat umum dan ilmiah supaya dapat meningkatkan kewaspadaan terhadap berbagai keracunan akibat pencemar lingkungan. Selain itu, masyarakat ilmiah dapat memanfaatkannya untuk memahami prinsip dasar toksikologi lingkungan dan melakukan penelitian awal. Kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kami sangat mengharapkan masukan dari para pembaca.



Gadjah Mada University Press

Jl. Grafika No. 1, Kampus UGM, Yogyakarta 55281

Telp./Fax.: 0274 561037, gmupress@ugm.ac.id | www.gmup.ugm.ac.id

ugmpress @ugmpress

ISBN 978-979-420-976-9



9 789794 209769

BAB 7

UJI TOKSISITAS KUANTITATIF

Juli Soemirat dan Herto Dwi Ariesyady

7.1. Pendahuluan

Uji toksisitas dapat dilakukan dengan dua cara, yakni (i) kualitatif dan (ii) kuantitatif. Uji kualitatif biasanya dilakukan atas dasar gejala penyakit yang timbul. Hal ini akibat dari tidak spesifiknya gejala/penyakit akibat suatu keracunan.

Respons tubuh terhadap racun disebut tidak spesifik, karena tidak ada/belum didapat gejala yang khas (pathognomonik) bagi setiap keracunan, dengan beberapa pengecualian. Oleh karena itu seringkali keracunan diklasifikasikan atas gejalanya yang timbul (Tabel 7.1.).

Tabel 7.1. Gejala Keracunan Beserta Berbagai Penyebabnya

Gejala	Penyebab/Racun
Fibrosis	SiO ₂ , Fe, Asbest, CO, Co, C, dll.
Granuloma	Be, Bakteri, fungi, dll.
Demam	Mn, Zn, Co, Pb, dll.
Alergi	Ni, Cr, TDI, berbagai zat organik, dll.
Asfiksia	CO, H ₂ S, CO ₂ , SO ₂ , NH ₃ , CH ₄
Mutagenesis	Radiasi pengion, benzena, metil-Hg
Karsinogenesis	Aminodifenil, Asbest, benzidine, vinilklorida
Teratogenesis	As, F, metil-Hg, TEL, benzena
Keracunan sistemik*	Pb, Cd, Hg, F, Va, P, Bo, Ti, TEL

*) Keracunan sistemik, dengan racun yang sengaja dibuat untuk meningkatkan ekonomi, yakni pestisida, disebut racun ekonomik.

Sumber: Waldbott, 1973

Di dalam buku ini analisis toksisitas atas dasar gejala dimasukkan ke dalam bab khusus tentang efek racun di Bab 5. Dan selanjutnya Bab ini akan membahas uji kuantitatif saja.

7.2. Analisis Kuantitatif

Sebelum melakukan uji kuantitatif, orang harus terlebih dahulu mengenal xenobiotik yang akan diuji secara kimia-fisika. Apakah ia mudah menguap, mudah larut, dan lain-lain sifatnya. Hal ini sangat diperlukan untuk menentukan uji selanjutnya. Apabila pada suatu aplikasi industri, zat tadi akan menguap, maka eksposur yang sering terjadi mungkin sekali adalah per inhalasi, sehingga uji toksisitasnya juga dilakukan per inhalasi. Dengan sendirinya, akan ikut ditentukan pula hewan uji yang akan digunakan. Seperti telah diuraikan dalam farmakokinetika, portal entri akan menentukan sekali efek toksis yang terjadi.

Analisis kuantitatif dapat berupa uji toksisitas di laboratorium terhadap hewan uji ataupun uji kuantitatif dalam penelitian epidemiologi. Tujuan analisis sedemikian adalah untuk mencari dosis aman bagi manusia atau mencari kriteria untuk standarisasi kualitas lingkungan. Uji hewan atau bioesei pada akhirnya juga dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis aman. Dalam hal uji hewan, masih banyak argumentasi tentang keabsahannya, tetapi jalan lain belum ada, sehingga terpaksa masih terus diberlakukan. Manusia merupakan hewan derajat paling tinggi, dan apabila dimungkinkan secara etika, merupakan hewan percobaan terbaik, misalnya saja pada penderita yang sampai saat ini sudah tidak ada harapan untuk sembuh, misalnya, mereka yang berpenyakit jantung. Di beberapa negara, uji jantung buatan ataupun obat baru boleh dilakukan pada penderita sedemikian atas persetujuan yang bersangkutan serta keluarganya. Atau juga pada mereka yang sudah divonis hukum mati dengan janji peringanan hukumnya, maka kadang-kadang atas persetujuan yang bersangkutan dapat dilakukan uji. Tetapi secara alamiah sering didapat situasi, di mana manusia betul bertindak seolah hewan uji. Misalnya pada kasus keracunan (Minamata, Itai-itai), kecelakaan (Chernobyl, dll.), ataupun pada kondisi perang (bom nuklir di Hiroshima dan Nagasaki, perang kimia di Vietnam), dan sebagainya. Pada kondisi-kondisi tersebut studi langsung dilakukan secara epidemiologis. Studi epidemiologis juga dapat dilakukan di industri atau di pertanian, dan lain tempat, di mana digunakan zat yang berbahaya, dan manusia terpapar terhadapnya. Dengan demikian, suatu musibah dapat diambil hikmahnya dengan melihat dan mempelajari berbagai respons manusia terhadap xenobiotik, sehingga dapat melakukan pencegahan dan/atau pengobatan dengan lebih baik lagi. Hal ini diperlukan karena telah diketahui, ada obat yang pada berbagai hewan uji tidak menimbulkan kelainan, tetapi ternyata pada manusia bersifat teratogenik, yakni, thalidomid.

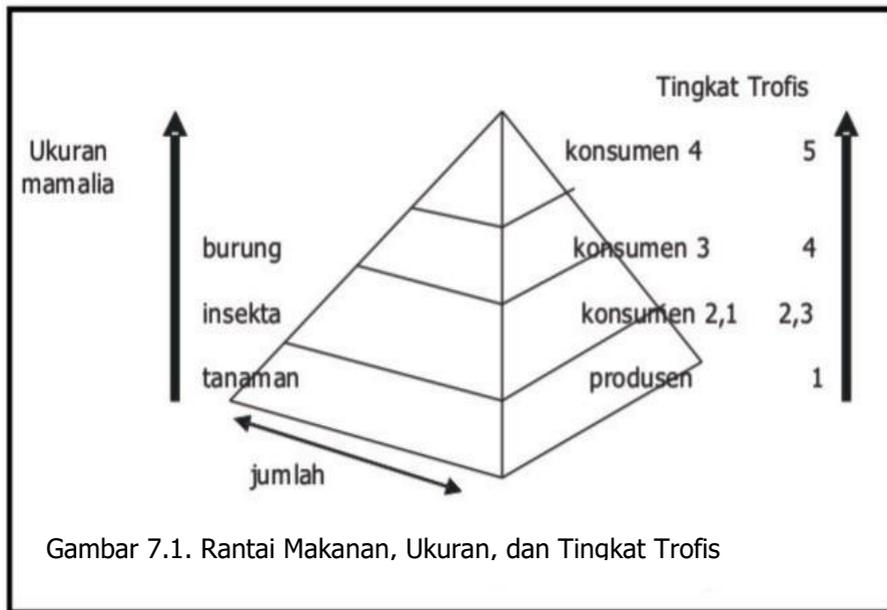
Oleh karena itu timbul istilah yang digunakan untuk menyatakan toksisitas suatu zat. Istilah sedemikian dapat didasarkan jumlah zat yang betul-betul masuk ke dalam tubuh ataupun konsentrasi zat yang berada di luar tubuh organisme uji. Misalnya, apabila kematian yang akan dilihat sebagai respons terhadap zat racun maka dikenal istilah dosis letal (*lethal dose*, LD) atau konsentrasi letal (*lethal concentration*, LC). Dapat difahami, bahwa LD akan

lebih tepat untuk zat yang dievaluasi bila akan diekstrapolasikan terhadap manusia, tetapi para ahli lingkungan mencari ukuran yang lebih memudahkan, yang dapat langsung menentukan konsentrasi zat yang boleh ada di lingkungan yang dikatakan aman, oleh karena itu timbul istilah LC. Untuk keperluan ekstrapolasi dosis aman, digunakan LD_{50} , dan sementara ini tidak digunakan LC_{50} . Untuk keperluan interpolasi hasil uji pada hewan terhadap manusia, digunakan LD_{50} , yang dianggap bagi manusia sebagai atau setara dengan LD_{100} . LD_{50} ataupun LC_{50} adalah dosis atau konsentrasi yang mematikan 50% organisme uji. Sekalipun demikian, akhir-akhir ini, untuk keperluan mencari dosis aman, orang mencari dosis atau konsentrasi maksimum yang tidak menimbulkan efek atau NOEL (*no observed effect level*) ataupun NOAEL (*no observed adverse effect level*) (Shaw & Chadwick, 1998).

Filosofi analisis toksisitas ini adalah menguji berbagai level trofis, yang akan diekstrapolasikan terhadap trofis yang sama maupun yang berbeda. Oleh karenanya masih didapat berbagai argumentasi terhadapnya. Misalnya saja uji terhadap tingkat trofis kedua seperti pada *Daphnia magna* (udang-udangan yang sangat kecil), tetapi Hippopothamus (kuda nil yang sangat besar) juga tergolong hewan tingkat trofis dua. Suatu hal yang sangat berbeda sekali.

