

**PENGARUH PEMBERIAN NATRIUM NITRIT TERHADAP  
FUNGSI ENZIMATIS KADAR ALANINE TRANSAMINASE  
(ALT) dan ASPARTATE TRANSAMINASE (AST) SERTA  
GAMBARAN HISTOPATOLOGIS ORGAN HATI TIKUS  
PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**OLEH:  
HUMAIRAH AZZAHRA  
H01216008**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN SAINS  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL**

**SURABAYA  
2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Humairah Azzahra

NIM : H01216008

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “PENGARUH PEMBERIAN NATRIUM NITRIT TERHADAP FUNGSI ENZIMATIS KADAR ALANINE TRANSAMINASE (ALT) dan ASPARTATE TRANSAMINASE (AST) SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGIS ORGAN HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”.

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 20 Maret 2020

Yang menyatakan,

  
METERAI  
TEMPEL  
Tgl. 20  
70BFD1AHF552799408  
6000  
ENAM RIBU RUPIAH  
(Humairah Azzahra)  
NIM. H01216008

## LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : HUMAIRAH AZZAHRA

NIM : H01216008

JUDUL : PENGARUH PEMBERIAN NATRIUM NITRIT TERHADAP FUNGSI ENZIMATIS KADAR ALANINE TRANSAMINASE (ALT) dan ASPARTATE TRANSAMINASE (AST) SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGIS ORGAN HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 12 Maret 2020

Dosen Pembimbing I



( Eva Agustina, M.Si. )  
NIP. 19890830201403200

Dosen Pembimbing II



( Esti Tyastirin, M.KM. )  
NIP. 198706242014032001

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi HUMAIRAH AZZAHRA ini telah dipertahankan  
di depan tim penguji skripsi  
di Surabaya, 20 Maret 2020

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



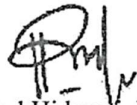
Eva Agustina, M.Si.  
NIP. 198908302014032008

Penguji II



Esti Tyastirin, M.KM.  
NIP. 198706242014032001

Penguji III



Irul Hidayat, M. Kes.  
NIP. 198102282014032001

Penguji IV



Drs. Abdul Manan, M.Pd.I  
NIP. 19700610199803100

Mengetahui,  
Plt. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag  
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN

Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: [perpus@uinsby.ac.id](mailto:perpus@uinsby.ac.id)

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : HUMAIRAH AZZAHRA  
NIM : H01216008  
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/BIOLOGI  
E-mail address : [hummairah.azzahrah@gmail.com](mailto:hummairah.azzahrah@gmail.com)

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain  
yang berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN NATRIUM NITRIT TERHADAP FUNGSI ENZIMATIS KADAR ALANINE TRANSAMINASE (ALT) dan ASPARTATE TRANSAMINASE (AST) SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGIS ORGAN HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 20 Maret 2020  
Penulis

  
Humairah Azzahra

















# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Nitrit adalah senyawa yang terbentuk secara alamiah dari siklus nitrogen di lingkungan. Senyawa nitrit dapat terbentuk dari pelapukan tanaman, pupuk kandang, reduksi nitrat, dan residu organik lainnya. Natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) ialah bentuk garam dari ikatan antara natrium (Na) dan nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) (Lundberg, et al., 2008). Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dapat berikatan dengan oksigen (teroksidasi) menjadi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dapat direduksi menjadi nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) melalui berbagai proses biologis dengan bantuan mikroba di dalam tanah, tanaman dan lain-lain (NTP, 2000).

Nitrat dan nitrit merupakan senyawa toksik yang ada di lingkungan dan berpotensi menimbulkan masalah kesehatan jika keberadaannya di dalam tubuh melebihi ambang batas yang ditentukan. Senyawa nitrit juga dijumpai dalam makanan, udara, tanah, air, dan sayuran serta terdapat senyawa nitrit endogen di dalam tubuh manusia (Ogur *et al.*, 2005). Natrium nitrit biasanya digunakan sebagai bahan *curing* atau bahan pengawet makanan olahan terutama daging dan ikan, dikarenakan kemampuan menghambat pembusukan yang disebabkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* serta dapat menjaga aroma dan memberikan warna merah pada daging (Honikel, 2008). Batas total asupan nitrit dan nitrat cukup rendah dalam konsumsi sehari-hari untuk manusia yaitu, total asupan harian nitrat dan nitrit untuk seseorang adalah sekitar masing-masing 50–120 mg dan 2-5 mg. Jumlah total asupan nitrit harian juga disebut 8-16 mg untuk 60 kg orang (Tan, 2003). Sebagaimana yang telah ditetapkan oleh JECFA (The Joint FAO (*Food and*

*Agriculture Organization of the United Nations*)/WHO (*World Health Organization*) Expert Committee on Food Additives) bahwa nilai asupan harian atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) untuk nitrit adalah 0-0,07 mg/kg bb per hari (FAO/WHO, 2002).

Senyawa N-nitroso yang terbentuk ketika nitrit berikatan dengan senyawa amin bersifat racun dan dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia dan hewan. Dampak berbahaya dari  $\text{NaNO}_2$  dikarenakan pada saat pemaparan senyawa natrium nitrit, nitrit yang masuk ke dalam tubuh dikonversi menjadi kation nitrosonium ( $\text{NO}^+$ ), kemudian akan bereaksi dengan amina dan amida untuk membentuk nitrosamine dan nitrosamida. Salah satu bentuk nitrosamine yaitu senyawa N-nitroso, seperti N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), dan N-nitrosomorpholine (NMOR), yang kemungkinan bersifat karsinogenik bagi manusia, NDMA bersifat hepatotoksik serta menyebabkan fibrosis dan tumor (Erkekoglu & Baydar, 2010). NDEA telah terbukti mampu menginduksi produksi radikal bebas pada jaringan hati tikus secara *in vivo* dikarenakan termasuk senyawa N-nitrosamin yang memiliki kemampuan untuk menginduksi stres oksidatif dan memicu terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Yamada, et al., 2006). Dalam darah,  $\text{NO}_2$  dapat berikatan dengan hemoglobin dan mengoksidasi zat besi di situs heme membentuk methemoglobin yang tidak dapat mentransport oksigen, dengan demikian menghasilkan methemoglobinemia (Belcastro et al., 2017). Selain itu, nitrit yang berikatan dengan hemoglobin juga akan menginduksi produksi ROS

yang menyebabkan stress oksidatif pada membran sel eritrosit sehingga terjadi hemolisis (Ambarwati, 2012).

Hati (hepar) termasuk salah satu organ penting di dalam tubuh karena berfungsi sebagai agen detoksifikasi dan regulator dari semua sistem metabolisme yaitu karbohidrat, protein serta lemak. Kerusakan hati dapat diakibatkan oleh infeksi atau paparan zat kimia melalui inhalasi, pemberian per oral, atau parenteral (Guyton & Hall, 2009). Li et al., (2015) berpendapat bahwa stress oksidatif yang terbentuk akibat pembentukan ROS oleh mitokondria, mikrosom, serta peroksisom yang ada pada sel parenkim di hati dapat menimbulkan kerusakan hati seperti penyakit kronis pada organ hati seperti sirosis hepatic, hepatitis kronis, serta karsinoma hepatoseluler. Menurut Kumar, et al., (2014), mekanisme kerusakan sel hati yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan cara merusak lapisan fosfolipid yang menyusun membran sel hati, sehingga mengganggu permeabilitas membran sel lalu terjadi peningkatan influks kalsium dari ekstrasel maupun pelepasan kalsium dari retikulum endoplasma dan mitokondria. Peningkatan influks kalsium memicu pengaktifan sejumlah enzim perusak seperti enzim protease yang dapat merusak DNA, ketika DNA rusak maka poliribosom meningkat dan terjadi pengosongan NAD yang mengakibatkan terhambatnya sintesis ATP. Sintesis ATP yang terhambat menyebabkan kerusakan pada sel hati atau nekrosis, kemudian diikuti oleh meningkatnya kadar enzim alanine transaminase (ALT) dalam serum akibat lisisnya lisosom dalam membrane plasma.

Tubuh memiliki enzim yang berfungsi sebagai indikator terjadinya gangguan kesehatan yaitu enzim transaminase, dengan cara mengkatalisis pemindahan gugus amino secara *reversible* antara asam amino dan alfa-ketoglutarate untuk menghasilkan glutamate dan ketoacid. Terdapat 2 jenis enzim transaminase yang sering dikaitkan dengan kerusakan sel pada organ hati yaitu alanine transaminase (ALT) dan aspartate transaminase (AST) dikarenakan konsentrasi ALT tertinggi pada tubuh terdapat di hati, maka aktivitas ALT memiliki spesifitas yang relatif tinggi sebagai indikator kerusakan pada hati. ALT terletak di dalam sitoplasma, sedangkan AST terletak di dalam sitoplasma dan mitokondria (Thapa & Walia, 2007). Jika terjadi gangguan kesehatan pada organ hati akibat senyawa toksik atau radikal bebas, maka berbagai enzim yang berada di sitosol akan masuk ke peredaran darah dan menyebabkan adanya perbedaan permeabilitas pada membrane sel sehingga kadar enzim transaminase dalam darah akan meningkat. Kadar normal pada hewan percobaan tikus putih yaitu ALT 17.5-30.2 U/liter dan AST 45.7-80.8 U/liter (Smith & Mangkoewidjojo, 1988)

Studi mengenai air minum dengan kadar natrium nitrit mulai dari 90-1230 mg/kg bb (sesuai dengan 60-824 mg/kg bb per hari untuk nitrit) yang dilakukan pada mencit selama 14 minggu, secara keseluruhan menunjukkan penurunan berat badan, berat limpa dan jumlah sperma pada mencit jantan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Pada mencit betina menunjukkan pengaruh terhadap berat organ (jantung, ginjal, hati dan limpa) dan siklus estrus. Air minum dengan dua kadar nitrit tertinggi menyebabkan terbentuknya hyperplasia pada sel squamosa di lambung dan hematopoiesis



ekstramedular. NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) pada studi ini yaitu 190 mg/kg bb justru menyebabkan degenerasi testis pada mencit jantan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hassan et al., (2009) yaitu pemberian natrium nitrit pada tikus putih jantan (*Rattus rattus*) dengan konsentrasi 80 mg/kg bb selama tiga bulan menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar glukosa, bilirubin, urea, kreatinin dan aktivitas enzim AST, ALT serta ALP.

