

Tolok Ukur Toksisitas

22 Juni 2023

Annisa Krisridwany

Program Studi Farmasi

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY



Outline

- Pendahuluan
- Tolok Ukur Toksisitas : Kualitatif dan Kuantitatif
- Hubungan Kekerbatan Dosis-Respon
- Manfaat mengetahui tolok ukur



clipartimage.com

TOKSISITAS (KETOKSIKAN)



ZAT BERACUN



SEL SASARAN



INTERAKSI



RESPON/ REAKSI

EFEK TOKSIK/ LUKA



BERAPA KEKUATANNYA ?



**TOKSISITAS (KETOKSIKAN): KAPASITAS
SESUATU ZAT BERACUN UNTUK
MENIMBULKAN EFEK TOKSIK TERTENTU
PADA MAKHLUK HIDUP**

Beberapa istilah Penting yg Digunakan

Efek : Perubahan biologis akibat pemejanan dengan zat beracun

Respon: proporsi populasi yang memperlihatkan efek tertentu

Bahaya :kemungkinan sesuatu zat kimia akan menyebabkan sesuatu efek yang membahayakan kesehatan dalam kondisi dimana zat itu diproduksi atau digunakan makhluk hidup

Beberapa istilah penting yg digunakan

Resiko : Frekuensi perkiraan terhadap efek yang tak diinginkan yang mungkin timbul akibat pemejanaan makhluk hidup dengan zat kimia

Keamanan: Resiko yang dapat diterima berkenaan dengan penggunaan zat kimia dengan dosis dan cara seperti termaksud dalam penggunaannya

