

Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi

The Toxicity Test of Cauliflower (Brassica oleracea L.) with Minimally Processed by Ozonation

Imas Siti Setiasih, In-In Hanidah, Dwi Wahyuda Wira, Tita Rialita, Debby M. Sumanti

Staf Teknologi Pangan, Fakultas teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung – Sumedang KM.21, Jatinangor, Indonesia

*email: iimdarajat@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article history

Received: 27 Juni 2016

Accepted: 15 Juli 2016

Available online: Februari 2017

Keywords :

ozonation TIP-01

minimally processed

cauliflower

acute toxicity

sub -chronic toxicity

rats

Kata kunci :

Ozonasi TIP-01

Kubis bunga diolah minimal

Tosisitas akut

Toksisitas subkronis

Tikus putih

ABSTRACT

One of attempt to extend the shelf life with processed cauliflower minimally by used a solution 1.9 ppm of ozone. In the washing process, using ozonation TIP-01 tool that has the ability to reduce total mikroorgnisme amounted to 46.30%. and pesticides amounting to 59.93%. The applied of ozone to food will be broken down quickly and leaves no residue. The study aims to determine the acute toxicity of Cauliflower (Brassica oleracea L.) with minimally processed by ozonation in rats, followed by sub-chronic toxicity tests against liver and kidney function experimental animals. The method is carried acute and sub-chronic toxicity test using white Wistar rats. Acute toxicity tests performed at a dose of 15,000 mg / kg, while the sub-chronic toxicity test performed on multilevel dose is: 1000 mg / kg, 10,000 mg / kg bw and 20,000 mg / kg bw. The results show that ozonation does not interfere with the results KBDM animal health. This berdasarkan acute toxicity values (LD50) is zero or no experimental animals that die on the dose and sub-chronic toxicity test on the liver and kidneys of animals trying to cause degeneration of the light that is reversible

ABSTRAK

Salah satu usaha untuk memperpanjang umur simpan kubis bunga diolah minimum(KBDM) yaitu dengan proses pencucian menggunakan larutan ozon 1,9 ppm. Dalam proses pencucian tersebut, menggunakan alat Ozonasi TIP-01 yang memiliki kemampuan mereduksi total mikroorgnisme sebesar 46,30%. dan pestisida sebesar 59,93%. Ozon jika diaplikasikan pada makanan akan diuraikan dengan cepat serta tidak meninggalkan residu. Penelitian bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dari KBDM hasil ozonasi pada hewan coba tikus yang dilanjutkan dengan uji toksisitas sub kronis terhadap fungsi organ hati dan ginjal hewan coba. Metode yang dilakukan uji toksisitas akut dan subkronis menggunakan tikus putih dengan galur Wistar. Uji toksisitas akut dilakukan pada dosis 15.000 mg/kgbb, sedangkan uji toksisitas subkronis dilakukan pada dosis bertingkat yaitu: 1000 mg/kgbb, 10.000 mg/ kg bb dan 20.000 mg/kg bb. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KBDM hasil ozonasi tidak mengganggu kesehatan hewan coba. Hal ini berdasarkan nilai toksisitas akut (LD₅₀) adalah Nol atau tidak ada hewan coba yang mati pada dosis tersebut dan uji toksisitas subkronis pada hati dan ginjal hewan coba menimbulkan degenerasi ringan yang bersifat *reversible*

Pendahuluan

Keamanan pangan merupakan kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan terhindar dari kemungkinan terkena cemaran biologis, kimia dan benda asing yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Bahaya biologis adalah bahaya yang berupa cemaran mikroba dan parasit yang dapat menyebabkan keracunan atau penyakit. Bahaya biologis dapat berasal dari udara, tanah, air dan

tempat lainnya yang kotor. Bahaya kimia merupakan bahaya yang berupa cemaran bahan kimia beracun yang dapat menyebabkan keracunan atau penyakit. Salah senyawa kimia dalam bentuk gas yang dapat digunakan sebagai antimikroba dan dekontaminasi adalah ozon.

Ozon merupakan oksidator kuat yang dapat dimanfaatkan untuk membunuh bakteri (*sterilization*), menghilangkan warna (*decoloration*), menghilangkan bau (*deodorization*) dan menguraikan senyawa organik

(*degradation*). Gas ozon jika diaplikasikan untuk makanan akan diuraikan dengan cepat serta tidak meninggalkan residu. Menurut Khadre *et al.* (2001), gas ozon dapat digunakan untuk dekontaminasi produk, peralatan, permukaan makanan dan lingkungan pengolahan. Penerapan ozon atau ozonasi pada makanan perlu peninjauan keamanannya. Salah satu pengujian keamanan makanan adalah uji toksisitas.