Studi lain mengenai air minum dengan kadar natrium nitrit yang lebih rendah yaitu pada tingkat dosis 30-340 mg/kg bb per hari natrium nitrit (sesuai dengan 20-228 mg/kg bb per hari untuk nitrit) menunjukkan terjadinya methemoglobin. Motilitas sperma digunakan sebagai titik akhir untuk menentukan NOEL (*No Observed Effect Level*) yaitu 55 mg/kg bb per hari untuk natrium nitrit setara dengan 37 mg/kg bb per hari untuk nitrit (NTP, 2001). Kemudian, Özen et al., (2014) melakukan penelitian terkait toksisitas kronis natrium nitrit pada mencit dengan konsentrasi 10 mg/kg BB dan 20 mg/kg BB selama 8 bulan diperoleh hasil bahwa terjadi perubahan histopatologis pada organ hati dan ginjal. Degenerasi jaringan dan peroksidasi lipid terjadi di kedua organ, meskipun kerusakan lebih menonjol terdapat di organ hati, apoptosis (kematian sel) terjadi pada kelompok mencit yang diberi natrium nitrit dengan konsentrasi 20 mg/kg. Selain itu, nitrit menyebabkan perubahan kromosom yang signifikan sehingga dapat mengindikasikan potensi genotoksik  $\text{NaNO}_2$  jika dikonsumsi dalam jangka panjang.

Beberapa penelitian telah melaporkan dampak keracunan nitrat atau nitrit pada hewan yang menyebabkan perubahan dalam beberapa parameter

biokimia, seperti persentase methemoglobin yang tinggi, kadar glukosa, urea, kreatinin, alkaline phosphatase (ALP), aspartate transaminase (AST) dan alanine transaminase (ALT) yang mengarah pada beberapa perubahan histopatologis (Azeez, et al., 2011).

Seperti yang telah dijelaskan oleh Allah SWT pada Q.S. Thaha (20) Ayat 81, sebagai berikut:

كُلُوا مِنْ طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَلَا تَطْغَوْا فِيهِ فَيَحِلَّ عَلَيْكُمْ غَضَبِي وَمَنْ يَحْلِلْ عَلَيْهِ غَضَبِي فَقَدْ هَوَىٰ  
٨١

Artinya:

*81. Makanlah di antara rezeki yang baik yang telah Kami berikan kepadamu dan janganlah melampaui batas padanya, yang menyebabkan kemurkaan-Ku menimpamu. Dan barangsiapa ditimpa oleh kemurkaan-Ku, maka sesungguhnya binasalah ia.*

Menurut Tafsir Al Wajiz dari Az Zuhaili (1996) tafsir dari ayat tersebut yaitu makanlah dari rizki Kami yang baik-baik dan janganlah kalian melampaui batas dengan cara, sebagian kalian menzhalimi sebagian yang lain, akibatnya kemurkaan Allah akan menimpa kalian dan siapa saja yang ditimpa kemurkaan Allah, sungguh dia akan binasa dan merugi.

Pada ayat ini Allah menegaskan supaya mereka memakan di antara rezeki yang baik, yang lezat cita rasanya dan rezeki yang telah Allah karuniakan kepada mereka. Jangan sekali-kali mereka menyalahgunakannya, seperti menafkahnnya dengan boros, tidak mensyukurinya, mendermakan kepada kemaksiatan, dan lain-lain sebagainya. Dalam hal ini, penggunaan senyawa natrium nitrit yang ditujukan untuk hal kebaikan bagi seluruh umat manusia terdapat batas yang penting untuk diperhatikan. Ditetapkannya batas

adalah untuk melindungi manusia dari segala bahaya yang ditimbulkan karena berlebih-lebihan. Jika demikian, maka mereka telah mengundang kemurkaan Allah dengan cara akan ditimpakan siksa. Celaka dan binasalah orang-orang yang telah ditimpa kemurkaan Allah. Sehingga, apabila melampaui batas yang telah ditetapkan, terdapat bahaya berupa ditimpanya suatu penyakit atas kelalaiannya sendiri (Kementerian Agama, 2019).

Meskipun beberapa penelitian terdahulu telah mempelajari pengaruh senyawa nitrat dan nitrit terhadap kesehatan, sebagian besar merupakan studi toksisitas akut dengan penggunaan dosis yang tinggi. Sedangkan, senyawa nitrit itu tingkat toksisitasnya lebih tinggi dibandingkan dengan nitrat. Sebagai aturan praktis, senyawa nitrit 10 kali lebih beracun daripada senyawa nitrat (Azeez et al., 2011). Sehingga, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian natrium nitrit dengan konsentrasi rendah terhadap fungsi dan gambaran histopatologis organ hati pada tikus. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat menambah pengetahuan tentang penggunaan dosis natrium nitrit dalam konsentrasi rendah dan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan untuk mengevaluasi ambang batas normal penggunaan natrium nitrit, sehingga mampu mencegah terjadinya dampak negatif pada manusia.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh natrium nitrit terhadap fungsi enzimatis kadar ALT dan AST serta gambaran histopatologis organ hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?



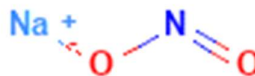


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Natrium Nitrit ( $\text{NaNO}_2$ )

Natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) adalah senyawa kimia berbentuk kristal berwarna putih, memiliki sifat larut dalam air, ammonia, methanol, etanol, piridin dan ester, serta mempunyai berat molekul (BM) sebesar 69 (Ambarwati, 2012). Natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) merupakan bentuk garam dari ikatan antara natrium (Na) dan nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ). Nitrit adalah senyawa yang terbentuk secara alamiah dari siklus nitrogen di lingkungan. Senyawa nitrit dapat terbentuk dari pelapukan tanaman, pupuk kandang, reduksi nitrat, dan residu organik lainnya (Lundberg, et al., 2008). Senyawa nitrit juga dijumpai dalam makanan, udara, tanah, air dan sayuran serta terdapat senyawa nitrit endogen di dalam tubuh manusia (Ogur et al., 2005). Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dapat berikatan dengan oksigen (teroksidasi) menjadi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan nitrat dapat direduksi menjadi nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) melalui berbagai proses biologis dengan bantuan mikroba di dalam tanah, tanaman dan lain-lain (NTP, 2000).



Gambar 2.1 Rumus Struktur Kimia Natrium Nitrit  
Sumber: NCBI PubChem Database, (2019)

Berdasarkan jenisnya, nitrit diklasifikasikan menjadi dua yaitu nitrit anorganik dan nitrit organik. Nitrit anorganik dapat terbentuk secara eksogen dan endogen. Secara eksogen, nitrit ditemukan dalam bentuk yang larut dalam air melalui proses siklus nitrogen di lingkungan. Secara endogen, nitrit anorganik terbentuk melalui beberapa mekanisme yaitu nitrit oksida (NO) yang teroksidasi dengan perantara L-Arginin dan reduksi nitrat dengan

bantuan ezim xantin oksidoreduktase. Sedangkan nitrit organik bersifat lipofilik dan umumnya ditemukan dalam produk kesehatan (Lundberg et al., 2008).

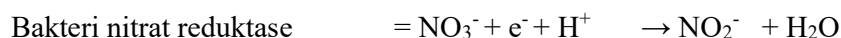
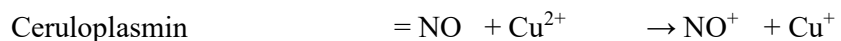
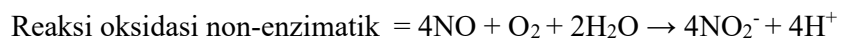
Natrium nitrit biasanya digunakan sebagai bahan *curing* atau bahan pengawet makanan olahan terutama daging dan ikan, dikarenakan kemampuan menghambat pembusukan yang disebabkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* dengan cara menghambat pertumbuhannya yang dapat mengakibatkan botulisme serta dapat menjaga aroma, rasa dan memberikan warna merah pada daging dengan cara menghambat oksidasi lemak. Pemanfaatan  $\text{NaNO}_2$  di bidang lain yaitu sebagai reagen laboratorium, pencegah korosi, serta di bidang kedokteran hewan digunakan sebagai vasodilator, antidotum sianida, bronkodilator, relaksan intestinal dan lain-lain. Pemaparan oleh senyawa natrium nitrit yang paling utama terjadi melalui sistem pencernaan, dikarenakan mengkonsumsi makanan mengandung  $\text{NaNO}_2$  baik yang secara alami seperti buah-buahan dan sayur-sayuran ataupun makanan olahan seperti kornet, sosis, burger dan lain-lain. Selain itu, sumber air minum yang terkontaminasi oleh  $\text{NaNO}_2$  juga menyebabkan pemaparan  $\text{NaNO}_2$  di dalam tubuh meningkat (Ansari, et al., 2017).

Nitrat dan nitrit merupakan senyawa toksik yang ada di lingkungan dan berpotensi menimbulkan masalah kesehatan jika keberadaannya di dalam tubuh melebihi ambang batas yang ditentukan. Senyawa N-nitroso yang terbentuk ketika nitrit berikatan dengan senyawa amin bersifat racun dan dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia dan hewan. Dampak berbahaya dari  $\text{NaNO}_2$  dikarenakan pada saat pemaparan senyawa natrium

nitrit, nitrit yang masuk ke dalam tubuh dikonversi menjadi kation nitrosonium ( $\text{NO}^+$ ), kemudian akan bereaksi dengan amina dan amida untuk membentuk nitrosamine dan nitrosamida yang bersifat karsinogenik (Erkekoglu & Baydar, 2010).

Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) di dalam tubuh dapat terbentuk melalui reduksi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) atau oksidasi dari nitrogen monoksida (NO). Reaksi oksidasi non-enzimatik NO dengan oksigen dalam jaringan terjadi relatif lambat, sedangkan oksidasi oleh ceruloplasmin di dalam plasma terjadi lebih cepat. Reduksi nitrat menjadi nitrit di mulut oleh bakteri anaerob fakultatif komensalisme dengan bantuan nitrat enzim reduktase, yang juga ada dalam usus mamalia. Saat terjadi respirasi, bakteri tersebut menggunakan nitrat sebagai alternatif aseptor elektron dari oksigen. Di mulut, terbentuk sekitar 25% nitrit hasil reduksi dari nitrat oleh bakteri dengan nitrat enzim reduktase lalu ketika di lambung, pH asam mendukung pembentukan asam nitrat ( $\text{HNO}_2$ ) dari nitrit yang terprotonasi kemudian terurai menjadi nitrogen oksida jenis lain, seperti nitrogen dioksida dan dinitrogen trioksida ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) (Pereira, *et al.*, 2013).