Tolok Ukur Toksisitas

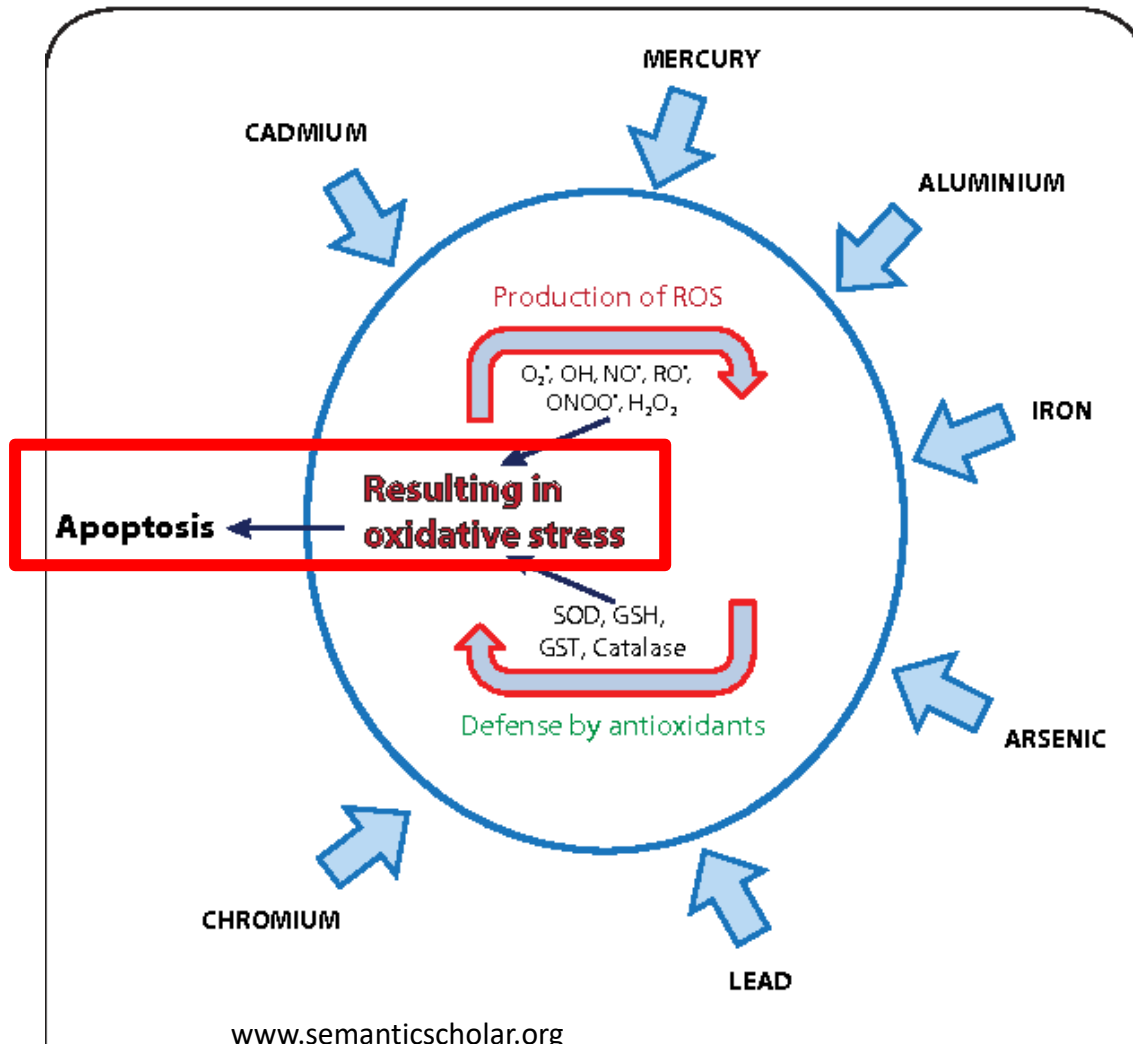
- **Kualitatif**
- **Kuantitatif**



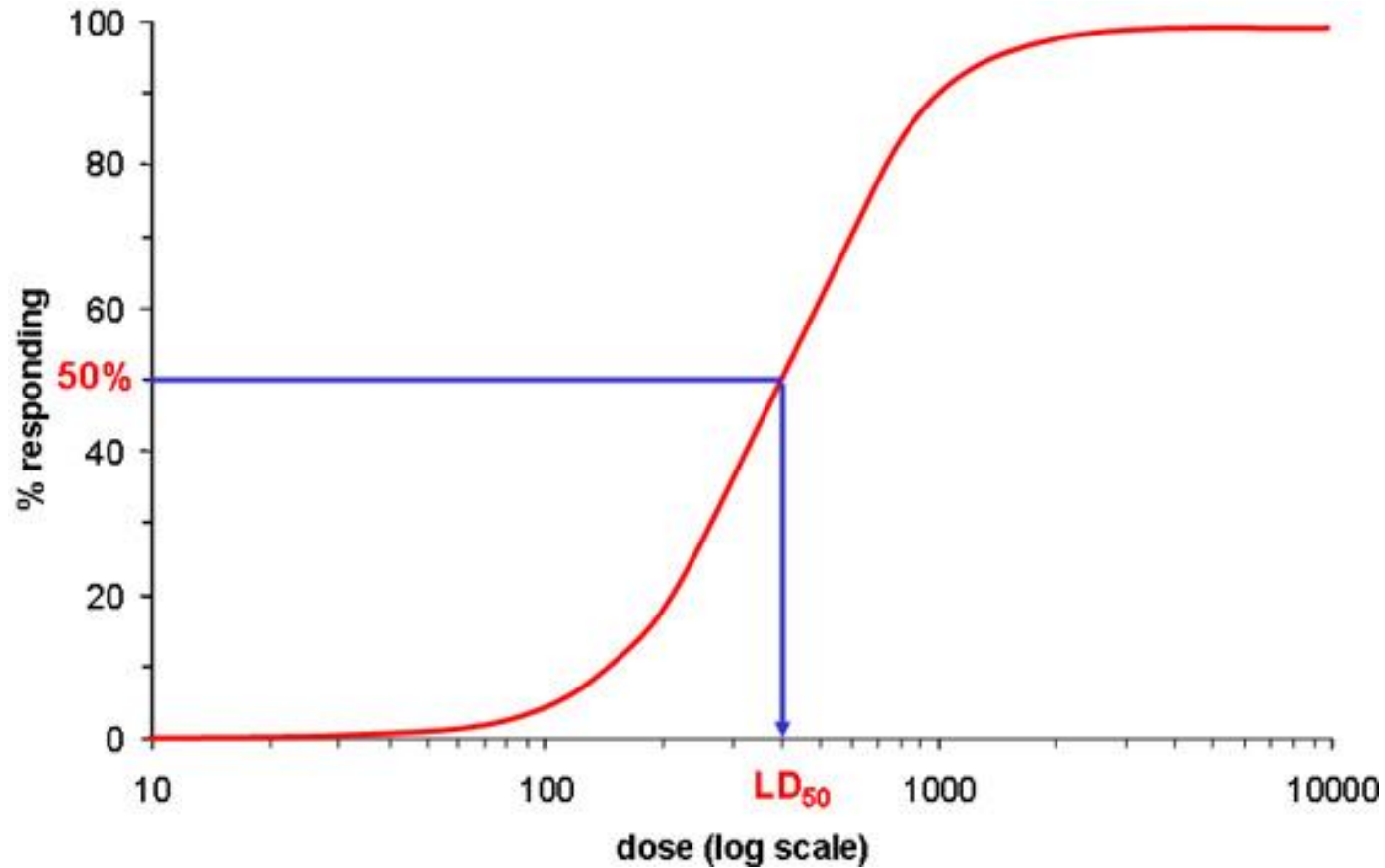
-diperoleh dari hasil uji ketoksikan zat beracun pada sekelompok hewan tertentu,

- diterapkan guna memperkirakan resiko timbulnya kejadian sesuatu efek toksik pada diri manusia

Kuantitatif? Kualitatif?