Untuk dapat memahaminya, diperlukan pengetahuan tentang organisasi rantai makanan dalam lingkungan, sehingga dapat memahami bagaimana pencemar mempengaruhi ekosistem, dan terjadinya biokonsentrasi. Manusia sangat mendominasi alam, baik dalam jumlah, dan perilaku, sehingga dapat mengubah pola genetik kehidupan untuk kepentingannya. Tetapi perlu juga diingat bahwa kehidupan manusia ini sangat tergantung pada lingkungannya. Manusia biasanya digolongkan sebagai konsumen tingkat tiga. Selanjutnya rantai makanan ini dapat dilihat pada Gambar 7.1. yang menggambarkan ukuran spesies yang umumnya semakin besar dengan semakin tingginya posisi pada rantai makanan, dan tampak pula golongan trofisnya.

Organisasi antar spesies merupakan saling ketergantungan antara produsen dan konsumen, tetapi konsumen tertinggipun akan ada musuhnya dan pada akhirnya akan kembali menjadi zat anorganik (siklus) setelah meninggal. Produsen pertama akan dapat mengkonversikan $CO_2 + H_2O \rightarrow CH_2O + O_2$, dengan bantuan sinar matahari, dan dikenal sebagai fotosintesis. Tanpa adanya organisme yang dapat berfotosintesis, manusia tidak dapat mempertahankan hidupnya. Diestimasi, bahwa tanaman sedemikian dapat mengikat karbon dalam jumlah 35×10^{15} kg/th (Shaw & Chadwick, 1998).



Gambar 7.1. Rantai Makanan, Ukuran, dan Tingkat Trofis

Rantai makanan ini berbentuk piramida, karena berlakunya hukum termodinamika I dan II sebagai berikut.

Hukum I : energi dapat berubah menjadi berbagai bentuk, tetapi tidak dapat dimusnahkan

Hukum II: transformasi energi tidak efisien, sebagian akan menjadi panas yang tidak terpakai.

Atas dasar hukum kedua, dapat difahami bahwa jumlah konsumen akan menjadi lebih sedikit dibanding dengan jumlah produsennya. Oleh karenanya bentuk rantai makanan akan meruncing ke atas menjadi bentuk piramida. Di alam terdapat berbagai contoh rantai makanan antara lain adalah sebagai berikut.

- Rantai makanan perumput: tanaman rumput → herbivora → karnivora
- Rantai makanan detritus: bangkai/zat organik → mikroorganisme → cacing → burung/ayam → kucing, dll.

Dengan mengenal rantai makanan ini dapat dilakukan prediksi perginya racun apabila ia memasuki lingkungan tertentu. Zat yang terakumulasi di dalam organisme tentunya akan terakumulasi pula di organisme dengan tingkat trofis yang lebih tinggi. Dan, karena yang dimakan itu jumlahnya akan menjadi semakin banyak, maka racun akan lebih terkonsentrasi lagi di tingkat lebih tinggi, sehingga timbul istilah biomagnifikasi. Contoh yang terkenal adalah kasus DDT. Penemunya mendapat hadiah Nobel karena penerapan DDT di bidang pertanian dan kesehatan sangat membantu meningkatkan produksi dan

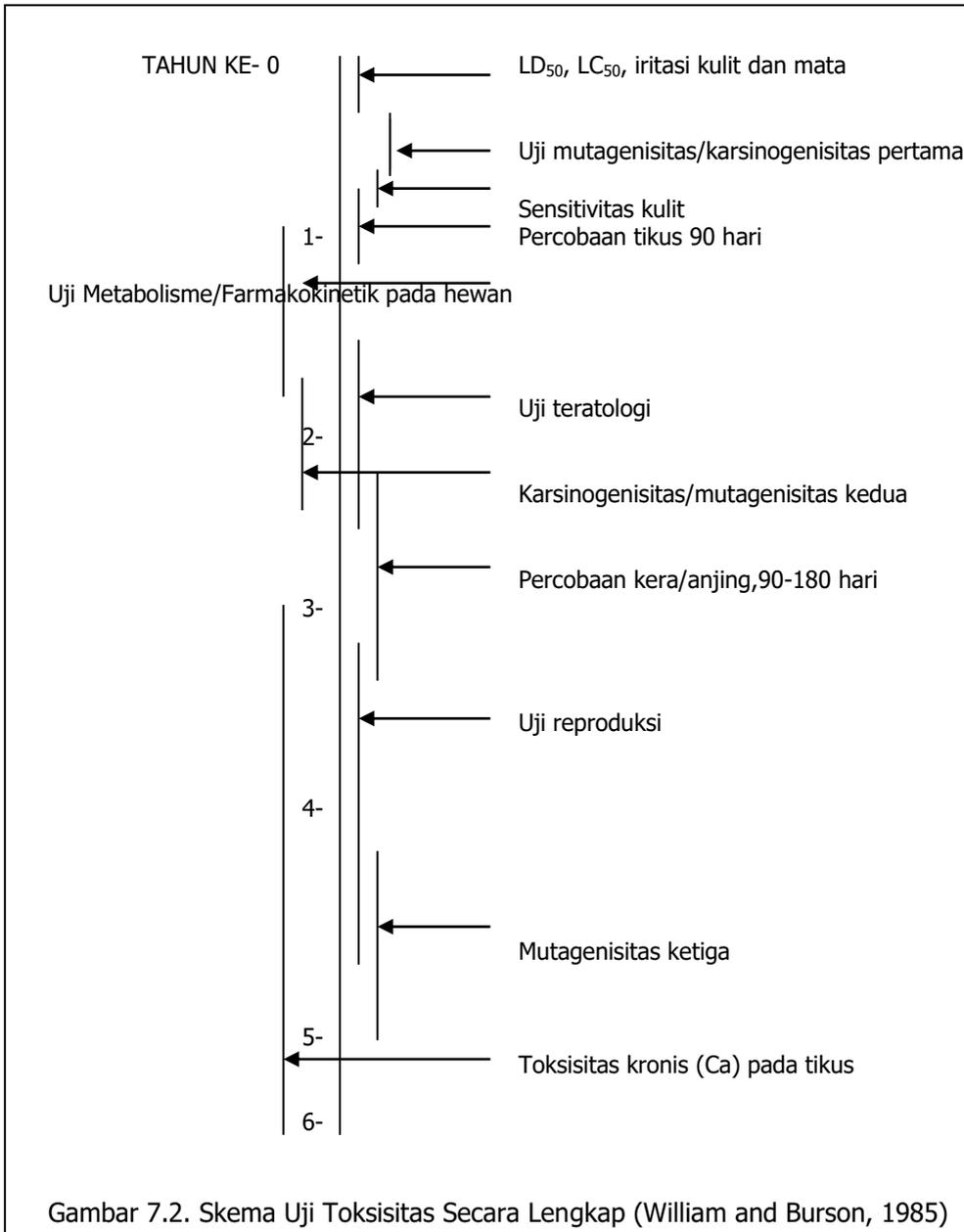
memberantas vektor penyakit. Tetapi karena DDT itu selain persisten juga lipofilik, maka terakumulasi di dalam lemak, dan terdapat biomagnifikasi dalam tingkat trofis yang semakin tinggi. Misalnya di perairan, konsentrasi DDT pada air konsentrasinya 3 ppt, dalam alga menjadi 0,04 ppm, selanjutnya pada ikan kecil menjadi 0,5 ppm, pada ikan besar menjadi 2 ppm, dan pada burung pemakan ikan menjadi 25 ppm (lihat Gambar 4.17). Maka dikatakan ada magnifikasi, karena terjadi kenaikan konsentrasi paling tidak sebanyak 10^6 kalinya.

Bagaimana DDT merusak ekosistem dicontohkan di sini sebagai berikut. DDT mengakibatkan cangkang telur burung menjadi tipis, mudah pecah, sehingga sebelum menetas sudah pecah, dan memusnahkan spesies. Juga pada burung, DDT yang terakumulasi pada lemaknya, pada saat mengeram, mobilisasi lemak mengikut sertakan DDT-nya, sehingga terjadi keracunan (Colborn, 1977). Akumulasi DDT pada lemak wanita, juga pernah mengakibatkan dilarangnya ibu menyusui anaknya, karena air susu ibu mengandung DDT.

Atas dasar uraian rantai makanan di atas dapat dimengerti bahwa, uji toksisitas dilakukan berurutan dengan melihat tingkat trofis organisme uji. Dan ada beberapa uji yang sering dilakukan, yakni yang didasarkan dosis, respons, dan waktu, seperti uji toksisitas jangka pendek dan jangka panjang, akut, dan kronis pada berbagai dosis racun. Uji ini akan dibahas dalam uraian selanjutnya.