Uji toksisitas merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk menilai keamanan suatu senyawa kimia baik senyawa itu sendiri maupun senyawa tersebut berada dalam bahan-bahan lainnya seperti bahan pangan. Menurut Lu (1995), toksisitas didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Mekanisme kerja yang mendasari efek toksik biasanya dapat diketahui lewat berbagai perubahan tingkat subseluler. Bagian yang potensial dipengaruhi toksikan adalah nukleulus, mitokondria, lisozom, retikulum endoplasma, struktur subseluler lainnya dan membrane plasma. Mekanisme ini juga bisa diklasifikasikan berdasarkan sifat kimia berbagai molekul sasaran berupa protein, koenzim lipid dan asam-asam nukleat. Dilain pihak karbohidrat jarang terpengaruh oleh toksikan (Nugroho, 1995).

Metode uji toksisitas dapat dibedakan menjadi dua golongan, yaitu uji toksisitas yang dirancang untuk mengetahui atau mengevaluasi efek umum suatu senyawa dan uji toksisitas yang dirancang untuk mengevaluasi secara rinci tipe toksisitas spesifik (Hayes 2001, Loomis 1996, Lu 1995). Uji toksisitas umum meliputi: uji toksisitas aku, uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas kronis. Sedangkan uji toksisitas spesifik meliputi: uji teratogenitas, uji mutagenitas, uji karsinogenitas.

Uji toksisitas subkronis dilakukan untuk mengevaluasi efek senyawa apabila diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang. Biasanya diberikan senyawa 10 % dari masa hidup hewan, yaitu 3 bulan untuk tikus dan 1-2 tahun untuk anjing. Uji toksisitas subkronis menyakuti evaluasi seluruh hewan untuk mengetahui efek patologi anatomi dan histology. Uji ini dapat menghasilkan informasi toksisitas zat uji yang berkaitan dengan organ sasaran, efek organ tersebut, dan hubungan dosis efek dan dosis respon. Informasi tersebut dapat member petunjuk untuk memntukan jenis pengujian yang lainnya.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dan sub kronis dari KBDM hasil ozonasi pada hewan coba tikus terhadap fungsi organ hati dan ginjal hewan coba.

Metode Penelitian

Pengujian toksisitas akut dari kubis bunga *fresh-cut* yang diberi perlakuan ozon pada hewan coba tikus dilanjutkan dengan uji toksisitas sub kronis kubis bunga *fresh-cut* terhadap fungsi organ hati dan ginjal hewan percobaan.

Hewan Uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar dengan berat 100-200

gram, usia 2-3 bulan. Sebelum pengujian dimulai hewan uji harus diadaptasikan selama tujuh hari. Diamati perilaku hewan sehingga tidak ada hewan yang sakit dan tidak terjadi penurunan bobot hewan coba sebanyak 10 %.

Bahan Uji yang digunakan adalah kubis bunga *fresh-cut* yang sudah diozon dan air suling. Uji toksisitas akut diawali dengan memberikan bahan uji secara oral ke hewan coba tikus pada dosis 15.000 mg/kgbb, kemudian diamati efek pemberian KBDM pada menit ke-30, 60, dan 120, meliputi aktivitas motorik, fenomena straub, piloereksi, ptosis, midriasis, grooming, urinasi, defekasi dan salivasi. Setelah 24 jam, data tikus yang mati dicatat. Tikus yang bertahan hidup diamati sampai hari ke-14.. Sedangkan Uji toksisitas sub kronis dibagi menjadi 4 kelompok dosis, 3 kelompok uji dan 1 kelompok kontrol. K1 pemberian dosis 1000 mg/kg bb sayur berozon (dosis rendah), K2 pemberian dosis 10000 mg/kgbb sayur berozon (dosis tengah), K3 pemberian dosis 20000 mg/kgbb sayur berozon (dosis atas), K4 merupakan satelit kontrol (aquades), K5 merupakan satelit dosis 20000 mg/kg bb (satelit dosis atas). Kode K untuk tikus jantan dan kode L untuk tikus betina merupakan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 90 hari. Kelompok satelit tetap dipelihara selama 120 hari tanpa diberikan bahan. Evaluasi hasil uji dilakukan melalui pengamatan pasca mati terhadap organ-organ hewan coba untuk mengamati perubahan patologi anatomi dan histopatologinya.