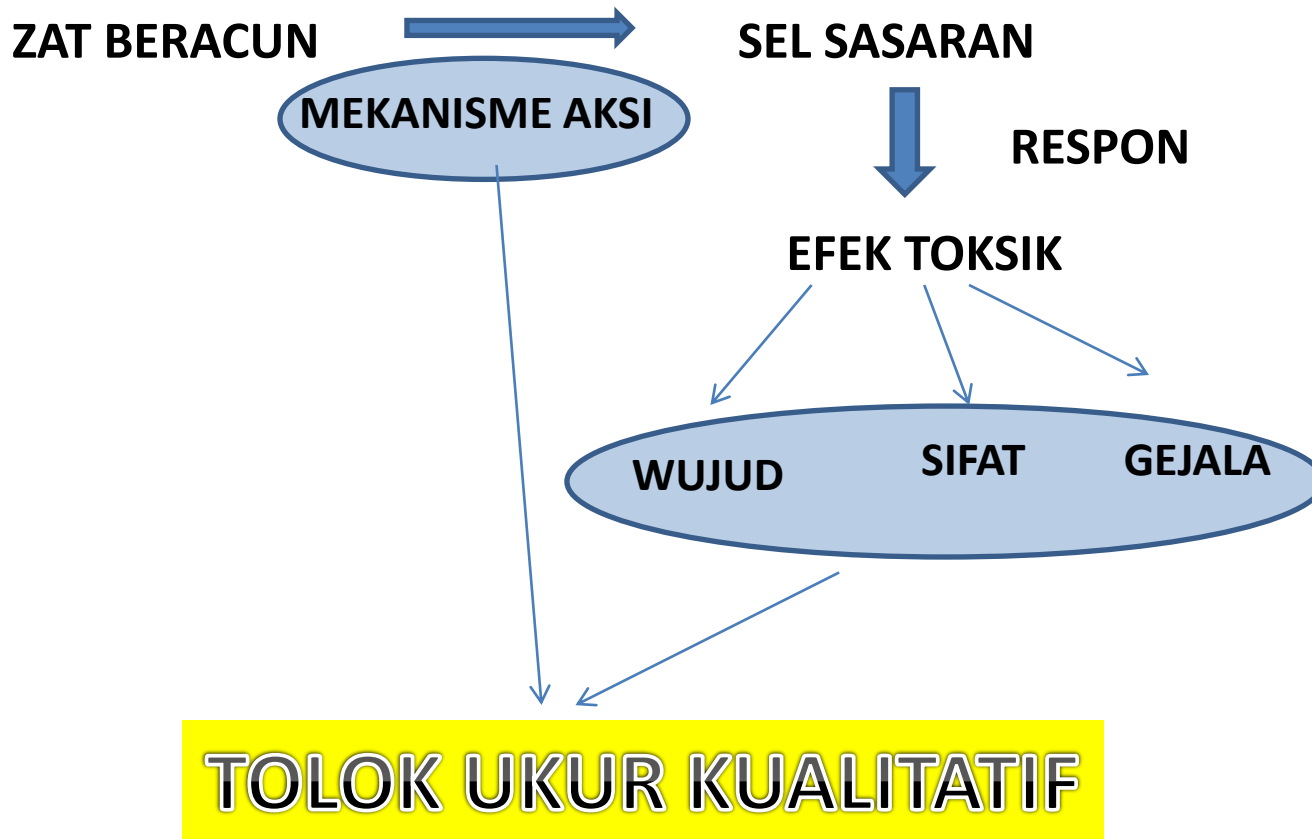


Kuantitatif? Kualitatif?



TOLOK UKUR KUALITATIF

DASAR PEMIKIRAN



Tolok Ukur Kualitatif

- Mekanisme aksi
- Jenis wujud efek toksik
- Sifat efek toksik
- Gejala klinis yang tampak