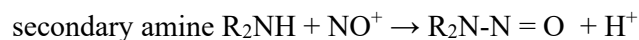
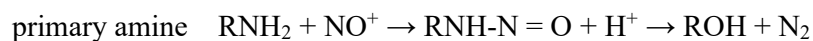
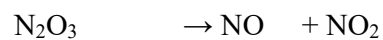
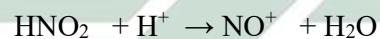
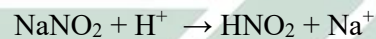
Berikut merupakan reaksi kimia dari pembentukan senyawa nitrit di dalam tubuh, merujuk pada Lundberg *et al.*, (2008):





Dalam darah,  $\text{NO}_2$  dapat berikatan dengan hemoglobin dan mengoksidasi zat besi di situs heme membentuk methemoglobin yang tidak dapat mentransport oksigen, dengan demikian menghasilkan methemoglobinemia. *Reactive Nitrogen Species* (RNS) lainnya juga terbentuk, seperti nitrogen oksida (NO) dan peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ), senyawa-senyawa tersebut dapat bereaksi dengan protein membentuk nitrotyrosine (Belcastro et al., 2017). Nitrosamin yang terbentuk oleh reaksi kimia nitrit dengan amina atau amida membentuk senyawa N-nitroso, seperti N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), dan N-nitrosomorpholine (NMOR), yang berpotensi bersifat karsinogenik bagi manusia, NDMA bersifat hepatotoksik serta menyebabkan fibrosis dan tumor (Erkekoglu & Baydar, 2010).

Menurut (Honikel, 2008) berikut merupakan reaksi kimia dari pembentukan nitrosamine:



(nitrosamine)

Studi mengenai air minum dengan kadar natrium nitrit mulai dari 90-1230 mg/kg bb (sesuai dengan 60-824 mg/kg bb per hari untuk nitrit) yang dilakukan pada mencit selama 14 minggu, secara keseluruhan menunjukkan

penurunan berat badan, berat limpa dan jumlah sperma pada mencit jantan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Pada mencit betina menunjukkan pengaruh terhadap berat organ (jantung, ginjal, hati dan limpa) dan siklus estrus. Air minum dengan dua kadar nitrit tertinggi menyebabkan terbentuknya hiperplasia pada sel skuamosa di lambung dan hematopoiesis ekstraseluler. NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) pada studi ini yaitu 190 mg/kg bb justru menyebabkan degenerasi testis pada mencit jantan (NTP, 2001).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Hassan et al., (2009) yaitu pemberian natrium nitrit pada tikus putih jantan (*Rattus rattus*) dengan konsentrasi 80 mg/kg bb selama tiga bulan menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar glukosa, bilirubin, urea, kreatinin dan aktivitas enzim AST, ALT serta ALP. Studi lain oleh NTP (2001) mengenai air minum dengan kadar natrium nitrit yang lebih rendah yaitu pada tingkat dosis 30-340 mg/kg bb per hari natrium nitrit (sesuai dengan 20-228 mg/kg bb per hari untuk nitrit) menunjukkan terjadinya metemoglobin. Motilitas sperma digunakan sebagai titik akhir untuk menentukan NOEL (*No Observed Effect Level*) yaitu 55 mg/kg bb per hari untuk natrium nitrit setara dengan 37 mg/kg bb per hari untuk nitrit.

Akan tetapi batas total asupan nitrit dan nitrat cukup rendah dalam konsumsi sehari-hari untuk manusia yaitu sebagaimana yang telah ditetapkan oleh JECFA (The Joint FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*)/WHO (*World Health Organization*) Expert Committee on

Food Additives) bahwa nilai asupan harian atau Acceptable Daily Intake (ADI) untuk nitrit adalah 0-0,07 mg/kg bb per hari (FAO/WHO, 2002).

## 2.2. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dikategorikan ke dalam hewan pengerat (Ordo: Rodentia, *rodere* = mengerat). Oleh karena itu, tikus hanya mempunyai dua gigi seri yang besar untuk menunjang kemampuannya dalam mengerat dan tidak mempunyai gigi taring (*canina*) serta geraham depan (*premolar*). Sehingga memiliki celah antara gigi seri dan geraham belakang (*molar*) yang disebut diastema. Diastema berguna untuk menyaring kotoran yang terbawa bersamaan dengan makanan. Gigi seri tikus akan terus menerus tumbuh dan kemampuannya dalam mengerat benda apapun adalah cara untuk menekan pertumbuhan gigi seri agar tidak membahayakan tikus itu sendiri (Sigit, 2006).

Karakteristik morfologi tikus putih adalah kepala dan badan lebih pendek daripada ekor, telinga berukuran relatif kecil yaitu 20-23 mm, memiliki berat 150-600 gram, bertubuh besar dengan panjang berkisar 18-25 cm, mata berwarna merah, berhindung tumpul, bentuk badan silindris cenderung membesar di bagian belakang (Sholichah, 2007). Sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 *Rattus norvegicus*  
Sumber: (Hickman, et al., 2016)

Menurut (Hedrich, 2006) klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) ialah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Subfilum : Vertebrata  
 Kelas : Mamalia  
 Ordo : Rodentia  
 Subordo : Myomorpha  
 Famili : Muridae  
 Subfamili : Murinae  
 Genus : *Rattus*  
 Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) termasuk hewan rodensia yang paling sering digunakan dalam percobaan laboratorium dikarenakan fisiologis hewan tersebut menyerupai fisiologis manusia. Selain itu, tikus merupakan hewan percobaan yang mudah untuk ditangani, mudah dalam hal

perawatannya, mudah didapatkan, siklus hidup relatif cepat, serta keuntungan lainnya yaitu tikus tidak bisa muntah disebabkan oleh adanya kendala anatomi yaitu katup yang kuat antara esophagus dan perut, tidak terjadi aktivitas kontraksi 2 otot pada diafragma dan tidak terjadi aktivitas koordinasi otot karena tidak memiliki interaksi saraf kompleks antara organ visceral dan batang otak. Terdapat mekanisme lain yang dilakukan oleh tikus sebagai representatif penolakan (muntah) yaitu regurgitasi. Regurgitasi adalah naiknya makanan dari lambung melalui kerongkongan tanpa disertai kontraksi otot perut yang kuat maupun rasa mual (Horn et al., 2013)

### **2.3. Hati (Hepar)**

Hepar termasuk salah satu organ yang berukuran besar, berat hepar pada tikus sekitar 6% dari total berat badan, sedangkan pada manusia sekitar 2% dari total berat badan. Sehingga berat hepar pada tikus secara signifikan lebih menonjol daripada berat hepar pada manusia, perbedaan tersebut terlihat pada rongga abdomen yang membesar pada tikus. Jika letak hepar pada manusia berada pada rongga atas abdomen sebelah kanan, berbeda dengan letak hepar pada tikus yang terletak membentang di seluruh wilayah subdiafragmatik (Rogers & Dintzis, 2012). Letak hepar pada tikus ditunjukkan oleh Gambar 2.3.











Hati (hepar) termasuk salah satu organ penting di dalam tubuh karena berfungsi sebagai agen detoksifikasi dan regulator dari semua sistem metabolisme yaitu karbohidrat, protein serta lemak serta homeostasis (Rogers & Dintzis, 2012). Seluruh nutrisi hasil metabolisme yang terserap dari saluran pencernaan akan terkumpul di darah melalui vena porta hepatica, kecuali kilomikron yang diangkut oleh pembuluh limfe, kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Hepar juga berfungsi sebagai organ perantara antara saluran pencernaan dengan darah, 70-80% darah yang ada di hepar merupakan supply dari vena porta hepatica (sedikit oksigen karena sebelumnya telah digunakan oleh usus dan limfe), darah tersebut berasal dari usus, lambung dan limpa. 20-30% sisanya adalah supply dari arteri hepatica (banyak oksigen). Darah dari vena porta hepatica dan cabang-cabang arteri hepatica akan mengalir dari bagian perifer yaitu daerah portal menuju sinusoid lalu ke vena portal. Seluruh vena sentral dari lobulus-lobulus hepar mengalirkan darah ke vena hepatica kemudian aliran darah meninggalkan posterior hepar menuju vena cava inferior (Snell, 2012).

Hepatosit adalah target utama jika terjadi kerusakan pada hepar dikarenakan perannya sebagai agen detoksifikasi dan regulator dari seluruh sistem metabolisme. Kerusakan hepar dapat diakibatkan oleh infeksi atau paparan zat kimia melalui inhalasi, pemberian per oral, atau parenteral. Intoksikasi bahan kimia dapat memicu produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Guyton & Hall, 2009). Li et al., (2015) berpendapat bahwa stress oksidatif yang terbentuk akibat pembentukan ROS oleh mitokondria, mikrosom, serta peroksisom yang ada pada sel parenkim di hati dapat



a. Peradangan/Inflamasi

Merupakan suatu respon fisiologis atau reaksi perlawanan tubuh terhadap berbagai jejas dan benda asing. Sel Kupffer sebagai makrofag akan dengan cepat memfagosit sel-sel yang rusak akibat paparan senyawa kimia tersebut, tubuh juga akan meningkatkan pergerakan leukosit dan plasma, terutama sel granulosit serta polimorfonukleus seperti eosinophil, neutrophil, basophil secara kemotaksis, leukosit jenis lain yaitu monosit dan limfosit juga berfungsi dalam merespon jejas

b. Fibrosis

Merupakan kerusakan sel yang terjadi tanpa disertai regenerasi sel yang cukup. Sehingga, apabila dilihat secara makroskopis dapat berupa atrofi (penurunan aktivitas metabolisme dan ukuran sel), hipertrofi (peningkatan ukuran dan aktivitas fungsi sel), hyperplasia (peningkatan jumlah sel), atau metaplasia (perubahan fenotip sel)

c. Degenerasi Sel

Terbagi menjadi dua jenis yaitu degenerasi parenkimatososa dan degenerasi hidropik.

1) Degenerasi parenkimatososa

Merupakan degenerasi yang bersifat reversible (dapat kembali) dan paling ringan. Disebut juga dengan degenerasi albuminosa, degenerasi keruh atau cloudy swelling. Terjadi apabila terdapat pembengkakan sitoplasma yang keruh disebabkan oleh protein yang mengendap, sehingga mengakibatkan oksidasi sel terganggu begitu pun dengan





kerusakan pada hati. ALT terletak di dalam sitoplasma, sedangkan AST terletak di dalam sitoplasma dan mitokondria (Thapa & Walia, 2007).

Hepar merupakan satu-satunya organ dengan konsentrasi ALT yang tinggi, sedangkan ginjal, otot rangka, dan otot jantung mengandung kadar ALT sedang. ALT dalam jumlah yang lebih sedikit ditemukan di paru, pankreas, limpa dan eritrosit. Sedangkan enzim AST tersebar ke seluruh jaringan tubuh termasuk otot dan jantung. Total AST lebih banyak dibandingkan ALT, dengan tingkat sel AST 7000 kali dibanding dalam plasma dan tingkat sel ALT hanya 3000x dibanding dalam plasma. Meskipun tingkat sel AST lebih banyak daripada ALT, namun kadar enzim ALT lebih spesifik dalam mengindikasikan adanya kerusakan pada sel hepar dikarenakan AST tersebar menyeluruh ke jaringan tubuh sedangkan ALT konsentrasi tertinggi terletak pada hepar (Thapa & Walia, 2007).