7.3. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk menilai efek akut, subakut, dan kronis. Uji ini perlu didasarkan atas waktu, karena semua zat baru yang akan memasuki atau dipakai di industri harus diuji dahulu toksisitasnya; dan apabila uji ini memakan waktu terlalu lama, maka industri harus menunggu terlalu lama untuk mengaplikasikannya, dan kemungkinan besar, teknologi yang seiring dengan bahan baku yang perlu diuji itu sudah kadaluarsa. Oleh karena kendala ini, para ahli toksikologi selalu tertinggal dalam uji toksisitas; atau dikatakan bahwa kita belum tahu persis efeknya terhadap manusia, zat tersebut telah digunakan untuk berbagai keperluan. Sekalipun demikian, uji toksikologis setiap zat sedemikian masih terus dilaksanakan sesuai ilmu untuk mengkaji efek kronisnya, yaitu, untuk melihat efek jangka panjang. Hal ini mengakibatkan bahwa berbagai produk perlu ditarik kembali dari pasaran, apabila di kemudian hari ternyata efek kronisnya berbahaya. Secara skematis Gambar 7.2. memperlihatkan uji toksisitas secara lengkap dan keseluruhan. Uji akut dilakukan dalam tahun pertama terhadap organisme yang berderajat rendah/kecil, dan dilanjutkan terhadap hewan yang berderajat lebih tinggi, dengan meningkatnya waktu. Dari Gambar 7.2. ini pula tampak, bahwa uji toksisitas yang lengkap akan memerlukan waktu selama enam tahun, yang secara nalar memang dapat diterima, bahwa industri tidak dapat menunggu sekian lama.



7.3.1. Tingkatan Uji Toksisitas

Uji toksisitas dapat dibagi ke dalam tiga kelompok menjadi (i) uji akut atau uji tingkat I, (ii) uji subkronis atau uji tingkat II, dan (iii) uji kronis atau uji tingkat III. Penyebutan uji tingkat I, II, dan III menjadi lebih relevan, karena dalam tahun pertama juga sudah dilakukan uji kronis seperti karsinogenisitas, namun pada bakteri. Oleh karena itu istilah uji akut sudah jarang digunakan lagi, kecuali kalau memang efek akut yang ingin diketahui.

Uji toksisitas tingkat I seringkali disebut sebagai uji jangka pendek atau *short term test* (STT), dilakukan dalam tahun pertama. Maksud uji tahun pertama terutama ditujukan pada cara penanganan material xenobiotik tadi. Uji toksisitas tingkat II, dilakukan dalam 2,5 tahun berikutnya dengan maksud mengkarakterisasi toksisitas xenobiotiknya. Uji toksisitas tingkat III atau uji tingkat terakhir biasanya dilakukan untuk menilai kemungkinan dampak pada manusia (Williams and Burson, 1985; Duffus, 1980).

7.3.1.1. Uji Tingkat I

Uji tingkat pertama terdiri atas beberapa uji, yakni:

- uji dosisrespons untuk mencari LD/LC dan kemungkinan berbagai kerusakan organ,
- uji iritasi mata dan kulit,
- skrining pertama terhadap mutagenisitas (SAL, ABS, SCE, dan MOLY)¹.

Uji dosis dan respons untuk mencari LD/LC dilakukan sesuai sifat kimiawi dan fisika xenobiotik serta pemilihan organisme uji (derajat rendah) yang paling relevan digunakan dipandang dari segi portal entri. Uji dapat dilakukan terhadap organisme akuatik atau terestrial, tergantung relevansi. Dosis uji divariasikan dengan perkiraan konsentrasi xenobiotik yang ada dalam media, dan standar yang berlaku bagi xenobiotik dalam lingkungan (kalau ada). Uji dilaksanakan dalam waktu 24-96 jam. Respons tentunya kematian atau bila organisme sangat kecil, hanya immobilisasi. Uji dilakukan dalam dua tahap biasanya. Tahap pertama untuk perkiraan rentang dosis kasar letak LD/LC 50/100 yang dicari. Uji dilakukan dalam duplikat, atau triplikat. Penentuan LD/LC dilakukan dengan cara *least square* ataupun dengan metoda probit. Program perhitungan dengan kedua cara bisa dibuat atau dibeli, sehingga perhitungan tidak perlu dilakukan secara manual lagi (Shaw and Chadwick, 1998; Hodgson and Levi, 1997; dll.). Uji akut berupa penentuan nilai LC ini telah banyak dilakukan, misalnya adalah penentuan tingkat toksisitas senyawa sianida dan logam berat tembaga yang sering kali diidentifikasi terdapat di perairan tercemar di Indonesia (Soemirat et al., 1997; Ariesyady & Soemirat, 2000).

¹ SAL = Ames Salmonella/microsome mutagenesis assay; ABS = assays for chromosome aberration; SCE = sister chromatid exchange induction, dan MOLY = mouse lymphoma L5178Y cell mutagenesis assay (Hallenbeck, 1993).

Iritasi mata dan kulit juga dilakukan pada uji tingkat satu, dikenal sebagai *Draize test*. Hewan uji yang paling disenangi adalah kelinci albino. Zat yang akan diuji dimasukkan pada salah satu matanya, mata yang lain berfungsi sebagai kontrol. Pemantauan dilakukan setelah 24 jam, 48 jam, dan 96 jam. Hasil dinilai dari gejala yang timbul pada mata, seperti edema, kekeruhan kornea, reaksi terhadap cahaya, dan pelebaran vaskuler dan kemerahan. Uji ini seringkali dikritik oleh pencinta hewan, dan dianggap tidak manusiawi. Lagipula hasil uji belum tentu dapat berlaku bagi manusia; akan tetapi uji ini masih terus dilakukan untuk mencegah terjadinya kebutaan permanen dan toksisitas okuler pada manusia. Solusi terbaik bisa didapat, apabila bisa ditemukan cara uji *in vitro*, misalnya menggunakan mata sapi/kambing, dan lain-lain dari pejalagan.

Iritasi dermal atau kulit bisa dilakukan langsung pada kulit. Yang dicari adalah iritasi primer, sensitisasi kulit, foto-toksisitas, dan foto sensitisasi. Untuk uji iritasi, hewan uji terpilih adalah kelinci albino juga. Uji dilakukan pada kulit punggungnya. Evaluasi dilakukan setelah 24, 48, dan 96 jam. Keparahan yang terjadi diberikan skor secara numerik. Uji dapat juga dilakukan pada kulit telinga tikus, atau mencelupkan seluruh tubuh hewan ke dalam cairan uji. Tetapi dua uji yang terakhir ini sudah tidak lagi dilakukan.

Uji sensitisasi kulit dilakukan untuk melihat apakah xenobiotik dapat mengganggu sistem imunitas. Orang menjadi tersensitisasi apabila pada kontak kedua dan seterusnya, reaksi tubuhnya akan menjadi lebih hebat terhadap racun tadi. Reaksi yang terjadi adalah reaksi antara antigen dan antibodi. Hewan uji biasanya adalah mencit (*guinea pig*) yang diberi xenobiotik tiga hari sekali secara reguler selama dua minggu, dengan selang istirahat dua minggu. Evaluasi dilakukan pada setiap 24 jam, dengan cara yang sama seperti pada uji iritasi.

Uji fototoksisitas dilakukan untuk melihat efek dari kombinasi xenobiotik dengan cahaya, terutama sinar UV. Uji ini merupakan modifikasi dari uji sebelumnya, hanya saja di sini, setelah aplikasi xenobiotik, kemudian dilakukan penyinaran dengan UV. Selanjutnya evaluasi diperlakukan sama dengan uji terdahulu; demikian pula dengan fotosensitisasi.

Uji untuk pertama kali tentang mutagenisitas dilakukan dengan uji SAL, ABS, SCE, dan MOLY atau juga disebut *prokaryote mutagenicity tests*. SAL atau *Ames test* adalah uji yang dikembangkan oleh Bruce Ames dkk., dari University of California yang bersifat *reverse mutation test*. Yang digunakan adalah *Salmonella typhimurium* yang tidak dapat hidup dalam media tanpa adanya histidin, tetapi dapat bermutasi balik apabila ada xenobiotik yang mutagenik. Jadi bila dalam agar berisi bakteri strain tadi dicampur dengan xenobiotik yang mutagenik, maka akan terdapat koloni-koloni, atau ia dapat hidup dan berkembang biak. Uji ini dapat digunakan untuk menilai tingkat toksisitas air limbah (*Whole Effluent Toxicity, WET*). Sebagai contoh, *Ames test* ini telah digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas limbah usaha pencucian pakaian (*laundry*) yang menunjukkan hasil bahwa limbah *laundry* dengan konsentrasi 4 %v/v berpotensi sebagai mutagen (Martina, 2011).

Uji ABS adalah uji esei untuk aberasi kromosom. Ke dalam uji aberasi kromosom, sebetulnya termasuk juga SCE, dan MOLY, hanya ketiganya dilakukan karena mekanisme aberasi pada setiap uji berbeda. Yang dicari adalah kromosom yang terputus (*breaks*), atau terjadi pertukaran (*exchange*) antar bagian kromosom (*sister chromatid*) dan lain-lain. Uji dilakukan pada sel hidup *in vivo*. Sel yang digunakan dapat diambil dari *Chinese Hamster*

Ovary cells, sel sumsum tulang tikus, atau sel limfosit dari tikus penderita kanker, dan sebagainya (Hodgson and Levi, 1997).

Metoda lainnya juga dikembangkan untuk melihat pengaruh dari bahan uji terhadap sel dan genetika. Salah satunya adalah dengan menggunakan bawang merah (*Allium cepa*) sebagai bioindikator kondisi lingkungan kerja bagian radiologi di suatu rumah sakit (Sopandi, 2014). Efek yang dilihat pada studi yang menggunakan tanaman *Allium cepa* ini adalah indeks mitotik dan aberasi kromosom. Indeks mitotik menunjukkan status proliferasi populasi sel sehingga didapat rasio sel yang mengalami mitosis pada suatu jaringan (Celik and Aslanturk, 2010). Aberasi kromosom merupakan kerusakan jumlah total atau struktur kromosom yang dapat terjadi secara spontan akibat paparan zat fisik atau kimia, dan dapat dijadikan sebagai indikator terjadinya efek genotoksik pada makhluk hidup (Leme and Marin-Morales, 2009).