Hasil dan Pembahasan

Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut adalah uji yang dilakukan untuk mengukur derajat efek suatu senyawa yang diberikan pada hewan coba tertentu dan pengamatannya dilakukan selama 24 jam pertama dalam satu kesempatan (Loomis, 1996). Pengujian toksisitas dilakukan dengan pengamatan perilaku hewan coba dan presentase kematian selama 24 jam. Hasil presentase kematian hewan coba disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Presentase Mortalitas Kumulatif Hewan Coba Setelah pemberian KBDM

Perlakuan	Jumlah Mortalitas Kumulatif Hewan Coba (%)					
	0 jam	0,5 jam	1 jam	2 jam	4 jam	24 jam
Kontrol	0	0	0	0	0	0
15000 mg/kg bb	0	0	0	0	0	0

Dari hasil pengujian, ternyata tidak terjadi kematian hewan coba pada dosis 15000 mg/kg bb begitu juga pada kontrol sehingga KBDM berozon tidak mempunyai LD₅₀ atau dapat dikatakan non toksik. Menurut Lu (1995), apabila LD₅₀ besar dari 15000 mg/kg bb maka senyawa tersebut masuk kedalam tingkat keracunan praktis non toksik (*practically non toxic*). Secara umum, semakin kecil nilai LD₅₀, semakin toksik senyawa tersebut dan semakin besar nilai LD₅₀ semakin rendah toksisitasnya (Loomis, 1996). Untuk mengetahui efek terhadap

kesehatan individu dapat dilihat dari kondisi darah dengan cara pengujian hematologi darah hewan coba yang diberi KBDM berozon. Hasil pengujian hematologi darah hewan uji disajikan pada Tabel 2.

Dari tabel tersebut terlihat bahwa berdasarkan parameter yang diuji yaitu kadar hemoglobin, hematokrit, leukosit, eritrosit, dan trombosit darah hewan coba yang

diberi kubis bunga *fresh cut* berozon masih dibawah kontrol negatif dan berada didalam jumlah kisaran standar. Hasil penelitian (Tabel 2) menunjukkan bahwa ozonasi KBDM konsentrasi 1,9 ppm selama 5 menit tidak mengganggu kesehatan hewan coba, sehingga aman untuk dikonsumsi manusia.

Tabel 2. Hasil Pengujian Hematologi Darah Hewan Coba

Parameter Hematologi	Kontrol Negatif	Perlakuan	Standar	Satuan
Hemoglobin	14.7	14.42	12-17.5 ****	g/dL
Hematokrit	52.5	49.2	39-53 ***	%
Leukosit	9850	9400	6600-12600*	/mm3
Eritrosit	7.75	6.921	7.2-9.6 **	juta/uL
Trombosit	1070500	763000	1240000 (1100000-1380000)	/mm3
Indek Eritrosit				
MCV	71.1	71.91		
MCH	20.05	21.35		
MCHC	26.7	29.59		
Laju Endap darah	1	1		mm/jam

Toksisitas

Subkronis

Pengamatan dilakukan pada organ hati dan ginjal tikus putih jantan dan betina terutama pada hepatosit, sinusoid, dan ada tidaknya sel-sel radang untuk organ hati. Untuk ginjal dilakukan pada nefron, tubulus dan interstitium. Perubahan yang terjadi pada kontrol negatif (K1 dan L1) terjadi degenerasi hidropis ringan tetapi hati masih membentuk lobulasi yang jelas dengan vena sentralis yang berada di tengah. Sitoplasma mengambil warna merah muda dan inti sel mengambil warna ungu kebiruan.

Pada kelompok Perlakuan K2, K3, K4, L2, L3, L4 hepatosit masih tersusun relative normal tapi ditemukannya degenerasi hidropis pada K2 dan L2 ditunjukkan dengan terdesaknya intisel hepatosit kearah pinggir oleh cairan sitoplasma sel. Sedangkan pada K3 dan K4, L2 dan L3 terjadi nekrosis sel-sel hati. Terjadinya oedema pada organ hati, ditunjukkan dengan semakin lebarnya sinusoid-sinusoid hati. Pada Kelompok perlakuan K5 hati kembali menunjukkan kondisi organ hati yang normal tetapi terdapat infiltrasi sel-sel radang.

Pengamatan pada organ ginjal tikus putih jantan dan betina pada kontrol negatif (K1 dan L1) dan kelompok perlakuan (K2, K3, K4, K5, L2, L3, L4, L5) ditemukan adanya sarang radang, degenerasi ringan pada sel tubuli dan nefron yang disebut "cloudy swelling" dan terjadinya nekrose pada sel tubuli ginjal. Perubahan pada organ hati dan ginjal tikus putih jantan dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengamatan histopatologi hati dan ginjal kemudian diskoring dan didapatkan nilai berdasarkan hasil skoring tersebut. Kemudian nilai tersebut diuji statistik dan dilanjutkan dengan t tes yang disajikan pada Tabel 3. Perlakuan K dan L merupakan dosis satelit yang menentukan apakah pemberian kubis bunga berozon berpengaruh atau tidak kepada organ hati dan ginjal. Berdasarkan pengujian statistik bahwa tidak terjadi

perubahan pada organ hati dan organ ginjal baik antar kontrol negatif dan antara perlakuan itu sendiri.