Kadar normal pada hewan percobaan tikus putih yaitu ALT 17.5-30.2 U/liter dan AST 45.7-80.8 U/liter. Jika terjadi gangguan kesehatan pada organ hati akibat senyawa toksik atau radikal bebas, maka berbagai enzim yang berada di sitosol akan masuk ke peredaran darah dan menyebabkan adanya perbedaan permeabilitas pada membrane sel sehingga kadar enzim transaminase dalam darah akan meningkat. Meningkatnya kadar enzim ALT dan AST dalam serum disebabkan oleh rusaknya sel-sel yang mengandung enzim transaminase, sehingga enzim transaminase tersebut masuk ke dalam sirkulasi darah. Kadar ALT dan AST mampu mencapai 20-100 kali lipat dari batas normal (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).











b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar ALT dan AST pada serum darah dan gambaran histopatologis organ hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

c. Variabel Kontrol

Variabel control pada penelitian ini yaitu hewan percobaan tikus putih (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin betina, berat badan, suhu, pakan dan kandang hewan coba.

### 3.5. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Larutan Natrium Nitrit ( $\text{NaNO}_2$ )

1) Penghitungan Konsentrasi

Merujuk pada NOEL (*No Observed Effect Level*) yang ditentukan oleh NTP (2001) yaitu 37 mg/kg BB kemudian dikonversikan ke tikus. Menurut Thompson (1985), volume pemberian zat uji 1% dari berat badan hewan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Volume Administrasi Obat (VAO) (ml)} = \frac{\text{Berat Badan (kg)} \times \text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg BB}} \right)}{\text{Konsentrasi} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)}$$

Maka, untuk mencari konsentrasi (mg/ml) digunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi (mg/mL)} = \frac{\text{Berat Badan (kg)} \times \text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg BB}} \right)}{\text{VAO (ml)}}$$

$$\text{Konsentrasi (mg/mL)} = \frac{0,25 \times 37}{1}$$

$$\text{Konsentrasi (mg/mL)} = 9,25 \text{ (Larutan Standar: P5)}$$







waktu tertentu yaitu masing-masing selama 30 menit yang berfungsi sebagai *dehydrating agent* yaitu berfungsi menghilangkan kadar air yang terkandung dalam sel atau jaringan secara bertahap

- e) Clearing: Penambahan xylol setelah dilakukan perendaman alkohol bertingkat bertujuan untuk menghilangkan kadar alkohol (*dealkoholization*) serta fungsi lain dari xylol yaitu sebagai *clearing agent* yaitu penjernih preparat sehingga dapat dengan mudah diamati
- f) Infiltrasi: Lalu dilakukan infiltrasi dengan paraffin yang bertujuan untuk menjadi penyokong bahan tumbuhan ketika diiris menggunakan alat mikrotom
- g) Embedding: sampel dimasukkan ke dalam campuran xylol : paraffin = 1:1 selama 30 menit lalu dimasukkan ke dalam tiga tahap paraffin cair masing-masing selama 1 jam, sehingga paraffin terpenetrasi ke dalam jaringan.
- h) Sectioning: proses memotong sampel yang terpenetrasi paraffin dengan ketebalan tertentu menggunakan alat mikrotom
- i) Affixing: hasil potongan dari mikrotom kemudian dimasukkan ke dalam *waterbath* yang berisi air panas bersuhu 40-45°C yang bertujuan untuk melekatkan pita paraffin yang sudah berisi sayatan pada gelas objek yang terlebih dahulu dioles Mayer's albumin (putih telur ayam kampung) : gliserin yaitu 1:1 dan melelehkan



paraffin sehingga sayatan terlepas dari parafin. Kemudian ditiriskan dan dimasukkan ke dalam oven 50°C selama  $\pm$  5 jam

- j) Deparaffinisasi: deparaffinisasi menggunakan xylol selama 2x10 menit yang berfungsi untuk menghilangkan sisa-sisa paraffin yang masih menempel pada gelas obyek dan sayatan.
  - k) Rehidrasi: rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari kadar absolut ke rendah selama masing-masing 5 menit
  - l) Staining: dilakukan pewarnaan menggunakan pewarna Hematoxylin-Eosin selama 10 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir, kemudian direndam ke dalam etanol untuk membersihkan dari sisa-sisa pewarna hematoxylin dan dibilas dengan aquades. Lalu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari kadar rendah ke absolut selama masing-masing 5 menit untuk menghilangkan zat warna yang larut dalam alkohol. Tahap terakhir yaitu preparat sayatan direndam ke dalam xylol selama 15 menit yang berfungsi untuk menjernihkan gelas objek
  - m) Mounting: menambahkan entellan diatas *cover glass* supaya melekat dan tidak berubah posisi nya.
- 3) Pengamatan Sayatan Histologi Organ Hepar

Pengamatan sayatan histologi berfungsi untuk mengetahui perbedaan derajat kerusakan yang terjadi pada organ hepar yang diberi perlakuan natrium nitrit dengan perlakuan kontrol. Pengamatan sayatan histologi dilakukan dengan memberikan penilaian derajat kerusakan



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan terhadap beberapa variabel terikat yaitu kadar enzim alanin transaminase (ALT) dan aspartate transaminase (AST) pada serum darah dan gambaran histopatologis organ hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina menunjukkan hasil yang bervariasi. Variasi tersebut diduga akibat pengaruh konsentrasi natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) yang diberikan berbeda-beda yaitu dimulai dari standar konsentrasi minimum yang dapat menyebabkan toksik pada manusia. Merujuk pada NOEL (*No Observed Effect Level*) yang ditentukan oleh NTP (2001) yaitu 37 mg/kg kemudian dikonversi ke tikus menjadi 9,25 mg/ml, selanjutnya 5% yaitu 0,46 mg/ml, 10% yaitu 0,925 mg/ml, 15% sebesar 1,38 mg/ml dan 20% sebesar 1,85 mg/ml dari standar atau NOEL.

Data kuantitatif yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah kadar enzim alanin transaminase dan aspartate transaminase, sedangkan skoring derajat kerusakan organ hepar adalah data kuantitatif yang didapatkan dari pengambilan gambar lapang pandang terhadap pengamatan histopatologis organ hepar tikus. Data kuantitatif diuji normalitas terlebih dahulu menggunakan uji Kolmogorov-smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak, apabila data hasil uji normalitas menunjukkan nilai  $p > 0,05$  maka data tersebut terdistribusi normal.

#### **4.1. Pengukuran Kadar ALT**

ALT merupakan salah satu jenis enzim transaminase yang sering dikaitkan dengan kerusakan sel pada organ hati. Jika terjadi gangguan kesehatan pada organ hati akibat senyawa toksik atau radikal bebas, maka berbagai enzim yang berada di sitosol akan masuk ke peredaran darah dan menyebabkan adanya perbedaan permeabilitas pada membrane sel sehingga



Peningkatan kadar enzim ALT dapat mengindikasikan kerusakan yang terjadi pada sel hepar, dikarenakan konsentrasi ALT tertinggi pada tubuh terdapat di hepar, maka aktivitas ALT memiliki spesifitas yang relatif tinggi sebagai indikator kerusakan pada hepar. Hasil rata-rata kadar enzim ALT pada penelitian ini meningkat sebesar 2-3x lipat dari ambang batas normal. Menurut Thapa & Walia (2007), peningkatan kadar enzim ALT sebesar 2-3x lipat dikategorikan sebagai kerusakan hepar ringan yang diduga akibat adanya pelemakan hati, pankreatitis, sirosis biliaris, intoksikasi senyawa kimia dan distrofi otot.

Perlakuan dengan pemberian  $\text{NaNO}_2$  15% (1,38 mg/ml) menunjukkan rata-rata kadar ALT tertinggi yaitu sebesar 99,25 U/liter, mengalami peningkatan sekitar 3x lipat dari ambang batas normal yaitu 17,5-30,2 U/liter. Selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Fouad, et al., (2017), mengenai toksisitas natrium nitrit dengan konsentrasi 1,5 mg/ml yang diberikan secara per oral pada tikus selama enam bulan, menyatakan terdapat peningkatan kadar enzim ALT sebesar 2x lipat dari ambang batas normal yaitu sebesar 61,33 U/liter. Hal tersebut dikarenakan intoksikasi senyawa kimia natrium nitrit yang diberikan selama masa pemberian perlakuan. Selaras dengan pendapat Guyton & Hall (2009) bahwa intoksikasi bahan kimia dapat memicu produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan menginduksi stress oksidatif.

Menurut Kumar, et al., (2014), mekanisme kerusakan sel hepar yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan cara merusak lapisan fosfolipid yang menyusun membran sel hati, sehingga mengganggu permeabilitas membrane sel lalu terjadi peningkatan influks kalsium dari ekstrasel maupun

pelepasan kalsium dari retikulum endoplasma dan mitokondria. Peningkatan influks kalsium memicu pengaktifan sejumlah enzim perusak seperti enzim protease yang dapat merusak DNA, ketika DNA rusak maka poliribosom meningkat dan terjadi pengosongan NAD yang mengakibatkan terhambatnya sintesis ATP. Sintesis ATP yang terhambat menyebabkan kerusakan pada sel hati atau nekrosis, kemudian diikuti oleh meningkatnya kadar enzim alanine transaminase (ALT) dalam serum akibat lisisnya lisosom dalam membrane plasma.

Sedangkan rata-rata kadar ALT terendah ditunjukkan oleh perlakuan dengan pemberian  $\text{NaNO}_2$  5% (0,46 mg/ml) yaitu 63,5 U/liter, mengalami peningkatan sekitar 2x lipat dari ambang batas normal. Hal tersebut dimediasi oleh beberapa faktor, yaitu salah satunya pemberian natrium nitrit selama masa perlakuan diduga sebagai indikator proses inflamasi. Sehingga respon otomatis tubuh yaitu meningkatkan sel darah putih untuk mengatasi inflamasi dan mempertahankan homeostasis darah. Selain itu, karena dosis natrium nitrit yang rendah dan antioksidan endogen pada tubuh tikus pada kelompok perlakuan  $\text{NaNO}_2$  5% diduga memiliki peran protektif lebih besar, sehingga mampu meminimalisasi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas di bagian hati dengan cara mengaktifasi respons antioksidan melalui peningkatan aktivitas enzim superoxide dismutase (SOD) di mitokondria dan di sitoplasma serta kadar glutathione (GSH) total.

Tubuh memiliki mekanisme pertahanan dari radikal bebas yaitu antioksidan endogen di tingkat intra sel, membran dan ekstra sel. Antioksidan endogen berupa enzim yaitu salah satunya SOD dan antioksidan non-enzimatis

yaitu GSH. Fungsi keduanya yaitu untuk mengontrol level radikal bebas dan menghancurkan radikal bebas (Delgado et al., 2018).