Sekalipun uji akut dan kronis telah terlaksana dalam tahun pertama, STT ini dilakukan pada sel derajat rendah, sehingga tetap tidak dapat mewakili uji jangka panjang. Hal ini terutama menjadi penting bila data uji ini nanti akan diekstrapolasikan pada manusia (Hallenbeck, 1993).

7.3.1.2. Uji Tingkat II

Uji tingkat II mewakili uji subkronis. Waktu esei biasanya dilakukan selama 30 hari untuk aplikasi pada kulit, 30-90 hari untuk studi inhalasi, dan 90 hari untuk uji oral. Tujuannya ialah untuk mendapatkan nilai NOEL, atau NOAEL, dan seterusnya. Dosis yang diujikan divariasikan menjadi 3-4 variasi; diharapkan bahwa dosis tinggi akan menyebabkan kematian, sedangkan yang ringan akan menunjukkan NOEL. Hewan uji biasanya tikus, anjing atau kera; dilakukan pada kedua jenis kelamin. Pada setiap level dosis digunakan sekitar 10-20 ekor jantan dan 10-20 ekor betina. Dalam uji seperti ini perlu diperhatikan faktor-faktor lingkungan pengganggu, dan perlu sangat hati-hati. Observasi harus sering, karena ingin melihat banyak kelainan. Observasi dilakukan terhadap berbagai organ tubuh, mulai dari mortalitas, morbiditas, mata, konsumsi makanan, berat badan, respons neurologis, perilaku tidak normal, respirasi, elektro-kardiogram (EKG), elektro-encefalogram (EEG), hematologi, biokimia darah, analisis urin, dan tinja, serta kerusakan organ secara mikroskopis. Semuanya ini dilakukan untuk:

- skrining kedua terhadap mutagenisitas
- uji teratologi, dan uji reproduktif
- uji farmakokinetik
- uji perilaku
- uji interaksi, seperti sinergisme, antagonisme, dan aditivisme, semuanya diselesaikan dalam waktu dua setengah tahun.

7.3.1.3. Uji Tingkat III

Uji tingkat tiga atau uji kronis, dilakukan dalam jangka panjang, melebihi separuh usia hidup hewan percobaan, bahkan lebih dari satu generasi. Efek suatu zat disebut kronis,

apabila dosis yang masuk masih dalam unit mg/kg BB/h. Efeknya dapat bervariasi dari yang sangat ringan sampai sangat berat/fatal. Yang penting dilihat adalah rentang dosis yang menyebabkan efek ringan dan berat. Bila rentang itu sempit, maka zat tadi berbahaya, sebaliknya dengan rentang yang lebar. Sebagai contoh adalah CO rentangnya antara 100 mg/m³ – 250 mg/m³, sedangkan untuk Kafein, rentangnya adalah antara 100 mg – 10 gram. Maka kafein dianggap kurang berbahaya.

Uji terpenting di sini adalah uji karsinogenisitas, teratogenisitas, dan reproduksi. Kesemuanya ini untuk menguji:

- mutagenisitas pada mamalia,
- karsinogenisitas terhadap tikus selama dua tahun,
- farmakokinetik pada manusia, bila relevan,
- klinis pada manusia,
- data epidemiologis untuk efek terhadap eksposur akut dan kronis,
- pengujian suatu zat, tergantung pada penggunaannya dan kemungkinan eksposur yang dapat diterima manusia/masyarakat. Umumnya, sebagian atau seluruh uji dapat dikenakan terhadap suatu xenobiotik.

Untuk dapat melakukan ini perlu diperhatikan beberapa hal sebagai berikut:

- mencari spesies yang cukup sensitif,
- mengambil spesies dengan mutasi spontan yang moderat (1,5%).

Mutagenisitas ini mendasari semua proses perubahan genetik, baik itu pada sel genetik sendiri, sel somatik, maupun sel embrio. Hanya hasil akhirnya yang berbeda. Bila terjadi mutasi pada sel genetik, maka akan terjadi mutan; pada sel somatik akan terjadi kanker, dan pada sel embrio akan terjadi monster atau cacat bawaan. Xenobiotiknya seringkali disebut berbeda; yakni, mutagen, karsinogen, dan teratogen.

Uji Teratogenisitas biasa dilakukan pada mamalia, dan jenis pakis/*ferns*. Untuk karsinogenisitas dilakukan pada mamalia, kedua jenis kelamin, pada berbagai fase pertumbuhan (karena dikenal transplasental karsinogenesis), dan berbagai portal entri. Telah dijelaskan pula uji kronis pada uji tingkat I atau STT.

Dari uraian tersebut, dapat difahami, bahwa uji toksisitas lengkap ini akan mahal dan memerlukan waktu cukup lama. Sekalipun demikian, hal ini akan sangat diperlukan, bila eksposur suatu xenobiotik sangat luas, sehingga memapari masyarakat banyak.

Tabel 7.2. di bawah ini memberikan gambaran banyaknya pekerjaan yang harus dilakukan dalam uji subkronis dan kronis dengan memperlihatkan organ target yang perlu diperiksa. Hal ini diperlukan karena, distribusi xenobiotk dalam organ dapat bersifat lokal saja pada tempat eksposur, ataupun beredar ke seluruh tubuh lewat peredaran darah menuju organ target, sehingga distribusinya disebut sistemik.

Beberapa contoh xenobiotik sedemikian adalah CCl₄= *degreaser* (penghilang lemak), pelarut lemak. Ia akan menimbulkan efek lokal dalam bentuk iritasi, sedangkan efek sistemiknya berupa depresi Susunan Saraf Pusat (SSP). Iapun dapat menimbulkan efek kronis berupa kerusakan hati dan ginjal.

7.4. Uji Toksisitas dan Rantai Makanan

Pada hakekatnya, seperti telah disebutkan terdahulu, uji toksisitas itu didasarkan atas uji pada taraf trofis, dari yang terendah sampai tertinggi. Hewan uji dari berbagai tingkat trofis yang sering digunakan dalam uji toksisitas itu berbeda dengan lokasi geografis, karena tentunya dipilih atas dasar hewan dan/atau tanaman yang ada. Beberapa contohnya dapat ditemukan di buku metoda standar untuk menguji toksisitas. Bila untuk masalah di perairan, bisa didapatkan di buku *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998); untuk toksin terestrial, dapat digunakan berbagai hewan mulai dari cacing (*Eisenia foetida*), sampai mamalia seperti tikus, anjing, kera, dan lain-lain.

Tabel 7.2. Pemeriksaan Organ Secara Patologis Anatomis Pada Uji Subkronis dan Kronis

Adrenal	Larings	Kel.ludah
Sumsum tulang, tulang	Hati	Saraf skiatika
Otak	Paru-paru, bronki	Vesika seminales
Tulang muda	Kelenjar limfe	Kulit
Caecum	Kelenjar susu	Saraf spinalis
Colon	Kel.limfe rahang bawah	Limpa
Duodenum	Kel.limfe, mesenterik	Lambung
Esofagus	Rongga hidung	Testes
Mata	Indung telur	Otot paha
Kandung empedu	Paratiroid	Timus
Ilieum	Pituitari	Kandung kencing
Jejunum	Prostat	Uterus,dll.
Ginjal	Rektum	

Sumber: Hodgson and Levi, 1993

Beberapa contoh bagi tingkat trofis satu di perairan adalah: *Selenastrium capricornatum* dan *Chlorella vulgaris*, alga air tawar karena banyak didapat dan mudah dikultur. Ujinya didasarkan atas produksi biomassa selama dua hari dengan berbagai konsentrasi toksikan. Yang dicari adalah konsentrasi toksikan yang dapat menghambat pertumbuhan sebanyak 50%. Ujinya sangat sederhana. Alga yang diinokulasikan ke dalam tabung berisi xenobiotik, disertai dengan tabung kontrol, diinkubasi dalam inkubator yang bercahaya selama dua hari. Pada akhir hari kedua alga difilter, dan ditimbang beratnya, dengan filter yang telah ditimbang sebelumnya. Biomasa alga lalu digambarkan terhadap konsentrasi dan diekstrapolasi EC₅₀ nya (mg/dm). Nilai seperti ini dapat digunakan untuk memperkirakan dampak yang akan terjadi apabila konsentrasi toksikan di suatu perairan dapat diketahui (Shaw and Chadwick, 1998). Suatu studi yang menggunakan *Chlorella pyrenoidosa* menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ untuk limbah laundry adalah 0,328 %v/v dengan nilai NOEC-96 jam adalah 0,125 %v/v (Martina, 2011). Berdasarkan studi ini pula didapatkan hasil bahwa terdapat korelasi yang kuat antara hasil uji menggunakan *Chlorella pyrenoidosa* dan uji mutagenisitas *Ames test*, sehingga penggunaan uji menggunakan alga

ini berpotensi untuk digunakan sebagai prediktor untuk memperkirakan mutagenisitas suatu bahan uji.

Contoh bagi tingkat trofis dua adalah: *Daphnia magna*, *Artemia salina*, sering digunakan, terutama *Artemia salina* yang telurnya dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada temperatur 23°C, maka ia akan menetas dalam satu-dua hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan terhadap individu. Respons yang dilihat hanyalah immobilisasi. Ke dalam tiap tabung berisikan konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. EC₅₀ didapat dengan ekstrapolasi kurva. Uji ini perlu dilakukan dalam triplikate, mengingat jumlah hewan yang digunakan sangat sedikit. *Daphnia* dapat digunakan baik untuk uji akut maupun kronis. Pada uji akut dicari EC, dalam waktu 24 jam; sedangkan uji kronis digunakan untuk uji reproduksi selama 14 hari.