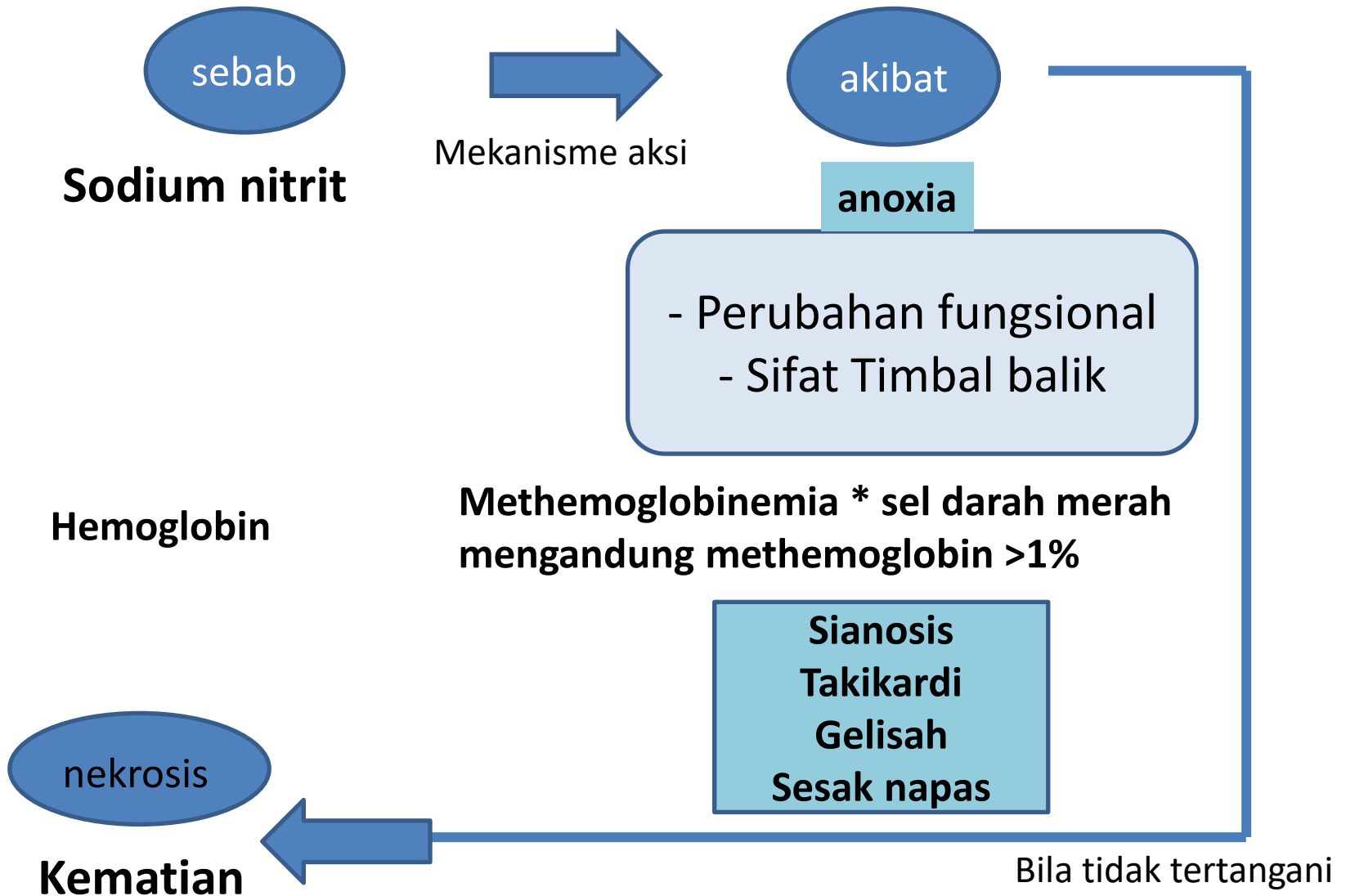
Selama efek toksik berlangsung

Seluruh tolok ukur ditegaskan dalam uji ketoksikan



Untuk melihat hubungan sebab akibat ketoksikan racun

Contoh tolok ukur kualitatif



Tolok ukur kualitatif

Healthy Liver



Unhealthy Liver



<http://healthygeorge.com>

Mekanisme?

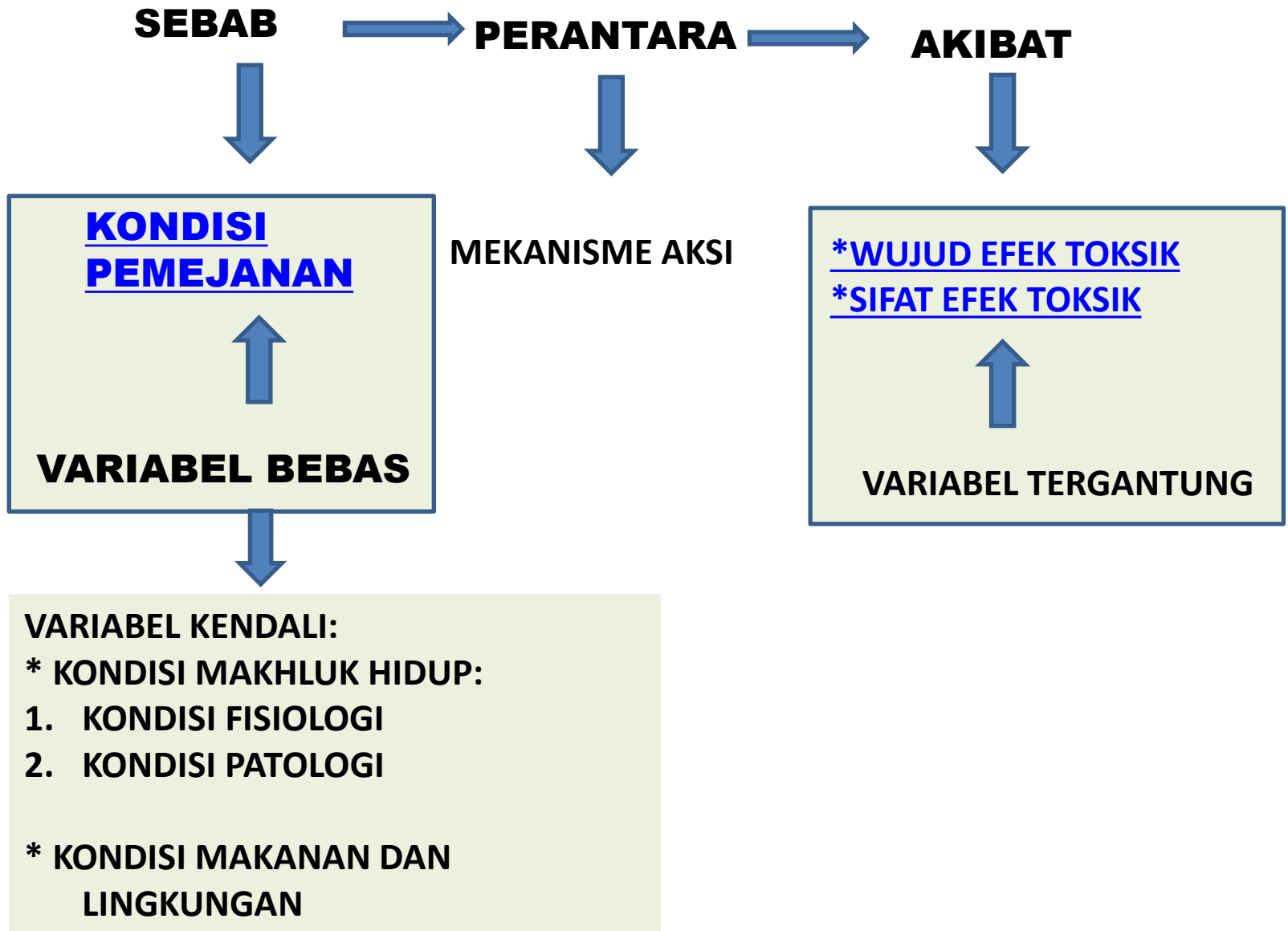
Jenis?