Tabel 4.1 Hasil rata-rata dan uji statistik kadar ALT

| No. | Perlakuan                              | Rata-rata (U/liter) | Nilai p (Kruskal-Wallis) | Nilai p (Mann-Whitney)                |
|-----|--|---------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| 1   | P1 Kontrol (0 mg/ml)                   | 47                  |                          |                                       |
| 2   | P2 NaNO <sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml)   | 67,5                |                          | 0,014 <sup>a</sup>                    |
| 3   | P3 NaNO <sub>2</sub> 10% (0,925 mg/ml) | 74                  |                          | 0,014 <sup>a</sup>                    |
| 4   | P4 NaNO <sub>2</sub> 15% (1,38 mg/ml)  | 99,25               | 0,016                    | 0,014 <sup>a</sup> 0,021 <sup>b</sup> |
| 5   | P5 NaNO <sub>2</sub> 20% (1,85 mg/ml)  | 82,3                |                          | 0,014 <sup>a</sup>                    |
| 6   | P6 Standar (9,25 mg/ml)                | 89                  |                          | 0,014 <sup>a</sup>                    |

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Keterangan:

a : diujikan dengan perlakuan Kontrol

b : diujikan dengan perlakuan P1 NaNO<sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml)

Berdasarkan pada Tabel 4.1 bahwa data hasil pengukuran kadar enzim ALT setelah di uji normalitas memiliki nilai p 0,567, maka data kadar ALT terdistribusi normal karena nilai p > 0,05. Kemudian data dilakukan analisis lanjut menggunakan Uji Kruskal-Wallis, karena data bersifat tidak homogen. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat pengaruh pada pemberian natrium nitrit terhadap kadar ALT (Lampiran 1) karena nilai p < 0,05 yaitu 0,016. Lalu, hasil uji statistik menggunakan Uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan yang signifikan antar beberapa kelompok perlakuan karena nilai p < 0,05. Perlakuan P1 Kontrol dengan P4 NaNO<sub>2</sub> 15% (1,38 mg/ml) memperoleh nilai signifikansi 0,014, sedangkan perlakuan P2 NaNO<sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml) dengan P3 NaNO<sub>2</sub> 15% (1,38 mg/ml) mendapat nilai signifikansi 0,021. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian natrium nitrit terhadap kadar ALT.

Pengaruh pemberian natrium nitrit yang tidak signifikan disebabkan konsentrasi natrium nitrit yang sangat rendah dan masa pemberian perlakuan yang singkat. Sehingga jika masa pemberian perlakuan lebih lama, diharapkan

hasil penelitian yang didapatkan terdapat pengaruh yang signifikan. Merujuk pada NOEL (*No Observed Effect Level*) yang ditentukan oleh NTP, (2001) yaitu 55 mg/kg bb per hari untuk natrium nitrit setara dengan 37 mg/kg bb per hari untuk nitrit, merupakan konsentrasi yang teramati tidak terdapat pengaruh pada manusia. Didukung oleh penelitian Fouad et al., (2017), yang menyatakan konsentrasi minimum natrium nitrit yang dapat memberikan pengaruh yaitu 10 mg/kg dan masa pemberian perlakuan seharusnya berlangsung selama  $\pm$  3 bulan dikarenakan tubuh memerlukan waktu untuk menjalankan metabolisme natrium nitrit. Sehingga konsentrasi natrium nitrit yang digunakan dalam penelitian ini tergolong sangat rendah.

#### **4.2. Pengukuran Kadar AST**

Terdapat 2 jenis enzim transaminase yang sering dikaitkan dengan kerusakan sel pada organ hati yaitu alanine transaminase (ALT) dan aspartate transaminase (AST). Total AST lebih banyak dibandingkan ALT, dengan tingkat sel AST 7000 kali dibanding dalam plasma dan tingkat sel ALT hanya 3000x dibanding dalam plasma. Meskipun tingkat sel AST lebih banyak daripada ALT, namun kadar enzim ALT lebih spesifik dalam mengindikasikan adanya kerusakan pada sel hepar dikarenakan AST tersebar menyeluruh ke jaringan tubuh sedangkan ALT terkonsentrasi di hepar (Thapa & Walia, 2007).

Kadar enzim AST meningkat selaras dengan peningkatan kadar enzim ALT dalam serum darah disebabkan oleh rusaknya sel-sel yang mengandung enzim transaminase, sehingga enzim transaminase tersebut masuk ke dalam sirkulasi darah. Peningkatan kadar ALT dan AST mampu mencapai 20-100 kali lipat dari batas normal. Kadar normal enzim AST pada hewan percobaan





hal tersebut diduga adanya NO (nitrit oksida) endogen yang berperan sebagai hepatoprotektor. Efek dari NO endogen berhubungan terhadap kemampuannya berinteraksi dengan anion superoksida dan senyawa radikal lainnya untuk menghasilkan lebih sedikit spesies radikal bebas yang toksik. Reaksi NO dengan anion superoksida dapat menghasilkan anion peroxynitrite, yang dapat terurai untuk menghasilkan oksidan kuat dengan reaktivitas mirip radikal hidroksil (Kanner, et al., 1991). Arizono, et al., (1995) telah menunjukkan bahwa NO berperan dalam menginduksi metallothionein. Metallothionein memiliki kemampuan menangkap radikal hidroksil pada tingkat sel dan jaringan sehingga mencegah inflamasi dan kerusakan jaringan yang dimediasi oleh stres oksidatif.

Metallothionein dipicu oleh beberapa stimulus, salah satunya sitokin. Dalam sejumlah penelitian, sintesis metallothionein meningkat beberapa kali lipat selama stres oksidatif untuk melindungi sel terhadap sitotoksitas, radiasi dan kerusakan DNA. Beberapa penelitian telah menunjukkan peningkatan metallothionein di berbagai tumor manusia yaitu pada payudara, usus besar, ginjal, hati, paru-paru, nasofaring, ovarium, prostat, kelenjar ludah, testis, tiroid, dan kandung kemih (Ruttkay-Nedecky et al., 2013).

Tabel 4.2 Hasil rata-rata dan uji statistik kadar AST

| No | Perlakuan                              | Rata-rata (U/liter) | Nilai p |
|----|--|---------------------|---------|
| 1  | P1 Kontrol (0 mg/ml)                   | 149                 | 0,947   |
| 2  | P2 NaNO <sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml)   | 153,75              |         |
| 3  | P3 NaNO <sub>2</sub> 10% (0,925 mg/ml) | 174,33              |         |
| 4  | P4 NaNO <sub>2</sub> 15% (1,38 mg/ml)  | 170                 |         |
| 5  | P5 NaNO <sub>2</sub> 20% (1,85 mg/ml)  | 153,67              |         |
| 6  | P6 Standar (9,25 mg/ml)                | 156,5               |         |

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Berdasarkan pada Tabel 4.2 bahwa data hasil pengukuran kadar enzim AST setelah di uji normalitas memiliki nilai p 0,968, maka data kadar AST

terdistribusi normal karena nilai  $p > 0,05$ . Kemudian data dilakukan analisis lanjut menggunakan Uji One Way Anova. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan (Lampiran ) karena nilai  $p > 0.05$  yaitu 0.977.

Hasil rata-rata kadar enzim AST pada penelitian ini meningkat sebesar dua kali lipat dari ambang batas normal. Meskipun terdapat pengaruh pemberian natrium yaitu meningkatnya kadar enzim AST, akan tetapi pengaruhnya tidak signifikan. Pengaruh pemberian natrium nitrit yang tidak signifikan disebabkan konsentrasi natrium nitrit yang digunakan tergolong dalam rentang rendah dan masa pemberian perlakuan yang singkat. Sehingga jika masa pemberian perlakuan lebih lama, diharapkan hasil penelitian yang didapatkan terdapat pengaruh yang signifikan.

Merujuk pada NOEL (*No Observed Effect Level*) yang ditentukan oleh NTP, (2001) yaitu 55 mg/kg bb per hari untuk natrium nitrit setara dengan 37 mg/kg bb per hari untuk nitrit, merupakan konsentrasi yang teramati tidak terdapat pengaruh pada manusia. Didukung oleh penelitian Helal, et al, (2008) yang menyatakan konsentrasi minimum natrium nitrit yang dapat memberikan pengaruh yaitu  $\geq 30$  mg/ml. Sehingga konsentrasi natrium nitrit yang digunakan dalam penelitian ini tergolong sangat rendah. Selain itu, menurut Ateya, et al, (2016) masa pemberian perlakuan seharusnya berlangsung selama  $\pm 2-3$  bulan dikarenakan tubuh memerlukan waktu untuk menjalankan metabolisme natrium nitrit.

### 4.3. Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi organ hepar dilakukan menggunakan metode skoring derajat kerusakan merujuk pada metode penelitian yang dilakukan oleh Arsad et al., (2014) yaitu derajat kerusakan setiap sampel ditentukan dengan cara pengamatan lesi organ hepar meliputi beberapa parameter yaitu aktifasi sel Kupffer, dilatasi sinusoid, vacuolisasi sitoplasma, hepatosit karyolisis atau karyorhexis pada seluruh lapang pandang.

Berikut merupakan hasil pengamatan skoring derajat kerusakan pada organ hepar yang telah dilakukan:

Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Skoring Derajat Kerusakan Organ Hepar

| KODE  | SKOR                       |                      |  |   | TOTAL | KETERANGAN<br>(PARAMETER<br>TAMBAHAN)                       |
|---|----------------------------|----------------------|--|---|-------|---|
|   | Aktifasi<br>Sel<br>Kupffer | Dilatasi<br>Sinusoid | Vacuolisasi<br>Sitoplasma/<br>Degenerasi | Hepatosit<br>Karyolisis/<br>Karyorhexis |       |   |
| P1 Kontrol<br>(0 mg/ml)                         | 0                          | 1                    | 2  | 1                                       | 4     | -   |
| P2 NaNO <sub>2</sub> 5%<br>(0,46 mg/ml)         | 2                          | 1                    | 1  | 0                                       | 4     | Mikroabses,<br>hemoragi +                                   |
| P3 NaNO <sub>2</sub> 10%<br>(0,925 mg/ml)       | 3                          | 2                    | 3  | 1                                       | 9     | Inflamasi<br>periportal +,<br>inflamasi<br>centrolobuller + |
| P4 NaNO <sub>2</sub> 15%<br>(1,38 mg/ml)        | 3                          | 2                    | 1  | 1                                       | 7     | Mikroabses  |
| P5 NaNO <sub>2</sub> 20%<br>(1,85 mg/ml)        | 2                          | 3                    | 2  | 1                                       | 8     | -   |
| P6 NaNO <sub>2</sub><br>Standar<br>(9,25 mg/ml) | 1                          | 2                    | 3  | 2                                       | 8     | Hemoragi<br>intrasinusoid +++                               |

