

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rhodamine B sebagai racun

2.1.1 Definisi Racun

Racun ialah zat yang bekerja dalam tubuh secara kimiawi dan fisiologik yang dalam dosis tertentu dapat menyebabkan gangguan kesehatan bahkan menyebabkan kematian.

Berdasarkan tempat di mana racun berada, racun yang disebabkan rhodamine B paling sering berasal dari makanan. Reaksi keracunan paling cepat terjadi jika mempunyai *port d' entree* inhalasi. Kemudian cara masuk lain secara berturut-turut ialah intravena, intramuskular, intraperitoneal, subkutan, peroral, dan paling lambat ialah bila melalui kulit yang sehat².

Pengaruh racun tergantung dari dosis, racun memiliki dua konsep yaitu konsep kuantitatif dan konsep kualitatif. Konsep kuantitatif menjelaskan apabila digunakan dosis tinggi maka efeknya akan berbeda dengan penggunaan dosis rendah. Pemberian dosis rendah yang berulang dapat menyebabkan efek kronik. Racun dengan konsep kualitatif adalah efek racun pada tiap individu berbeda-beda. Konsentrasi dari racun berpengaruh pada racun yang bekerja secara lokal. Dapat terjadi addisi dan sinergisme yang dapat memperburuk efek racun.

Terdapat 4 mekanisme toksistas umum yaitu:

- 1) Pengantaran bahan toksik melalui absorpsi, distribusi, reabsorpsi, dan ekskresi.
- 2) Interaksi dengan molekul target yang berupa protein, lipid, DNA, dan kompleks makromolekular.
- 3) Terjadinya mekanisme kerusakan dan disfungsi pada organ, jaringan, atau sel yang terpapar.
- 4) Terjadi kerusakan reversible atau irreversible pada sel atau jaringan.

2.1.2 Rhodamine B: definisi, metabolisme, efek

2.1.2.1 Definisi Rhodamine B

Rhodamine B merupakan zat pewarna sintetis berupa serbuk berwarna merah keunguan sering juga disebut sebagai pigment violet, menghasilkan warna merah, serbuknya tidak berbau, warna merah disebabkan adanya ikatan konjugasi di dalamnya. Rhodamine B ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$) memiliki nama ilmiah [9-(2-carboxyphenyl)-6-diethylamino-3-xanthenylidene]-diethylammoniumchloride, mempunyai berat molekul 497.02 g/mol. Rhodamine B bersifat larut dalam air dengan kelarutan sampai dengan 50 g/L. Berdasarkan Inchem (2006) nilai LD50 rhodamine adalah 887.9mg/kg berat badan. Mempunyai titik lebur 65°.

Rhodamine B bersifat larut air sehingga sering digunakan sebagai water tracking untuk mengetahui time of travel pada permukaan air maupun pada dasar. Larut juga dalam alkohol, NaOH, dan HCl. Dapat digunakan juga sebagai indikator polutan Pb, Bi, Co, Au, Mg, dan Th. Terdapat juga dalam penggunaan macam-macam bioteknologi lain, salah satunya ELISA. Mengetes adanya rhodamine B dalam suatu larutan dapat menggunakan fluorometri.

2.1.2.2 Metabolisme Rhodamine B

Rhodamine B masuk kedalam tubuh dan secara ekstensif di absorpsi oleh traktus gastrointestinal dan di metabolisme pada anjing, kucing, dan tikus dengan hanya 3-5% dari dosis total Rhodamine B yang dimasukkan. Rhodamine B tidak dapat termetabolisme di dalam hati. Rhodamine B dapat ditemukan dalam bentuk aslinya di urin atau feces.

Bioakumulasi Rhodamine B terhadap fase organik cukup besar, sebagai parameter nya adalah nilai log K_{ow} yang diperoleh pada suatu percobaan adalah berkisar 1,9-2,0.³

Pada uji toksisitas Rhodamine B secara in vitro menunjukkan kemungkinan adanya *adduct* akibat interaksi globin dengan rhodamine, toksisitas yang disebabkan rhodamine B di dalam tubuh disebabkan oleh interaksi antara rhodamine B

yang masuk ke dalam aliran darah dengan asam amino yang kemudian membentuk *globin adduct*⁴. *Adduct* didefinisikan sebagai suatu bentuk kompleks jika senyawa kimia berikatan dengan molekul biologi. Jumlah adduct yang terbentuk dari senyawa karsinogen maupun mutagen dapat dijadikan sebagai parameter dalam memperkirakan resiko atau bahaya dari senyawa tersebut⁵.