Sifat?

Gejala?

Depicts a liver with Cirrhosis which is a serious liver disease commonly caused by alcohol abuse.

VARIABEL TOKSISITAS ZAT BERACUN



Manfaat mengetahui tolok ukur kualitatif

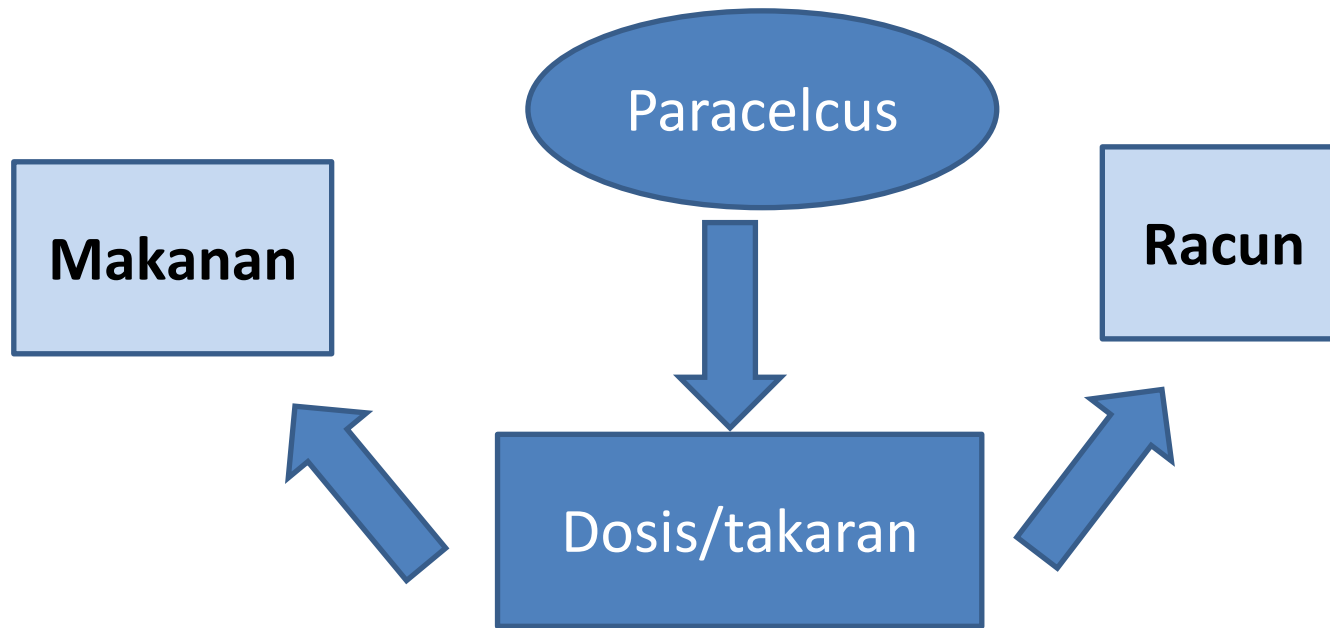
- Dapat dijelaskan:
 - Mekanisme aksi
 - Wujud
 - Sifat efek toksik
 - Gejala klinis yang tampak



- Keparahan dari akibat yang ditimbulkan dapat dijelaskan melalui tolok ukur kualitatif disamping tolok ukur kuantitatif

Tolok Ukur Kuantitatif

- Dasar pemikiran: Paracelsus (1493-1541)
- **“The dose makes the poison”**
or in Latin, ***“Sola dosis facit venenum”***
- The principle relies on the finding that all chemicals—even [water](#) and [oxygen](#)—can be toxic if too much is eaten, drunk, or absorbed



1. Ada takaran/dosis yang tidak menimbulkan efek toksik yang dapat teramati
2. Takaran yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek toksik yang maksimum