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

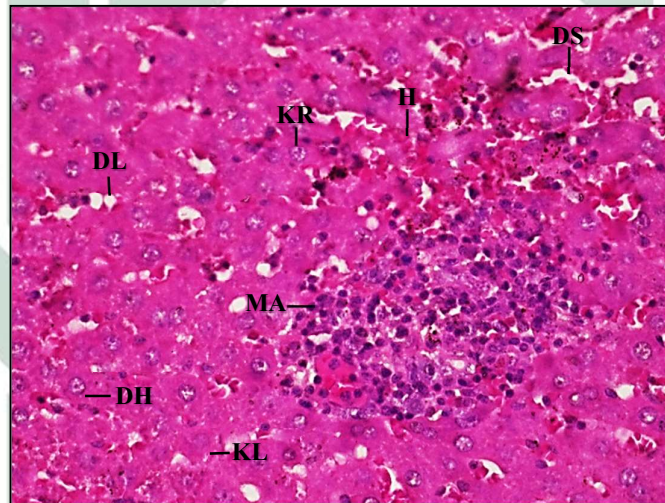
Keterangan:

- 0 : Tidak Terdapat Lesi
- 1 : Lesi <30% Dari Seluruh Lapang Pandang
- 2 : Lesi 30%-50% Dari Seluruh Lapang Pandang
- 3 : Lesi >50% Dari Seluruh Lapang Pandang
- + : Ringan
- +++ : Berat

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, perlakuan P1 Kontrol menunjukkan derajat kerusakan yang minimum dikarenakan pada perlakuan kontrol tidak diberikan natrium nitrit. Gambar 4.3 menunjukkan terdapat lesi pada kelompok perlakuan kontrol, lesi degenerasi hidropik mendominasi derajat



Pengamatan histopatologis pada kelompok perlakuan P2 NaNO<sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml) ditemukan lesi degenerasi hidropik, dilatasi sinusoid dan sejumlah sel Kupffer yang aktif sebagai respon terhadap terjadinya mikroabses dan hemoragi ringan. Hal tersebut membuktikan bahwa pemberian natrium nitrit dengan konsentrasi rendah berpengaruh terhadap kerusakan hepar, diperkuat dengan ditemukannya kerusakan lain seperti mikroabses dan terjadinya hemoragi seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Gambaran Histopatologis Perlakuan P2 NaNO<sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml). MA: Mikroabses, H: Hemoragi, DL: Degenerasi Lemak, DH: Degenerasi Hidropik, KR: Karyorhexis, KL: Karyolisis, DS: Dilatasi Sinusoid.  
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Perubahan histopatologis pada organ hepar tikus berupa hemoragi ringan diduga karena intoksikasi senyawa natrium nitrit, pada saat pemaparan senyawa natrium nitrit, nitrit akan dikonversi menjadi kation nitrosonium (NO<sup>+</sup>) yang kemudian bereaksi dengan amina dan amida untuk membentuk nitrosamine dan nitrosamida yang bersifat hepatotoksik serta berpotensi terjadi kerusakan pada pembuluh darah atau jaringan. Seperti pernyataan Zachary (2017), bahwa hemoragi merupakan tahap kerusakan lanjutan dari kongesti. Kongesti adalah terjadinya gangguan sirkulasi darah yang menyebabkan pembendungan darah pada sinusoid

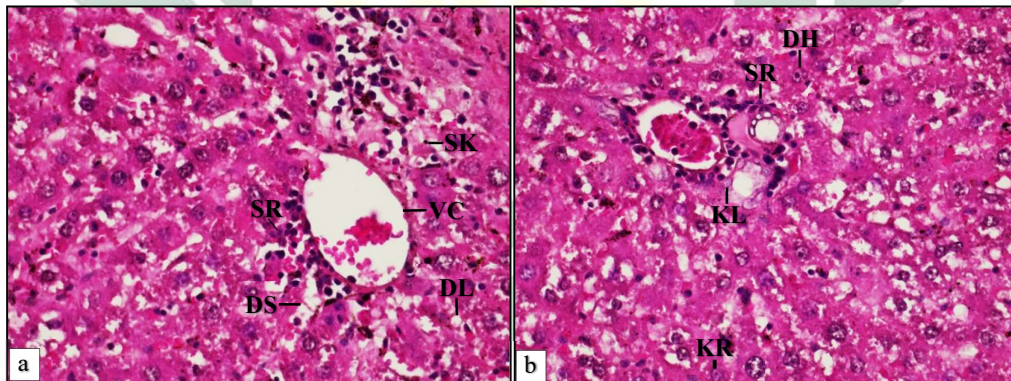
hepar. Apabila sinusoid hepar sudah tidak mampu membendung darah maka pembuluh darah yang terdapat di sinusoid hepar akan pecah, kemudian terjadi migrasi eritrosit dari pembuluh darah yang disebut hemoragi. Didukung oleh pernyataan dari Cheville (2006) bahwa terjadinya hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan pada pembuluh darah atau infeksi bakteri dan virus.

Selain ditemukannya hemoragi, pada kelompok perlakuan P2 NaNO<sub>2</sub> 5% (0,46 mg/ml) juga terdapat mikroabses. Mikroabses merupakan abses yang terletak di lobulus hepar. Definisi abses hepar yaitu kumpulan dari jaringan nekrotik yang dapat bersifat multiped atau soliter di dalam parenkim hepar (Yu, et al., 2014). Abses hepar dapat disebabkan oleh infeksi suatu mikroorganisme parasit, bakteri, atau fungi yang bersumber dari saluran pencernaan. Terjadinya abses pada hepar ditandai dengan adanya penumpukan jaringan nekrotik sebagai proses invasi dan multiplikasi yang masuk secara langsung dari sistem empedu atau cedera pembuluh darah (Lardièrè-Deguelte et al., 2015).

Sebagai respon dari terjadinya mikroabses, Gambar 4.4 menunjukkan sejumlah aktivasi sel Kupffer di sekitar mikroabses dan hemoragi. Aktivasi sel Kupffer mengindikasikan adanya benda asing dan respon fisiologis tubuh melakukan reaksi perlawanan terhadap benda asing tersebut. Sel Kupffer berfungsi menyaring partikel atau bakteri asing, merombak sel darah merah (eritrosit) lama, membebaskan heme untuk dapat digunakan lagi dan sebagai antigen sistem imunitas (Mohan, 2010). Sel Kupffer bersumber dari monosit pada sirkulasi yang mengarah ke hepar dan bertransformasi menjadi makrofag jaringan. Sel Kupffer terletak pada sinusoid hepar berperan mempertahankan homeostasis, melindungi jaringan dari bakteri patogen atau antigen yang masuk melalui saluran pencernaan

serta mampu menstimulasi respon imun tolerogenik dan imunogenik (Pellicoro, et al., 2014).

Perubahan histopatologis pada kelompok perlakuan P3 NaNO<sub>2</sub> 10% (0,925 mg/ml) yang ditunjukkan oleh Gambar 4.5 terdapat lesi degenerasi hidropik dan aktifasi sel Kupffer >50%, dilatasi sinusoid berkisar 30%-50%, karyolisis <30% dari seluruh lapang pandang dan ditemukan kerusakan lain yaitu berupa inflamasi periportal serta inflamasi centrilobuler. Pada kelompok perlakuan ini konsentrasi natrium nitrit yang diberikan lebih tinggi dari kelompok sebelumnya dan kerusakan histopatologis yang ditemukan lebih berat dari kelompok sebelumnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa tingkat intoksitas senyawa natrium nitrit selaras dengan level konsentrasi yang diberikan.



Gambar 4.5 Gambaran Histopatologis Perlakuan P3 NaNO<sub>2</sub> 10% (0,925 mg/ml). a) VC: Vena Central, SR: Sel Radang, DL: Degenerasi Lemak, DS: Dilatasi Sinusoid; b) Inflamasi periportal.

DH: Degenerasi Hidropik, KR: Karyorhexis, KL: Karyolisis

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Inflamasi atau peradangan merupakan mekanisme reaksi yang mengindikasikan adanya kerusakan jaringan dan berfungsi sebagai respon protektif terhadap penyebab maupun debris sel yang diakibatkan oleh kerusakan jaringan tersebut (Kumar, et al., 2004). Mekanisme respon inflamasi yaitu menarik sel-sel fagosit dan protein plasma ke tempat terjadinya kerusakan jaringan supaya penyebab kerusakan dapat terisolasi, dihancurkan lalu dinonaktifkan, serta



mempersiapkan jaringan untuk proses regenerasi. Penyebab terjadinya inflamasi antara lain yaitu senyawa kimia, trauma fisik, dan zat-zat mikrobiologis (Corwin, 2008).

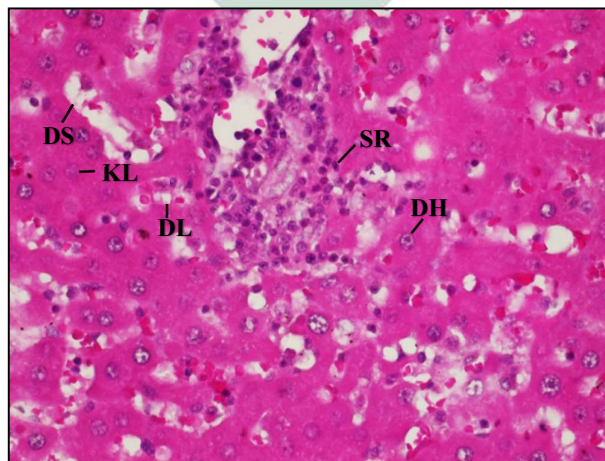
Inflamasi yang terjadi di area periportal dan centrilobuller diduga dikarenakan intoksikasi senyawa natrium nitrit yang diberikan selama masa perlakuan. Nitrit ( $\text{NO}_2$ ) dapat berikatan dengan hemoglobin dan mengoksidasi zat besi di situs heme membentuk methemoglobinemia yang memicu terjadinya cedera hipoksia pada hepatosit, sehingga menyebabkan kebocoran enzim dari sitosol hepar ke pembuluh darah, disfungsi hepar serta merusak biosintesis enzim transaminase dikarenakan terdapat perbedaan permeabilitas pada membran organ hepar (Belcastro, et al., 2017). Hipoksia menginduksi terjadinya inflamasi melalui mediator-mediator inflamasi yang dilepaskan oleh sel-sel parenkim maupun endotel hepar yang hipoksik (Harding, 2002).

Inflamasi centrilobuller umumnya lebih awal terjadi, dikarenakan area centrilobuller terletak paling jauh dari saluran portal (saluran yang terdapat arteri hepatica dan vena porta hepatica). Distribusi darah pada hepar mengalir dari saluran portal (tempat berjalannya arteri hepatica dan vena porta hepatica) sama-sama bergerak menuju vena sentral (centrilobuller) melalui sinusoid, sehingga area centrilobuller lebih dulu mengalami hipoksia karena terjadi defisiensi oksigen (Rogers & Dintzis, 2012).