Degenerasi hidropik atau degenerasi vakuoler dapat dilihat secara mikroskopis dengan ditemukannya vakuola yang jernih tersebar dalam sitoplasma, kadang vakuola yang kecil bersatu membentuk vakuola lebih besar sehingga inti sel terdesak ke pinggir. Degenerasi hidropik (edema intraseluler lebih mencolok daripada bengkak keruh. Pembengkakkan tidak hanya terjadi pada endoplasmic reticulum dan mitochondria tetapi air juga mengumpul dalam rongga-rongga sel. Kemunduran sering terjadi pada sel hati akibat racun-racun tetrachloride atau chloroform (Saleh 1996). Menurut Cheville (2006), degenerasi hidropik merupakan suatu kerusakan sel yang reversibel yang diakibatkan terganggunya permeabilitas membrane sel hepatosit. Kondisi tersebut menyebabkan ion K^+ mudah keluar dari sel dan sebaliknya Ca^{+} , Na^{+} serta air mudah masuk kedalam sel dan mengakibatkan terjadinya pembengkakan.

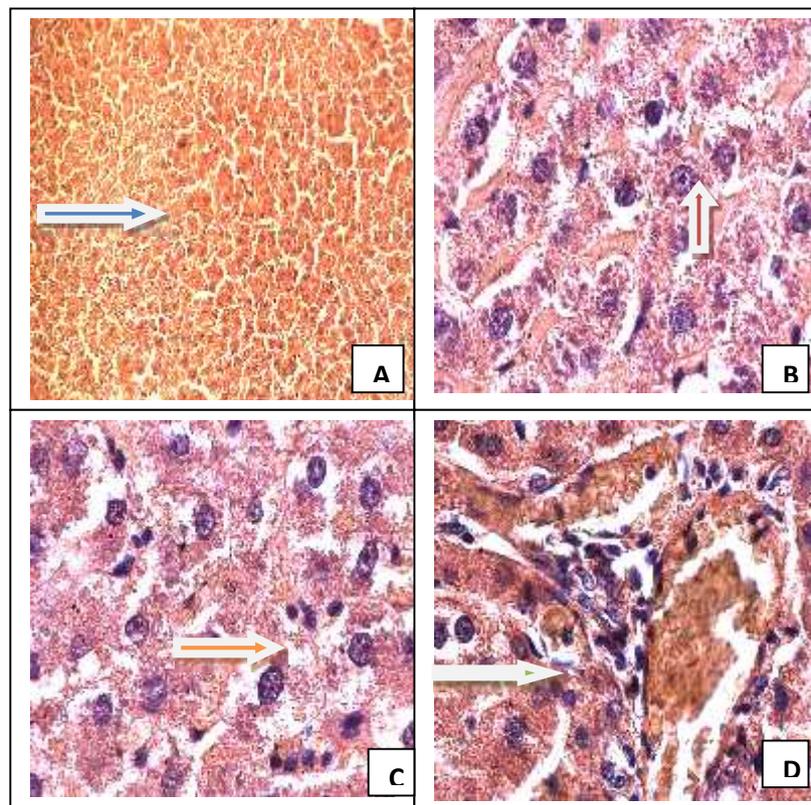
Tabel 3. Hasil Uji Sidik Ragam Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus Putih Jantan dan Betina

Perlakuan	Pengamatan	
	Hati	Ginjal
K 1	1.57 a	2.83 a
K 2	1.50 a	2.37 a
K 3	1.63 a	2.60 a
K 4	1.27 a	2.00 a
K 5	1.37 a	1.13 a
L 1	1.07 a	1.60 a
L 2	1.40 a	2.80 a
L 3	3.83 a	3.43 a
L 4	3.13 a	3.13 a
L 5	0.80 a	1.93 a

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama kearah vertical menunjukkan nilai tidak berbeda nyata ($P > 0.05$)

Pada hepatosit terjadi nekrosa, kemungkinan disebabkan oleh hasil metabolisme hati yaitu amoniak. Darmawam (1990) menyatakan bahwa hati mempunyai fungsi metabolic putih telur tau protein sehingga menghasilkan amoniak, asam keton, NH_2 yang bersifat toksik. Pada hati dan ginjal ditemukan juga sel-sel radang, sel sel radang mungkin mungkin disebabkan oleh adanya infeksi alamiah . Pada hati terjadi edema, edema adalah meningkatnya volume cairan ekstraseluler dan ekstraseluler disertai dengan penimbunan cairan dalam sela-sela raingan dan rongga serosa, Himawan(1996).