TOLOK UKUR KUANTITATIF

DASAR PEMIKIRAN

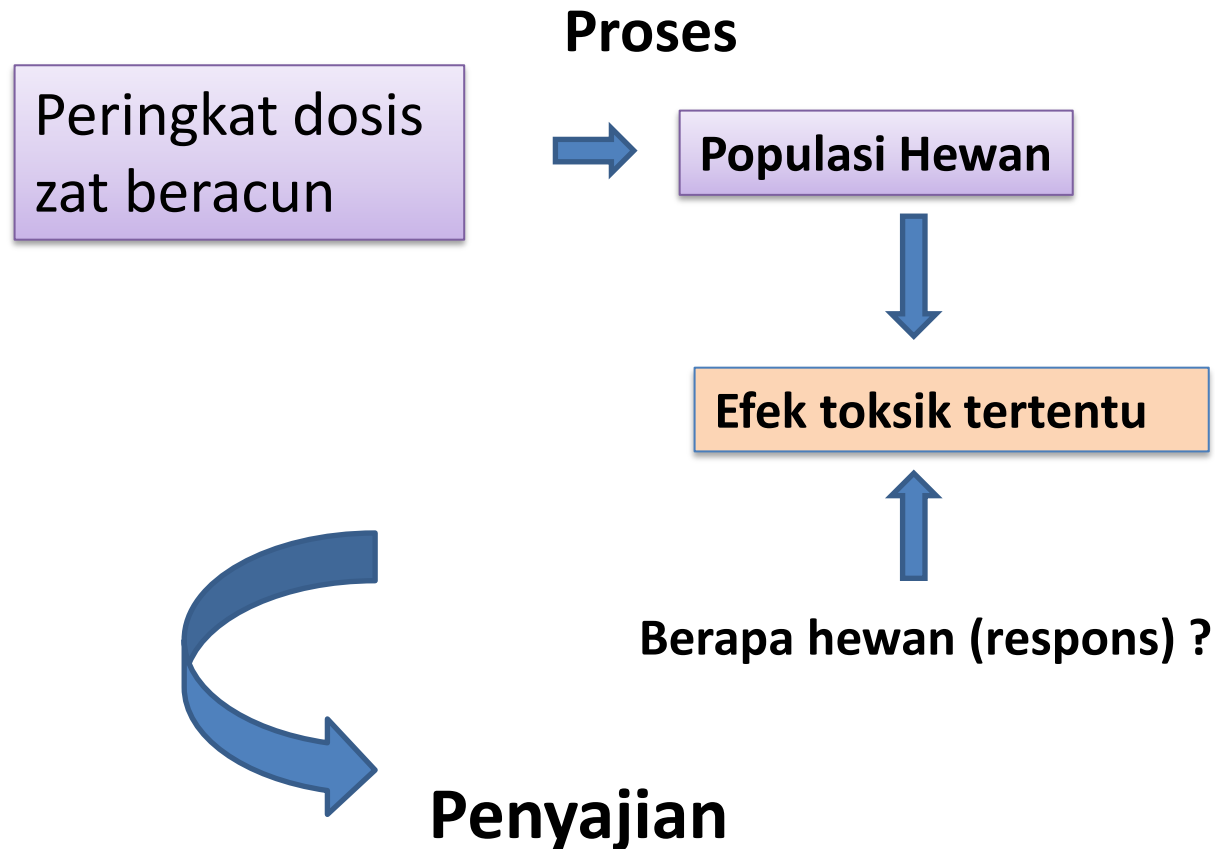
- * Pernyataan Paracelscus (1493- 1541)
- * Kekkerabatan antara kondisi pemejanan (variabel bebas) dan wujud efek/respon toksik (variabel tergantung)