Pada sel-sel hepar yang hipoksik juga dijumpai adanya aktivasi sejumlah sel Kupffer, degenerasi sel dan dilatasi sinusoid. Dilatasi sinusoid disebabkan adanya akumulasi eritrosit pada vena-vena hepar, akumulasi eritrosit juga terjadi di vena sentralis (area centrilobuller) sehingga sinusoid hepar melebar untuk membendung

darah akibat sirkulasi darah dari jantung ke hepar terganggu. (Suriawinatha & Thung, 2011). Hal tersebut menyebabkan supply oksigen ke hepatosit terhambat sehingga memicu terjadinya hipoksia dan inflamasi. Kelompok perlakuan P3  $\text{NaNO}_2$  10% (0,925 mg/ml) ditemukan dilatasi sinusoid antara 30%-50% dari seluruh lapang pandang, berkaitan dengan hal tersebut merujuk pada hasil pengukuran kadar AST pada kelompok perlakuan ini menunjukkan kadar AST tertinggi. Menurut Thapa & Walia (2007), enzim AST tersebar ke seluruh jaringan tubuh termasuk otot dan jantung. Oleh karena itu, kenaikan kadar AST diduga karena adanya gagal jantung yang berdampak pada kerusakan di hepar.

Gambar 4.6 menunjukkan terdapat lesi pada kelompok perlakuan P $\text{NaNO}_2$  15% (1,38 mg/ml), aktivasi sel Kupffer mendominasi skoring derajat kerusakan hepar yaitu >50%, dilatasi sinusoid berkisar di antara 30%-50% serta degenerasi dan karyolisis <30% dari seluruh lapang pandang yang teramati. Parameter lain kerusakan organ hepar juga ditemukan seperti adanya mikroabses. Hal tersebut mendukung hasil pengukuran kadar ALT tertinggi dan AST yang mengalami peningkatan tertinggi setelah perlakuan  $\text{NaNO}_2$  10% (0,925 mg/ml).



Gambar 4.6 Gambaran Histopatologis Perlakuan P4  $\text{NaNO}_2$  15% (1,38 mg/ml). SR: Sel Radang, DL: Degenerasi Lemak, DS: Dilatasi Sinusoid, KL: Karyolisis.  
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)





sitoplasma hepatosit terdapat vakuola-vakuola berisi air yang berukuran kecil sampai besar. Sedangkan degenerasi lemak merupakan kondisi hepatosit dengan akumulasi lemak yang disebabkan oleh terganggunya metabolisme lemak. Pada jenis kerusakan degenerasi lemak terdapat peningkatan terbentuknya asam lipid dan berkurangnya oksidasi lipid, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara lipid yang diserap oleh darah dengan sekresi lipoprotein dari hepatosit.

Total akhir skoring kerusakan hepar pada kelompok perlakuan ini lebih rendah dari kelompok sebelumnya yaitu perlakuan P4 NaNO<sub>2</sub> 15% (1,38 mg/ml), hal tersebut diduga karena proses pembedahan seluruh perlakuan tidak dilakukan secara bersamaan. Kelompok perlakuan ini dilakukan pembedahan setelah 4 hari pemberian natrium nitrit dihentikan. Sedangkan, pemberian perlakuan natrium nitrit dihentikan secara bersamaan.

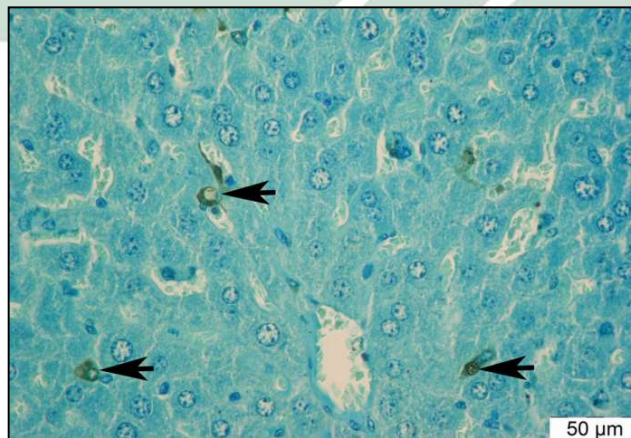
Beberapa kerusakan pada organ hepar yang ditemukan bersifat dapat balik (*reversible*) yaitu seperti degenerasi hidropik, artinya apabila intoksikasi senyawa kimia dihentikan maka sel-sel hepar berpotensi melakukan regenerasi. Seperti pernyataan yang dikemukakan oleh Feldman, et al., (2010), setelah terjadinya jejas, hepatosit akan melakukan replikasi yang didahului oleh adanya sinyal awal dari sel Kupffer dan sel endotel sinusoid hepar. Lipopolisakarida dan sitokin turunan usus halus yang dialirkan melalui vena porta akan menstimulasi sel Kupffer dan sel endotel sinusoid hepar untuk memproduksi TNF- $\alpha$  dan IL-6. Proses regenerasi hepar diawali oleh sel parenkimal hepar yaitu hepatosit yang berada di sekitar vena porta kemudian hepatosit baru akan berproliferasi membentuk sekumpulan sel. Selanjutnya, replikasi hepatosit akan menyebar ke area lain diikuti oleh replikasi sel-sel nonparenkimal yang terjadi  $\pm$  24-72 jam setelah replikasi hepatosit.



hemoragi. Hemoragi merupakan tahap kerusakan lanjutan dari kongesti. (Zachary, 2017).

Perubahan histopatologis pada organ hepar tikus berupa hemoragi sebagai tingkat kerusakan lanjutan dari dilatasi sinusoid, diduga karena intoksikasi senyawa natrium nitrit, dikarenakan pada saat pemaparan senyawa natrium nitrit, nitrit akan dikonversi menjadi kation nitrosonium ( $\text{NO}^+$ ) yang kemudian bereaksi dengan amina dan amida untuk membentuk nitrosamine dan nitrosamida yang bersifat hepatotoksik serta berpotensi terjadi kerusakan pada pembuluh darah atau jaringan. Didukung oleh pernyataan dari Cheville (2006) bahwa terjadinya hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan pada pembuluh darah atau infeksi bakteri dan virus.

Selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Özen, et al., (2014), mengenai toksisitas natrium nitrit dengan konsentrasi 10 mg/kg yang diberikan 2x sehari secara per oral pada mencit selama delapan bulan, menyatakan ditemukan sejumlah sel yang mengalami degenerasi sel dan apoptosis. Seperti yang dtampilkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Gambaran Histopatologis Hepar menggunakan Uji TUNEL. Panah hitam menunjukkan sel yang mengalami apoptosis.

Sumber: (Özen, et al., 2014)

Beberapa penelitian telah melaporkan dampak intoksikasi nitrat atau nitrit pada hewan yang menyebabkan perubahan dalam beberapa parameter biokimia,

seperti persentase methemoglobin yang tinggi, kadar kreatinin, alkaline phosphatase (ALP), aspartate transaminase (AST) dan alanine transaminase (ALT) yang mengarah pada beberapa perubahan histopatologis seperti adanya inflamasi, hemoragi hingga terjadinya abses (Azeez, et al., 2011).

Penting diperhatikan bahwa penggunaan natrium nitrit dalam kehidupan sehari-hari perlu dibatasi seminimal mungkin untuk mencegah terjadinya akumulasi yang dapat menyebabkan munculnya berbagai jenis kerusakan. Karena segala sesuatu yang berlebihan dapat menimbulkan dampak buruk. Seperti yang telah dijelaskan oleh firman Allah SWT yaitu Q.S. Al-A'raf (7) Ayat 31:

﴿يٰٓاَيُّهَاۤ اٰدَمُ خُذْ وَاٰزِيۡنَكَم مِّنۡ عِنۡدِ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوۡا وَاَشْرَبُوۡا وَلَا تُسْرِفُوۡا اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِيۡنَ ۝۳۱﴾

Artinya:

*“Wahai anak cucu Adam! Pakailah pakaianmu yang bagus pada setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.”*

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2004) tafsir dari ayat tersebut yaitu Allah SWT telah memerintahkan manusia agar mengenakan pakaian yang baik untuk beribadah. Allah SWT mengatur urusan makan dan minum harus merupakan makanan dan minuman yang baik, tidak melampaui batas dalam macam dan jenis makanan yang dimakannya atau minuman yang diminumnya. Pada ayat ini, Allah SWT juga memerintahkan kepada manusia agar tidak berlebih-lebihan dan secukupnya, perihal makan dan minum tidak hanya terbatas pada makanan yang baik dan halal, tetapi yang melampaui batas akan merusak dan berbahaya. Makan dan minum secara berlebihan erat kaitannya dengan gangguan kesehatan.



Dalam hal ini, penggunaan senyawa natrium nitrit yang ditujukan untuk hal kebaikan bagi seluruh umat manusia terdapat batas yang penting untuk diperhatikan. Ditetapkannya batas adalah untuk melindungi manusia dari segala bahaya yang ditimbulkan karena berlebih-lebihan. Makan dan minum yang berlebihan dan melampaui batas berpotensi menimbulkan penyakit. Telah terbukti bahwa konsumsi natrium nitrit secara terus-menerus selama periode tertentu berpengaruh terhadap berbagai kerusakan organ yang memicu timbulnya penyakit. Oleh karena itu, Allah SWT melarang berlebih-lebihan hingga melampaui batas perihal makanan dan minuman.