2.1.1.3 Efek Rhodamine Terhadap Kesehatan

Berdasarkan studi EFSA, Rhodamine B bersifat genotoxic dan mutagenik⁶. Rhodamine B dapat menimbulkan iritasi pada mata dan kulit. Apabila tertelan dapat menyebabkan muntah, mual, dan diare. Bila masuk ke dalam darah melalui luka dapat menyebabkan kerusakan sistemik yang membahayakan⁷.

Pada percobaan yang dilakukan Kaji *et al.* (1991) yaitu efek pewarna kosmetik rhodamin B terhadap proliferasi fibroblast bibir manusia pada sistem kultur dan menemukan bahwa rhodamin B pada konsentrasi 25 µg/ml dan konsentrasi yang lebih tinggi, secara signifikan menurunkan jumlah sel setelah dikultur selama 72 jam. Menurut Pipih dan Juli (2000), pemberian dosis rhodamin B 150 ppm, 300 ppm, dan 600 ppm 6 pada mencit menunjukkan terjadinya perubahan bentuk dan

organisasi sel dalam jaringan hati dari normal ke patologis, yaitu perubahan sel hati menjadi nekrosis dan jaringan di sekitarnya mengalami desintegrasi atau disorganisasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma⁸.

Uji coba lain pada tikus yang diberi rhodamine B dan Methanl Yellow selama satu minggu berturut-turut menunjukkan adanya pembesaran organ berupa peningkatan berat hati, ginjal dan limpa. Pemberian secara bersamaan dapat menimbulkan kanker⁹.

2.2 Toksisitas pada Testis

2.2.1 Respon toksik pada testis

Sel Leydig dibentuk dari perivaskular dan peritubular *mesenchym-like*, kemudian diferensiasinya di induksi oleh LH. Respon toksik yang dapat terjadi pada sel leydig berupa hiperplasia atau neoplasia sel Leydig. Namun sel Leydig adalah sel yang paling resisten terhadap toksik.

Sel Sertoli memegang peranan penting pada proses spermatogenesis (Foster, 1992). Sel ini juga bertanggung jawab atas volum testis terakhir dan produksi *Sertoli cell junction* membentuk *blood testis barrier*. Tubulus seminiferus yang avaskuler menyebabkan

segala bentuk nutrisi, hormon, dan bahan kimia harus melewati antara atau menembus sel Sertoli untuk dapat masuk ke dalam, dan dari kompartmen satu ke yang lainnya. Hal ini menyebabkan sel Sertoli mempunyai sensitifitas sedang terhadap bahan kimia dan merupakan sel yang paling sering menjadi target awal toksisitas. Gambaran patologis yang sering terlihat pada sel Sertoli adalah vakuolisasi.

Germ cell merupakan tujuan utama jejas toksik, yang mana biasanya *toxicant* mempengaruhi sel Sertoli atau sel Leydig terlebih dahulu. Hampir sebagian besar *toxicant* menyebabkan degenerasi sel germinal dan deplesi ke sel matur atau yang lebih muda. Apabila jejas terus berlangsung dan bersifat berat, hasil akhir dari lesi dapat menyebabkan hanya tinggal sel Sertoli yang tersisa⁽¹²⁾. Walaupun kebanyakan lesi yang berupa deplesi *germ cell* reversibel, namun jejas pada DNA sel germinal dapat menyebabkan efek yang serius dan irreversible.

Berdasarkan European Association of Urology, perhitungan *germ cell* secara histologi menggunakan *Johnsen's Score* adalah sebagai berikut:

- 1) Score 10 : Spermatogenesis sempurna
- 2) Score 9 : Spermatid tua, disorganisasi epitelium
- 3) Score 8 : kurang dari 5 spermatozoa per tubulus, sedikit spermatid tua

- 4) Score 7 : tidak ada spermatozoa, tidak ada spermatid tua, banyak spermatid muda
- 5) Score 6 : tidak ada spermatozoa, tidak ada spermatid tua, sedikit spermatid muda
- 6) Score 5 : tidak ada spermatid atau spermatozoa, banyak spermatosit
- 7) Score 4 : tidak ada spermatozoa atau spermatid, sedikit spermatosit
- 8) Score 3 : spermatogonia saja
- 9) Score 2 : tidak ada sel germinal, hanya sel Sertoli saja
- 10) Score 1 : tidak ada epitel seminiferus

Dengan adanya Johnsen's score mempermudah untuk menentukan keadaan spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus, seperti dianjurkan oleh EAU¹³.