Tolok ukur kuantitatif utama

Kekerabatan antara

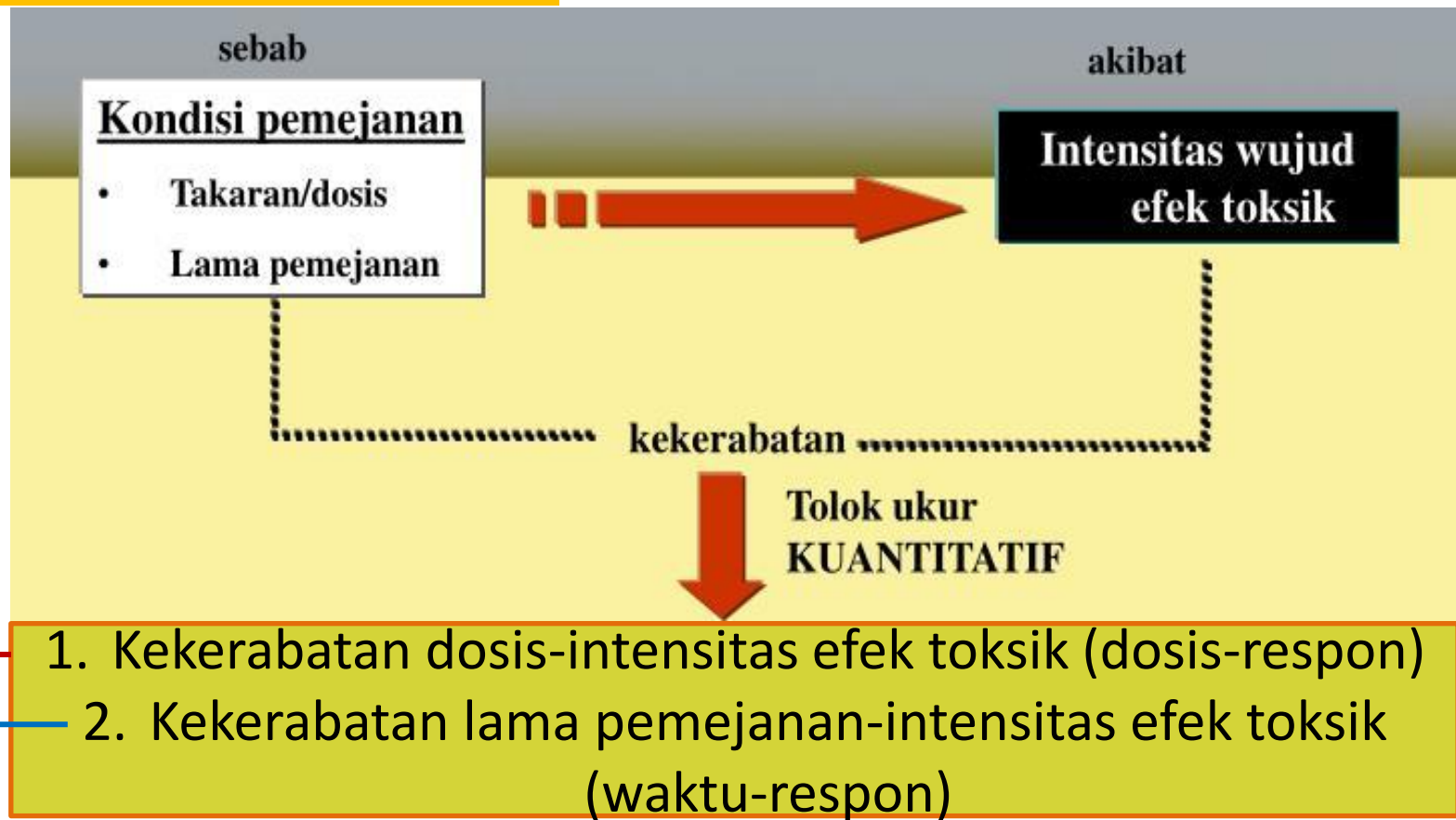
1. Dosis dan respon
2. Waktu dan respon

Kekerabatan antara dosis dan respons



1. Diagram distribusi respons
2. Kurva frekuensi respons/ % respons

Tolok Ukur Kuantitatif



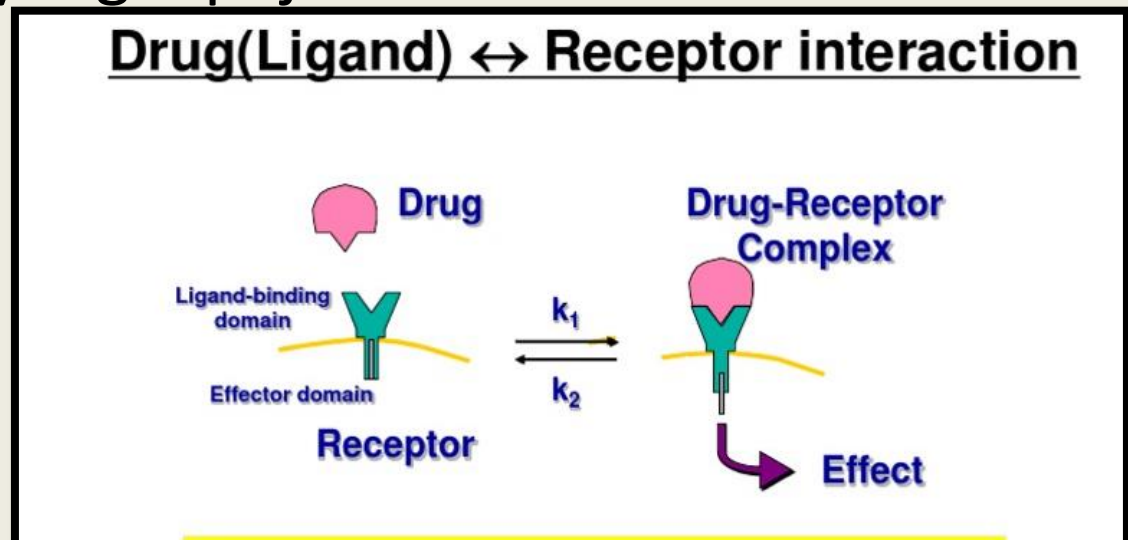
LD_{50} , TD_{50} , dan KETT

Waktu latent (waktu yang dibutuhkan sampai efek toksik muncul)