Tingkat trofis tiga biasanya tidak diikuti sertakan dalam uji toksisitas, karena baik biokimia dan faalnya hampir sama dengan tingkat trofis empat, dengan berbagai pengecualian. Tingkat trofis empat di lingkungan akuatik diwakili oleh ikan. Dalam uji ini dicari LD₅₀ maupun LC₅₀. Uji akut dilakukan dalam 96 jam sedangkan bagi yang kronis dapat sampai 14 hari. Tabel 7.3. dan 7.4. di bawah ini memperlihatkan contoh toksisitas bila zat racun dimasukkan secara oral.

Tabel 7.3. Contoh Toksisitas Akut Atas Dasar Dosis dan Portal Entri

Dosis/portal entri:oral	Interpretasi
µg/Kg BB	Toksisitas ekstrim
mg/Kg BB	Sangat toksik
x100mg/Kg BB	Toksisitas sedang
Beberapa gram/Kg BB	Toksisitas rendah
5 kg/kg BB	Praktis tidak toksik

Sumber: McKinney, 1981

Tabel 7.4. Contoh Toksisitas Berbagai Toksin, Bila Masuk per Os

Racun	LD ₅₀ (µg/Kg)
Botulin toksin A	0,00005
Aflatoksin B1	600
Nikotin	1.000
Metil-Hg	1.000
Endrin	3.000
HCN	7.000
DDT	120.000
CCl ₄	570.000
NaCl	4.000.000

Catatan: hewan uji = mencit

Sumber: McKinney, 1981

Tingkat trofis lima menggunakan hewan atau burung pemakan ikan. Uji dilakukan dengan memasukkan toksikan per oral atau dengan suntikan intra peritoneal. Uji ini mencari LD₅₀ atau NOEL dengan memeriksa darahnya. Selain uji akut juga dilakukan uji kronis terhadap reproduksi hewan tersebut.

Efek akut terjadi bila diberi dosis tinggi dalam waktu singkat. Tetapi apabila eksposur lama dan dosis rendahpun masih dapat menimbulkan efek kronis. Sebagai contoh, di bawah ini merupakan hasil eksperimen dengan menginduksi kanker pada tikus dengan menggunakan 4-dimetil azo benzena sebagai berikut (Tabel 7.5.).

Tabel 7.5. Induksi Kanker Pada Tikus Dengan Berbagai Dosis 4-dimetil azo benzena

Dosis (mg/h)	T (hari)	Dosis Total (mg D)
31	34	1.020
20	52	1.040
10	95	950
5	195	950
3	350	1.050
1	700	700

Sumber: McKinney, 1981

7.5. Uji Toksisitas Atas Dasar Dosis dan Respons

Uji dosis dan respons ini dilakukan untuk mengetahui, apakah ada hubungan antara xenobiotik dengan respons organisme dan bagaimana hubungan tersebut. Hal ini merupakan uji toksisitas, untuk mencari dosis aman bagi manusia. Dosis yang digunakan dikaitkan dengan respons yang dicari ataupun dikaitkan dengan tujuan eksperimen. Misalnya, ingin diketahui sampai seberapa jauh bahaya konsentrasi suatu buangan industri yang mengandung B3 bagi manusia. Dosis dapat berupa dosis letal, konsentrasi letal atau dosis efektif saja (LD, LC, ED).

Respons yang dicari dapat berupa kematian ataupun respons perubahan fungsi ataupun biokimiawi organisme. Yang penting adalah, bahwa baik dosis maupun respons harus dapat diukur secara kuantitatif. Sebagai contoh, respons dapat berupa aktivitas enzim asetilkolin-esterase dalam hal eksposur terhadap organofosfat, atau fungsi paru-paru terhadap eksposur debu, fungsi ginjal terhadap eksposur Cd, fungsi hati terhadap eksposur metil-Hg, kematian, gambaran histologis sel insang, dan lain-lain.

Uji dosis-respons menguji respons organisme percobaan pada berbagai dosis tertentu, untuk periode eksposur tertentu, untuk mendapatkan respons yang secara matematis konsisten. Misalnya saja, dengan meningkatnya dosis, apabila respons itu konsisten, maka akan meningkat pula responsnya. Untuk melakukan uji ini diperlukan atau perlu ditentukan terlebih dahulu berbagai hal sebagai berikut.

- organisme percobaan,
- penentuan respons yang dicari,

- penentuan periode pemaparan atau lamanya percobaan,
- penentuan seri dosis.

7.5.1. Organisme Percobaan

Organisme percobaan harus dipilih yang paling sesuai untuk percobaan xenobiotik tertentu. Sebisa mungkin organisme uji yang dipilih adalah mempunyai karakteristik biokimiawi dan mekanisme toksisitasnya sama atau mirip dengan manusia. Seringkali hal ini tidak atau belum diketahui, oleh karena itu pemilihan hewan uji ini bisa ditentukan atas dasar metoda standar, apabila sudah ada. Hal ini penting, karena berbagai hewan uji tentunya akan memberi respons yang berbeda. Tabel 7.6. di bawah ini menggambarkan bagaimana LD berbeda pada berbagai hewan untuk xenobiotik yang sama.

Tabel 7.6. Nilai LD₅₀ Untuk Cypermethrin Pada Berbagai Hewan Uji

Hewan Uji	LD ₅₀ (mg/kg)
Tikus besar (rat)	251
Tikus	82
Hamster Siria	400
Hamster Cina	203
Anak sapi	500
Anak babi	142-284
Kambing	>600
	283-586

Sumber: Shaw & Chadwick, 1998

Dalam uji seperti ini akan dibutuhkan banyak hewan uji, oleh karena itu beberapa kriteria harus dipenuhi yaitu:

- sebisa mungkin secara genetik identik,
- dilakukan berjenjang dari organisme bersel tunggal sampai yang berderajat tinggi,
- spesies terpilih,
- berat, ukuran, anatomi, fisiologi tertentu,
- usia, gizi, keturunan, dan lain-lain.

Beberapa faktor yang juga perlu diperhatikan dalam memilih hewan uji antara lain adalah anatomi, faal, spesies, dan bagaimana hewan uji bereaksi terhadap zat yang diujikan (McKinney, 1981).

7.5.1.1. Anatomi

Anatomi hewan uji perlu diperhatikan dalam uji toksisitas. Misalnya saja ukuran, yang kecil akan mempunyai luas permukaan yang lebih besar daripada hewan yang berukuran besar. Hal ini penting dalam interpolasi dosis aman bagi manusia yang juga dapat didasarkan atas luas permukaan badan organisme.

Demikian pula halnya dengan berat badan, sebagai salah satu cara konversi dosis dari hewan uji pada manusia. Untuk melihat persamaan hewan uji dengan manusia, dan apabila saraf menjadi penting, misalnya, maka perlu diketahui, bahwa hewan uji itu mungkin berbeda dalam hal persyarafan; misalnya ikan yang sistem sarafnya dan lokasi reseptornya ada di permukaan tubuh.

Metabolisme hewan juga tergantung dari anatominya. Semakin besar hewan semakin kecil proporsi makanan yang diperlukan. Misalnya saja, ayam perlu makanan sebanyak 3,5% dari berat badannya, sedangkan burung yang lebih kecil, memerlukan proporsi makanan 25% dari berat badannya.

Contoh lain pentingnya anatomi adalah karakteristik membran antara otak dan sirkulasi, pada hamster membran tadi sulit ditembus DDT, dengan LD 50 oral = 5000 mg/kg BB, sedangkan pada tikus dan mencit membran tersebut mudah ditembus, sehingga LD50 oral menjadi 100-200mg/kg BB (McKinney, 1981).

7.5.1.2. Fisiologi

Fisiologi ataupun faal tubuh hewan uji perlu dipertimbangkan dalam pemilihan organisme uji. Misalnya tumbuhan hijau dapat berfotosintesis, dan tidak mempunyai saraf. Hewan petelur biasa mengerami telurnya dalam keadaan relatif puasa. Maka dalam melakukan fungsinya ini, berat badan itik betina akan turun dengan 25-30%, dan lemak yang ada digunakan untuk keperluan energinya, sehingga terjadi pelepasan insektisida dari lemak, masuk sirkulasi, dan kemungkinan itik akan keracunan dan mati.

Enzim biotransformasi hewan berdarah dingin, diketahui, aktivasinya rendah, sehingga insidensi kanker pada ikan rendah. Karsinogen perlu enzim biotransformasi untuk membentuk metabolit yang karsinogenik. Diketahui pula bahwa kelinci tidak peka terhadap atropin, karena punya atropin esterase, maka bila dipakai sebagai hewan uji untuk atropa belladonna, tidak akan timbul efek.

7.5.1.3. Spesies

Spesies perlu diperhatikan, karena dikenal adanya berbagai penyakit keturunan. Juga kepekaan berbagai spesies terhadap karsinogen berbeda-beda. Misalnya Ca paru-paru yang disebabkan PAH + enzim biotransformasi (aril hidrokarbon hidroksilase) akan membentuk metabolit yang karsinogenik. Bakat alergi dan lain-lain penyakit juga tergantung pada spesies. Juga mutasi spontan pada berbagai spesies hewan akan berbeda-beda.