Degenerasi bengkak keruh (*cloudy swelling*, degenerasi albumin) merupakan perubahan kemunduran akibat jejas yang tidak jelas. Perubahan ini ditandai oleh adanya sel-sel yang membengkak disertai sitoplasma yang bergranul sehingga jaringan tampak keruh. Perubahan ini biasanya terjadi pada sel tubulus ginjal, sel hati sel oto jantung. Dapat terjadi akibat infeksi, demam, suhu rendah atau tinggi, anoreksia, gangguan sirkulasi, kemunduran ini bersifat reversible.



Gambar 1. Perubahan pada Organ Hati

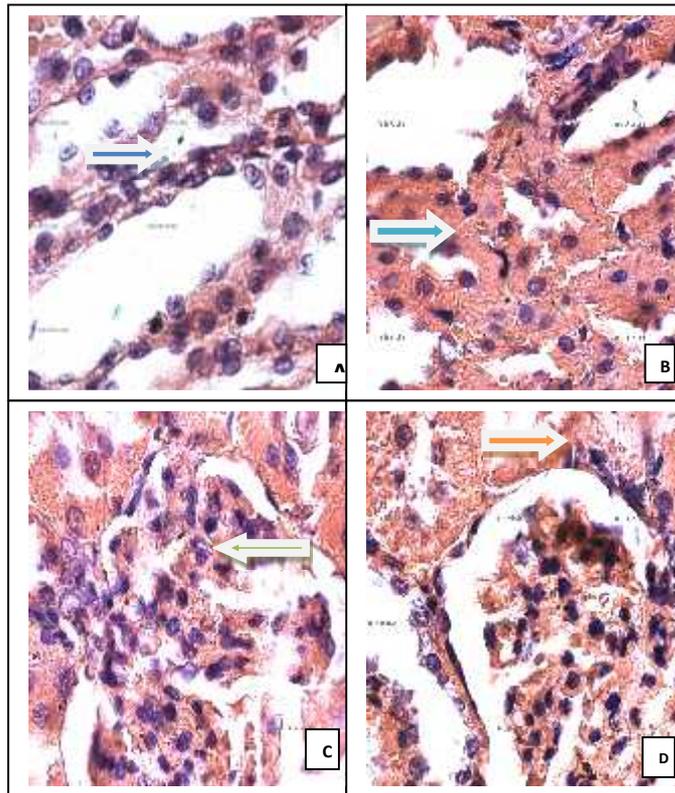
Keterangan:

A = K4 Oedema, sinusoid hati melebar 200x

B = K1 Hepatosit Normal dan sinusoid hati normal 1000x

C = K2 Hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik 1000x

D = K5 Sel-sel radang, 1000 x pada tikus putih jantan



Gambar 2. Perubahan pada Organ Ganjil

Keterangan:

A dan B Degenerasi bengkak keruh (*cloudy swelling*);

C dan D Infiltrasi sel-sel radang 1000x pada ginjal tikus putih jantan

Kesimpulan

Pencucian ozonasi 1,9 ppm selama 5 menit pada KBDM berdasarkan nilai LD_{50} tidak mengganggu kesehatan hewan uji sehingga aman untuk dikonsumsi manusia. Sedangkan berdasarkan hasil uji toksisitas subkronis pencucian ozonasi tersebut dapat menimbulkan degenerasi ringan pada hati dan ginjal tetapi degenerasi tersebut bersifat *reversible* (mampu kembali ke keadaan semula).

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga disampaikan kepada Dikti yang telah memberi hibah penelitian Stranas selama 2 tahun.

Pustaka

- Cheville, N. F. 2006. Introduction to Veterinary Pathology. Iowa (US). Blackwell Publishing
- Himawan S. 1996. Patologi. Himawan: Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Bagian kedua.
- Khadre, M., Yousef, A.-E., dan Kim, J.-G. 2001. Microbiological Aspect of Ozone Application in Food. Food Science 66, 12442-1252.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar: Organ, Sasaran, dan Penilaian Resiko. Ed ke-2. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Loomis, T.A. W.Hayes, 1987. Essential of Toxicology. 4rd. Academic Press. California.
- Saleh S. 1996. Patologi, Himawan Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Bagian Pertama. Kelainan Retrogresif dan Progresif.