Hal tersebut diperkuat dengan sabda Rasulullah SAW, yaitu hadits (no. 6695) yang diriwayatkan oleh Ahmad ibn Hanbal dalam kitab Musnad Imam Ahmad:

حَدَّثَنَا يَزِيدُ بْنُ هَارُونَ أَخْبَرَنَا هَمَّامٌ عَنْ قَتَادَةَ عَنْ عَمْرِو بْنِ شُعَيْبٍ عَنْ أَبِيهِ عَنْ جَدِّهِ، أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: كُلُوا، وَاشْرَبُوا، وَتَصَدَّقُوا، وَالْبَسُوا، غَيْرَ مَخِيلَةٍ وَلَا سَرَفٍ، وَقَالَ يَزِيدُ مَرَّتًا: فِي غَيْرِ أَسْرَافٍ وَلَا مَخِيلَةٍ

Artinya:

*Yazid bin Harun menceritakan kepada kami, Hammam mengabarkan kepada kami, dari Qatadah, dari Amru bin Syu'aib, dari bapaknya, dari kakeknya, bahwasannya Rasulullah SAW bersabda, "Makanlah, minumlah, bersedekahlah, berpakaianlah, tanpa sombong dan boros." Yazid pernah berkata sekali: Dengan tidak boros dan tidak sombong.*

Menurut tafsir Ibnu Hajar al-Asqalani (2004) pada hadits di atas kata *Isrāf* selalu disandingkan dengan kata *Makhīlah* yang berarti sombong, berbeda dengan al-Qur'an yang menyebutkan kata *Isrāf* secara individu. Pembatasan pada "berlebihan" dan "sombong" adalah bahwa dilarang untuk dikonsumsi baik untuk dimakan maupun dipakai atau selainnya bisa karena suatu maksud, yaitu





## DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, R. (2012). EFFECT OF SODIUM NITRITE ( NaNO<sub>2</sub> ) TO ERITHROCYTE AND HEMOGLOBIN PROFILE IN WHITE RAT ( *Rattus norvegicus* ). *Folia Medica Indonesiana*, 48(1), 1–5.
- Ansari, F. A., Ali, S. N., Arif, H., Khan, A. A., & Mahmood, R. (2017). Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine. *PLoS ONE*, 12(4), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175196>
- Arizono K, Kagawa S, Hamada H and Ariyoshi T. (1995). Nitric oxide mediated metallothionein induction by lipopolysaccharide. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 90: 49–58.
- Arsad, S. S., Esa, N. M., & Hamzah, H. (2014). Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with *Rhaphidophora Decursiva* (Roxb.) Schott Extract. *Journal of Cytology & Histology*, S4(001), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2157-7099.s4-001>
- Ateya, R., Taha, N., Mandour, A., Lebda, M., & ElMorshedy, A. (2016). Effect of Monosodium Glutamate and Sodium Nitrite on Some Biochemical Parameters in Japanese Quails. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 48(1), 107. <https://doi.org/10.5455/ajvs.197829>
- Az Zuhaili, W. (1996). *Tafsir Al Wajiz*. Lebanon: Darul Fikr.
- Azeez, O. H., Mahmood, M. B., & Hassan, J. S. (2011). Effect of nitrate poisoning on some biochemical parameters in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 25(2), 47–50.
- Belcastro, E., Gaucher, C., Corti, A., Leroy, P., Lartaud, I., & Pompella, A. (2017). Regulation of protein function by S-nitrosation and S-glutathionylation: Processes and targets in cardiovascular pathophysiology. *Biological Chemistry*, 398(12), 1267–1293. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0150>
- Borley, N. R., Collins, P., Alan, R., Gatzoulis, M. A., Healy, J. C., Johnson, D. (2008). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis Of Clinical Practice 40th Edition*. Spain: Elsevier.
- Cheville NF. (2006). *Introduction to Veterinary Pathology Third Edition*. Iowa (US): Blackwell publishing.
- Corwin, EJ. (2008). *Handbook of Pathophysiology 3th Edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- Delgado, M. F. G., González Zamora, A., Gonsebatt, M. E., Meza Mata, E., García Vargas, G. G., Calleros Rincón, E. Y., & Pérez Morales, R. (2018). Subacute intoxication with sodium nitrate induces hematological and biochemical alterations and liver injury in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166(January), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.060>
- Erkekoglu, P., & Baydar, T. (2010). Evaluation of the protective effect of ascorbic acid

on nitrite- and nitrosamine-induced cytotoxicity and genotoxicity in human hepatoma line. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20(2), 45–52. <https://doi.org/10.3109/15376510903583711>

- FAO/WHO. (2002). NITRITE and potential endogenous formation of N- nitroso compounds. In *WHO Food Additive Series 50*. Retrieved from <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm#4.0>
- Federer, W. T. (1955). *Experimental Designs-Theory and Application*. New York: Macmillan.
- Feldman, M., et al. (2011). *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Pathophysiology/Diagnosis/Management 9th ed Vol 1*. USA: Saunders Elsevier
- Fouad, S. S., Mohi-Eldin, M. M., Haridy, M. A., & Khalil, A. M. (2017). Ameliorative Effects of Ascorbic Acid (Vit. C) Against Sodium Nitrite Toxicity in Albino Rats: Hematological, Biochemical and Histopathological Studies. *Journal of Toxicological Sciences*, 9(1), 1–06. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejts.2017.01.06>
- Guyton, A. C. & Hall, J. (2009). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran 12th Edition*. Singapore: Elsevier.
- Harding, RM. (2002). *Pressure Changes and Hypoxia In Aviation*. In: Textbooks of military medicine-special environments section, environmental stress volume. Washington DC: Office of The US Army Surgeon General & The Borden Institute.
- Harijati, N., Samino, S., Indriyani, S. & A. Soewondo. (2017). *Mikroteknik Dasar*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Hassan, H. A., El-Agmy, S. M., Gaur, R. L., Fernando, A., Raj, M. H. G., & Ouhtit, A. (2009). In vivo evidence of hepato- and reno-protective effect of garlic oil against sodium nitrite-induced oxidative stress. *International Journal of Biological Sciences*, 5(3), 249–255. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5.249>
- Hedrich, H. J. (2006). Taxonomy and Stocks and Strains. *The Laboratory Rat*, 71–92. <https://doi.org/10.1016/B978-012074903-4/50006-6>
- Helal, E., Soliman, G. Z. A., & Wahed, A. (2008). Biochemical Studies On The Effect Of Sodium Nitrite And/Or Glutathione Treatment On Male Rats. *Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 30, 25–38. <https://doi.org/10.12816/ejhm.2008.17650>
- Hickman, D. L., Johnson, J., Vemulapalli, T. H., Crisler, J. R., & Shepherd, R. (2016). Commonly Used Animal Models. In *Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4>
- Honikel, K. O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1–2), 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>
- Horn, C. C., Kimball, B. A., Wang, H., Kaus, J., Dienel, S., Nagy, A., ... Andrews, P. L. R. (2013). Why Can't Rodents Vomit? A Comparative Behavioral, Anatomical, and Physiological Study. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060537>

- Ibnu Hajar al-Asqalani. (2009). Fathul Baari: Syarah Shahih Bukhari, J.28. terj. Amiruddin. Jakarta: Pustaka Azam.
- Imam Ahmad bin Muhammad bin Hanbal. *Musnad Imam Ahmad Jilid 6*. Syarah: Syaikh Ahmad Muhammad Syakir.
- Kanner J, Harel S and Granit R. (1991). Nitric oxide as an antioxidant. *Arch Biochem Biophys* 289: 130–136.
- Kementerian Agama. (n.d.). Taha - طه - Qur'an Kemenag. Retrieved September 17, 2019, from <https://quran.kemenag.go.id/index.php/sura/20/81>
- Kietzmann, T. (2017). Metabolic zonation of the liver: The oxygen gradient revisited. *Redox Biology*, 11(December 2016), 622–630. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.012>
- King NW & Joseph A. 1996. *Veterinary Pathology*. Iowa (US): Blackwell Blackwell Publishing.
- Kumar, V., Fausto, N., Abbas, A. (2004). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th Edition*. Philadelphia: Saunders.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2010). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease 8th Edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Kumar, V., Abbas, A., Aster, J. (2014). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 9th Edition*. Canada: Elsevier Health Science.
- Lardièrre-Deguelte, S., Ragot, E., Amroun, K., Piardi, T., Dokmak, S., Bruno, O., ... Kianmanesh, R. (2015). Hepatic abscess: Diagnosis and management. *Journal of Visceral Surgery*, 152(4), 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.jviscsurg.2015.01.013>
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- Lundberg, J. O., Weitzberg, E., & Gladwin, M. T. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(2), 156–167. <https://doi.org/10.1038/nrd2466>
- Mohan, H. (2010). *Textbook of Pathology (Sixth)*. India: JAYPEE BROTHERS MEDICAL PUBLISHERS (P) LTD.
- NCBI PubChem Database. (2019). Sodium nitrite, CID=23668193. <https://doi.org/10.2165/00128415-199103410-00061>
- NTP. (2000). Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (cas no. 91-20-3) in F344/N rats (inhalation studies). In *National Toxicology Program Technical Report Series*.
- NTP. (2001). Toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite (CAS NO. 7632-00-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). *National Toxicology Program Technical Report Series*, 495(01), 7–273.

- Ogur, R., Coskun, O., Korkmaz, A., Oter, S., Yaren, H., & Hasde, M. (2005). High nitrate intake impairs liver functions and morphology in rats; Protective effects of  $\alpha$ -tocopherol. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.051>
- Özen, H., Kamber, U., Karaman, M., Gül, S., Atakişi, E., Özcan, K., & Atakişi, O. (2014). Histopathologic, biochemical and genotoxic investigations on chronic sodium nitrite toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 66(8), 367–375. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.05.003>
- Pereira, C., Ferreira, N. R., Rocha, B. S., Barbosa, R. M., & Laranjinha, J. (2013). The redox interplay between nitrite and nitric oxide: From the gut to the brain. *Redox Biology*, 1(1), 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.04.004>
- Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP and Fallowfield JA. (2014). Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nature review: Immunology* (14): 181-194
- Rogers, A. B., & Dintzis, R. Z. (2012). Liver and Gallbladder. In *Comparative Anatomy and Histology* (First Edit, pp. 193–201). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381361-9.00013-5>
- Ross, M. H. & Pawlina, H. (2011). *Histology: A Text And Atlas: With Correlated Cell And Molecular Biology 6th Edition*. China: Wolters Kluwer.
- Ruttkay-Nedecky, B., Nejdil, L., Gumulec, J., Zitka, O., Masarik, M., Eckschlager, T., ... Kizek, R. (2013). The role of metallothionein in oxidative stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 6044–6066. <https://doi.org/10.3390/ijms14036044>
- Sholichah, Z. (2007). Mengenal Jenis Tikus. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*, 5(2), 18–19.
- Sigit, S. H. & Upik K. H. (2006). *Hama Permukiman Indonesia: Pengenalan, Biologi dan Pengendalian Hama Permukiman*. Bogor: FKH Institut Pertanian Bogor.
- Smith, J.B., & Mangkoewidjojo, S. (1988). *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Depok: Penerbit Universitas Indonesia.
- Snell, R. S. (2012). *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem* (alih bahasa: L. Sugiharto, editors: Ardy Suwahjo & Y. Antoni). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Suriawinata AA & SN Thung. (2011). *Liver Pathology: An Atlas and Concise Guide*. New York: Demos.
- Tafsir Ibnu Katsir Jilid I. (2004). Penerjemah: M Abdul Ghoffar E.M., Abdurrahman Mu'thi, Abu Ihsan Al-Atsari; pengedit: M. Yusuf Harun, et al. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Tan E. (2003). Gıda kirlenmesinde nitrat, nitrit ve olus , turdukları riskler. *Journal Food Feed Science –Technology*; 3:32–6.
- Thapa, B. R., & Walia, A. (2007). Liver function tests and interpretation. *Indian Journal*