Karena itu apabila kita menguji karsinogenisitas biasanya diambil yang bakat mutasinya sedang saja.

7.5.1.4. Respons

Respons yang dipilih dalam uji toksisitas dapat berupa respons yang sangat ringan sampai pada yang parah seperti kematian. Yang penting adalah bahwa respons juga dapat diukur secara kuantitatif. Untuk hewan uji trofis rendah sering digunakan kematian, karena sulit melihat apakah hewan uji itu sudah mati atau hanya immobil saja. Immobilitas inipun sudah sering dianggap kematian, misalnya pada *Daphnia magna*. Respons kematian paling mudah dilihat, hanya observasi harus teliti dan diperhatikan pula perioda waktu observasi, sehingga diketahui waktu terjadi kematian hewan uji.

Yang penting juga ialah bahwa respons yang diteliti itu akan memperlihatkan korelasi matematis yang konsisten seperti telah disebutkan terdahulu. Juga spesies perlu diperhatikan dalam respons ini, karena ada variasi respons antar spesies. Variasi respons ini biasanya dapat dianggap terdistribusi secara normal.

7.5.2. Periode Eksperimen

Periode eksperimen penting dalam interpolasi dosis aman pada manusia. Periode eksperimen dapat beberapa jam, hari, minggu, dan tahun. Oleh karena itu dikenal uji jangka pendek (*Short Term Test*, STT), dan uji jangka panjang.

Selain periodanya, interval waktu eksposur, konsentrasi zat pemapar, lamanya observasi setelah dipapari menjadi penting juga. Misalnya saja apakah observasi itu dilakukan sepanjang hidupnya hewan uji atau tidak (*lifetime observation*) yang nantinya akan diperhitungkan dalam mencari dosis aman (Hallenbeck, 1993).

7.5.3. Penentuan Seri Dosis

Seri dosis perlu ditentukan terlebih dahulu sebelum dilakukan percobaan. Kalau telah diketahui rentang konsentrasi yang ingin diuji, seperti misalnya buangan industri, maka dapat dipakai acuan nilai baku mutu air buangan. Maka dapat diambil sedikit di atas dan sedikit di bawah angka baku mutu tadi. Namun demikian pada prakteknya, penelitian awal perlu dilakukan, karena baik pada penentuan LD maupun LC itu organisme uji harus bertahan selama minimal 96 jam.

7.5.4. Kurva Dosis dan Respons

Setelah data terkumpul, maka data hasil uji tadi perlu disajikan dalam bentuk grafik dosis dan respons, yang biasanya merupakan kurva distribusi frekuensi kumulatif. Telah

diketahui, bahwa kurva-kurva ini akan membentuk huruf S, maka ia mempunyai fungsi yang telah diketahui sebagai berikut.

$$F(Y) = \frac{1}{(1 + e^{-Y})}, \text{ di mana } -\infty < Y < +\infty$$

Fungsi ini merupakan fungsi logistik; kurva dapat dibuat linier dengan melakukan logit,

$$\text{logit } f(y) = \ln \frac{f(y)}{1-f(y)} = y, \text{ maka bila}$$

$$f(y) = p(x), \text{ maka } y = \alpha + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j$$

$$p(x) = \{ 1 + \exp [-(\alpha + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j)] \}^{-1}$$

$$\text{di mana } \beta' = [\beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_k]$$

$$\text{logit } p(x) = \ln [p(x)/(1-p(x))]$$

$$= \frac{p(D=1 | x_1, x_2, \dots, x_k)}{p(D=0 | x_1, x_2, \dots, x_k)}$$

$$\alpha + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j$$

$$p(x) = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k$$

Dengan demikian, persamaan p(x) ini dapat diselesaikan dengan regresi ganda biasa, sehingga eksponen (α , dan β_j) diketahui dan dapat dikembalikan/disubstitusikan pada persamaan semula (Kleinbaum et al., 1982).

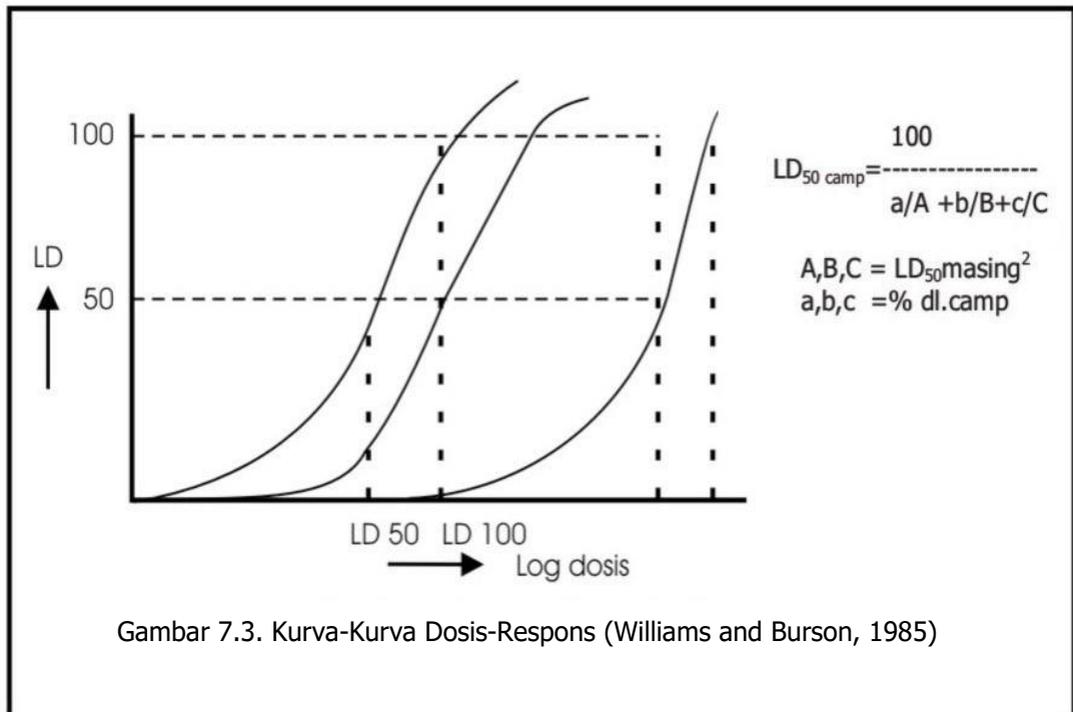
Contoh berbagai kurva dosis dan respons (Gambar 7.3.) dikemukakan di sini untuk dapat melihat pentingnya gambar kurva, sehingga sepiantas sudah diketahui hubungannya, dan dapat pula diperbandingkan dengan kurva berbagai xenobiotik yang sudah ada. Berbagai faktor penentu sangat mempengaruhi kurva tersebut, misalnya, adalah:

Rute eksposur. Bagaimana suatu xenobiotik memasuki tubuh, bagaimana terjadi absorpsi, dan organ mana yang mendapat konsentrasi terbesar sangat menentukan efek yang akan terjadi. Suatu zat bila masuk secara oral belum tentu toksik, ataupun akan lebih toksik dibanding kalau portal entrinya adalah kulit.

Jenis kelamin. Persentase lemak per berat badan pada wanita relatif lebih besar daripada pria. Kepekaan wanita beda dari pria, terutama bila menyangkut sistem reproduksi dan teratogenisitas. Beberapa kanker dan penyakit juga terkait dengan jenis kelamin.

Usia. Usia menentukan faal dari seseorang. Anak lebih besar laju pernapasannya, dan kepekaannya organ tubuh berbeda terhadap berbagai xenobiotik. Dikatakan bahwa anak lebih peka terhadap zat yang menyebabkan depresi susunan saraf pusat. Demikian pula terdapat perbedaan dalam metabolisme, eliminasi zat kimia dibandingkan dengan orang dewasa. Semua ini akan menentukan dosis yang diperlukan untuk menimbulkan suatu efek toksik.

Komposisi genetik. Komposisi genetik manusia tidak ada yang sama, dan ini sangat menentukan efek yang timbul pada keadaan keracunan. Terutama yang menderita penyakit keturunan, sehingga dapat timbul keadaan yang lebih peka daripada orang normal.



Gambar 7.3. Kurva-Kurva Dosis-Respons (Williams and Burson, 1985)

Interaksi kimiawi xenobiotik. Interaksi zat kimia dapat meningkatkan (sinergis) atau menurunkan (antagonis) efek yang terjadi. Selain faktor-faktor yang menentukan dosis dan respons, ada pula faktor-faktor yang mempengaruhi toksisitas suatu xenobiotik, yaitu:

- komposisi kimiawi dan fisis suatu zat dapat menentukan cara absorpsi, misalnya: komposisi kimia (garam, basa, asam, dll.), komposisi fisis (ukuran,

cairan/padatan/gas), kemudahan menguap, adanya ketidakmurnian, stabilitas suatu campuran,

- konsentrasi, jenis eksposur, lamanya eksposur, seringnya eksposur, dll.,
- status imunologis seseorang, status nutrisi, status hormonal, usia, jenis kelamin, kesehatan atau penyakit yang diderita,
- faktor lingkungan seperti suhu, tekanan parsial, wujud media transmisi seperti air, udara atau padatan, adanya zat kimia-fisika lain, metoda penanganan xenobiotik, peralatan keamanan yang digunakan, dan lain-lain.

7.5.5. Interaksi

Di dalam lingkungan, xenobiotik hampir selalu berada dalam campuran, baik dengan zat kimia, fisika, maupun biologi. Interaksi antar berbagai zat itu masih sulit diteliti oleh para ahli toksikologi. Biasanya orang menguji toksisitas xenobiotik itu satu per satu. Interaksi ini dapat terjadi di luar tubuh karena terjadi reaksi kimiawi yang menimbulkan senyawa baru yang bersifat lebih toksik (interaksi kimia), atau karena interaksi dengan tubuh organisme (interaksi biologis) yang menimbulkan efek yang berlebih ataupun berkurang. Orang sudah lama memeriksa hal ini, terutama dalam hal obat; misalnya saja, ada interaksi obat dengan nutrisi seperti tetrasiklin dengan susu, sehingga terbentuk khelate dengan kalsium yang tidak larut. Interaksi dalam tubuh dapat terjadi saat absorpsi, transportasi, distribusi dan penyimpanan, biotransformasi, dan ekskresi. Interaksi dengan reseptor yang aktif akan menimbulkan respons, dan bila terjadi interaksi dengan reseptor yang pasif, maka tidak terjadi respons tetapi mungkin terjadi penyimpanan. Interaksi sangat dipengaruhi oleh dosis xenobiotik. Interaksi antar xenobiotik dapat menimbulkan efek aditif, sinergistik, dan antagonistik (Borzelleca, 1996).

Interaksi aditif terjadi apabila efek kombinasi dua atau lebih xenobiotik merupakan pertambahan dari efek masing-masing zat. Hal ini dapat terjadi apabila mekanisme efek sama, identikal, ataupun berbeda. Misalnya, apabila dua jenis organofosfat diberikan serentak, maka efek aditif yang akan terjadi.

Interaksi sinergistik atau potensiasi terjadi apabila efek kombinasi dua atau lebih zat memberikan efek yang lebih dari pertambahan masing-masing efek. Sinergisme dapat terjadi apabila berbagai xenobiotik tadi memberikan efek pada organ yang sama, ataupun salah satu zat tidak menimbulkan efek bila diberikan sendiri, tetapi dapat meningkatkan efek daripada zat yang lain. Misalnya adalah etanol yang meningkatkan toksisitas karbon tetraklorida atau kloroform terhadap hati.

Interaksi antagonisme terjadi apabila dua atau lebih kombinasi zat menimbulkan efek yang kurang dari pertambahan masing-masing zat. Hal ini dapat terjadi apabila zat yang satu menetralkan efek zat yang lain. Dapat pula terjadi reaksi kimiawi antar zat dan menimbulkan senyawa baru yang kurang toksik. Dapat juga terjadi efek yang memodifikasi reaksi dengan enzim, sehingga biotransformasi menjadikan zat yang toksik menjadi tidak efektif. Atau pun terjadi kompetisi untuk bergabung dengan reseptor yang sama, sehingga terjadi blokade. Contohnya, ialah CO dan O₂ terhadap Hb. Ada/tidak adanya interaksi berbagai zat dapat ditentukan sebagai berikut:

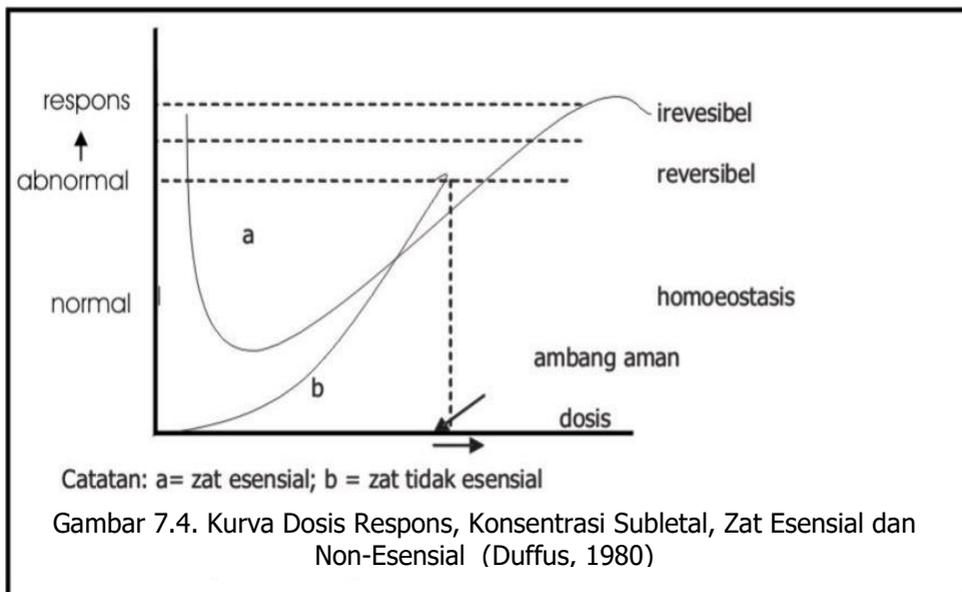
- tentukan kurva dosis-respons bagi setiap xenobiotik,
- gambarkan kurvanya,
- lakukan eksperimen dengan respons yang sama, tetapi dengan kombinasi campuran zat,
- buat isobologram (isos=sama, bolos = menggembung) untuk melihat apakah ada efek aditif, sinergistik ataupun antagonistik (Borzelleca, 1996).

Suatu metoda skrining untuk melihat apakah ada interaksi, adalah menentukan LD₂₀ bagi masing-masing zat; kemudian berikan kedua zat dalam kombinasi sekaligus. Bila respons melebihi 40% maka ada sinergisme; bila kurang dari 40% ada antagonisme, dan bila sama dengan 40% maka ada interaksi aditif. Interaksi ini sayangnya belum dapat diprediksi dari struktur kimiawinya, tetapi mungkin bisa diperkirakan bila diketahui mekanisme efek masing-masing zat.

7.5.6. Kurva Konsentrasi Subletal

Akibat adanya baku mutu lingkungan, maka konsentrasi xenobiotik dalam lingkungan, menjadi rendah atau juga disebut tidak mematikan atau subletal. Apakah konsentrasi seperti ini akan tetap aman atau kapan konsentrasi sedemikian dapat membahayakan. Seperti telah dikemukakan terdahulu, banyak efek xenobiotik yang belum diketahui dengan pasti, apalagi dalam konsentrasi rendah ataupun subletal. Karena kemungkinan kumulasi, perlu dipantau efek kronisnya.

Ada berbagai zat yang esensial dalam jumlah kecil (mikronutrien) bagi faal tubuh yang normal. Zat sedemikian akan menimbulkan kelainan apabila jumlah yang tersedia tidak ada atau sangat minim, dan abnormalitas akan timbul pula apabila kadar zat yang ada melebihi yang diperlukan. Zat seperti ini digolongkan pada zat mikronutrien, seperti Zn, Co, dan lain-lain. Kurva dosisrespons terhadap zat sedemikian akan berbentuk sebagai tampak dalam Gambar 7.4.



7.6. Ekstrapolasi Bioesei Ke Manusia

Uji bioesei pada akhirnya digunakan untuk mencari dosis aman bagi manusia atau membuat standar kualitas lingkungan. Ekstrapolasi hasil bioesei kepada manusia ditentukan oleh dua sifat xenobiotik yang penting, yakni, zat yang bersifat karsinogenik dan yang tidak karsinogenik.

Ekstrapolasi dapat didasarkan atas berat badan dan luas permukaan, ataupun atas dasar farmakokinetikanya yang dikenal sebagai *physiologically based pharmacokinetic model* (PBPM).

Penentuan karsinogenisitas menurut International Agency Research on Cancer (IARC) tampak pada Tabel 7.7. sebagai berikut.

Tabel 7.7. Klasifikasi Karsinogenisitas IARC

Kategori	Bobot Bukti
Karsinogen bagi manusia	Ada data pada manusia
Mungkin sekali karsinogen manusia	Data pada manusia terbatas, data pada hewan cukup.
Kemungkinan karsinogen manusia	Data pada manusia dan hewan terbatas
Tidak dapat diklasifikasi	Data tidak cocok untuk kedua kategori
Mungkin bukan karsinogen manusia	Tidak ada data pada hewan dan manusia

Sumber: Hallenbeck, 1993

7.6.1. Ekstrapolasi Zat Yang Tidak Karsinogenik

Ekstrapolasi golongan ini didasarkan atas berat badan dan dengan memasukkan berbagai faktor keamanan (*safety factors*), sebagai berikut:

$$\text{Safe Human Dose (SHD)} = \frac{\text{ThD}_{00} \text{ (mg/kg/h)} \times 70\text{kg}}{\text{SF}}$$

ThD = *threshold dose*/ambang tanpa ada efek yang nyata
 SF = *safety factor*, 10-1000

$$\text{SHD inhalasi} = \frac{(\alpha)(\text{BR})(\text{C})(t)}{\text{BB}}, \text{ mg/kg, di mana}$$

α = % zat yang diabsorpsi paru-paru, = 100% bila tidak diketahui
 BR = *breathing rate*/laju pernapasan
 T = waktu BRxt = 30 m³/ 24 jam
 BB = 70 kg bagi laki-laki, 60 kg bagi wanita

$$C_{aman} = \frac{SHD}{30m^3/h} = \dots\dots mg/m^3$$

$$= \frac{C \text{ mg/m}^3}{BM} \times 24,5 \text{ ppm}$$

SHD_{ingestion}:

$$= C_{air} = \frac{SHD}{2L/h}$$

Perhitungan SHD termasuk bagi kelompok yang beresiko tinggi/kritis seperti wanita hamil, bayi, anak balita, dan seterusnya. Bahasan yang lebih rinci dapat dibaca dalam buku-buku analisis resiko kuantitatif.

7.6.2. Ekstrapolasi Zat Yang Karsinogenik

Semua zat yang dianggap karsinogenik, dalam analisis ini dianggap tidak mempunyai ambang aman, maka dalam melakukan ekstrapolasi, diambil prakiraan angka yang dapat diterima oleh masyarakat. Apakah misalnya, orang dapat menerima atau mentolerir pertambahan satu orang penderita kanker dalam 100.000 penduduk atau satu orang per 10.000.000 penduduk. Maka SHD dapat dituliskan sebagai berikut:

$$SHD = \dots \times 10^{-5} - 10^{-7}$$

Angka sedemikian berarti bahwa eksposur seumur hidup akan menambah satu penderita kanker per 100.000 dan/atau 10.000.000 penduduk. Namun demikian efek racun hanya dapat dipastikan apabila:

- terjadi kecelakaan/kesalahan,
- ada bukti dari hasil studi epidemiologis, dan
- ada pengalaman eksposur di industri.

7.7. Permasalahan Uji Toksisitas

Uji toksisitas menghadapi berbagai kontroversi, dan argumentasi, dari berbagai pihak. Tentunya organisme uji itu jauh berbeda dari manusia; selain itu juga masyarakat penyayang binatang sangat menentang uji toksisitas sedemikian. Tentunya keadaan laboratorium juga berbeda dari realitas.

7.7.1. Masalah Organisme Percobaan

Untuk mendekati mamalia atau manusia, sedapat mungkin mendapatkan spesies yang sensitivitasnya menyerupai/mendekati manusia. Hal ini telah terbukti tidak dapat sempurna. Misal yang paling terkenal adalah obat penenang ibu hamil Thalidomide yang pada uji toksisitas hewan tidak didapat efek jelek, tetapi pada manusia terjadi focomelia. Organisme uji juga bisa dilihat dari gennya, dan sedapat mungkin dicari yang secara genetis sama.

Dosis yang didapat dari percobaan seperti NOEL, NOAEL, LOEL, LOAEL merupakan fungsi dari berbagai faktor seperti: spesies, patologi, jumlah sampel, rute eksposur, usia pertama mendapat eksposur, periode eksposur, lamanya observasi (dari awal sampai akhir eksperimen).

7.7.2. Perbedaan Antara Lingkungan Alamiah dan Lingkungan Laboratorium

Seperti telah dikemukakan, lingkungan di laboratorium tentunya sangat berbeda dari lingkungan alamiah. Tabel 7.8. berikut ini meringkas perbedaan-perbedaan tersebut.

Tabel 7.8. Perbedaan Kondisi Laboratorium dan Alamiah

Laboratorium	Alamiah
Dapat dibuat bebas patogen	Tidak bebas patogen
Keadaan steril	Tidak dapat disterilkan
Cahaya buatan	Cahaya alamiah tidak terkontrol
Eksposur konstan	Eksposur tidak jelas
Populasi homogen	Populasi heterogen
Zat racun murni	Racun campuran

Sumber: McKinney, 1981

7.8. Pemantauan

Sekalipun uji toksisitas telah diusahakan, masih banyak sekali terdapat racun di dalam lingkungan yang belum diketahui efeknya. Oleh karenanya perlu sekali dilakukan pemantauan yang kontinyu, baik dalam pemanfaatan xenobiotik di industri maupun di dalam lingkungan. Pemantauan hendaknya tidak hanya memantau aspek lingkungannya saja, seperti kecenderungan yang ada saat ini, tetapi kesehatan masyarakatnya pun perlu

dipantau. Telah banyak contoh yang dapat diambil hikmahnya, yakni, kasus Minamata, Itai-itai, Chernobyl, dan lain-lain.

Saat ini sudah banyak literatur yang menentukan efektivitas pemantauan masyarakat untuk berbagai xenobiotik. Orang mengenal BEI atau *biological exposure indicators*, yang menentukan jaringan tubuh tertentu yang paling efektif dipantau, dan telah pula ditentukan kadar normal bagi xenobiotik tersebut di dalamnya. Daftar seperti ini dapat dilihat dalam standar lingkungan kerja yang dibuat oleh American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH). Jaringan yang dipantau dapat berupa darah, urin, cairan cerebro-spinalis, kuku, rambut, enzim, protein dalam serum, elektrolit, DNA, perilaku, alat reproduksi, dan lain-lain.

Pemantauan juga perlu dilakukan terhadap flora dan fauna. Misalnya, pernah para siswa yang sedang berlibur, menemukan di danau-danau Minnesota katak-katak yang cacat, seperti bermata satu, berkaki tiga dan seterusnya, mengindikasikan bahwa ada zat pencemar yang mutagenik (National Geographic, April, 1997). Perubahan biomassa, populasi berbagai fauna dan flora di alam bebas, juga ditemukan oleh pemantauan masyarakat pencinta hewan (Colborn, 1997). **Pemantauan pun bisa dilakukan dengan melihat adanya potensi akumulasi pencemar melalui rantai makanan seperti halnya teridentifikasi untuk POPs dan logam berat (Kunaefi and Ariesyady, 2000; Prilia et al., 2013).**

7.9. Pustaka

1. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, Washington, D. C., 1998.
2. Ariens, E.J.; Simonis, A.M.; Mutschler, E. Toksikologi Umum. Diterjemahkan oleh Wattimena, Yoke, R. dkk. Yogyakarta: UGM Univ. Press, 1993.
3. **Ariesyady, Herto Dwi and Soemirat, Juli. Copper Ecokinetic in Static Aquatic Environment, Indonesian Journal of Toxicology, 1(1), pp 1-12, 2000.**
4. Borzelleca, J.F. General Principles: Threshold and Dose Respons Relationship. In Ruchirawat, M. and Shank, R.C. Environmental Toxicology. Vol.1. Bangkok: Chulaborn Research Institute, 1996.
5. _____, Factors that Influence Toxicity. In Ruchirawat, M. and Shank, R.C. Environmental Toxicology. Vol.1. Bangkok: Chulaborn Research Institute, 1996.
6. _____, Safety Evaluation. In Ruchirawat, M. and Shank, R.C. Environmental Toxicology. Vol.1. Bangkok: Chulaborn Research Institute, 1996.
7. **Celik, T. A. and Aslanturk, O. S. Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of *Inula viscosa* Leaf Extracts with Allium Test. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010.**
8. Colborn, Theo et al., Our Stolen Future. A Plume Book. N.Y.:Pinguin Books Ltd.,1997.
9. Duffus, John. H. Environmental Toxicology. London: Edward Arnold Pub., 1980.
10. Hallenbeck, William H. Quantitative Risk Assessment for Environmental and Occupational Health. Ann Arbor: Lewis Pub., 1993.
11. Hodgson, Ernest and Levi, Patricia A. Modern Toxicology. Stamford: Elsevier Science Pub.Co., 1997.

12. Kleinbaum, David et al. Epidemiologic Research. N.Y.: Van Nostrand Reinhold Co.,1982.
13. Kunaefi, Tresna Dermawan and Ariesyady, Herto Dwi (2000), The Potency of Heavy Metals Bioaccumulation in Seribu-Islands Waters (Case Study: Kelapa Island), Indonesian Journal of Toxicology, 1(2), pp 16-21.
14. Leme, D. M. and Marin-Morales, M. A. *Allium cepa* Test in Environmental Monitoring: A Review on Its Application. Mutational Research Journal Review, 682(1), 2009.
15. Martina, Lerry. Penentuan *Whole Effluent Toxicity* Limbah Laundry Melalui Tes Mutagenisitas dan Pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa*. Tesis. Program Studi Teknik Lingkungan FTSL ITB, 2011.
16. McKinney, J.D. Environmental Health Chemistry. Ann Arbor: Ann Arbor Sc.,1981.
17. National Geographic. Earth Almanac. What's Deforming Our Frogs?April, 1997.
18. Prilia, Desiana, Oginawati, Katharina and Ariesyady, Herto Dwi. Analysis of Mercury in Water and Sediment Distribution and Its Bioaccumulation Potential in Fish in the Small Scale Gold Mining Area (Case Study: Ciberang River, Lebak, Banten). Journal of Water Sustainability. 3 (2), pp 107-116, 2013.
19. Shaw, Ian C. and Chadwick, John. Principles of Environmental Toxicology. London: Taylor and Francis, 1998.
20. Soemirat, Juli, Oginawati, Katharina and Ariesyady, Herto Dwi. Determination of Potassium Ferrocyanatum Toxicity by Bioassay using *Daphnia magna* Straus as Animal Testing, Indonesian Journal of Environmental Engineering, 3(1), pp 1-6, 1997.
21. Sopandi, Yunika. Evaluasi Pengaruh Paparan Radiasi Terhadap Efek Sitotoksik dan Genotoksik pada *Allium cepa* Sebagai Bioindikator Kondisi Lingkungan Kerja Bagian Radiologi Rumah Sakit. Tesis. Program Studi Teknik Lingkungan FTSL ITB, 2014.
22. Waldbott, George L. Health Effects of Environmental Pollutants. St.Louis: The C.V.Mosby Co.,1973.
23. Williams, Phillip L. and Burson, James L. Industrial Toxicology. N.Y.: Van Nostrand Reinhold Co., 1985.