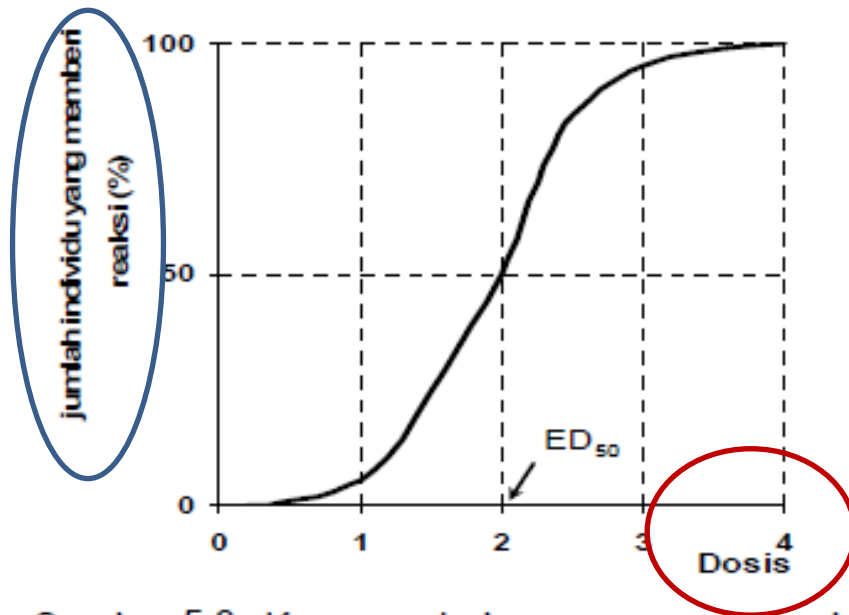
MHMD (masukan harian maksimum yang dapat diterima)

HUBUNGAN/KEKERABATAN DOSIS RESPON

- ASUMSI:
 - Efek toksik merupakan fungsi kadar racun di tempat aksinya
 - Kadar racun di tempat aksinya berhubungan dengan takaran pemejanannya
 - Respon toksik menunjukkan hubungan sebab akibat dengan racun yang dipejankan



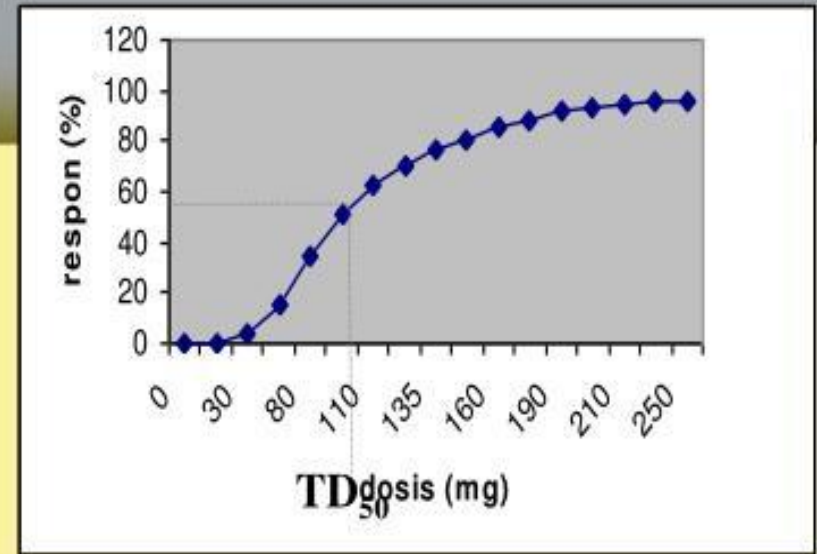
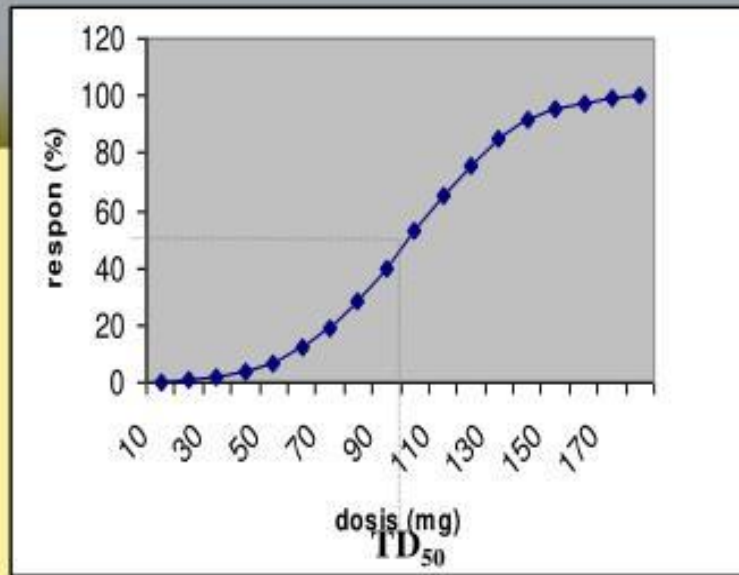
Kurva Dosis Vs Respon



Gambar 5.2. Kurva hubungan respon-dosis hipotesis dari suatu xenobiotika uji yang dipemberikan pada populasi spesimen biologi yang seragam.

Pada dasarnya kurva hubungan dosis-respon menunjukkan variasi individual dari dosis yang diperlukan untuk menimbulkan suatu efek tertentu.

Kurva dosis Vs Respon



Gambar 2. Kurva kekerabatan dosis-respon

Takaran pemejanaan dimana 50 % individu dalam sekelompok populasi menunjukkan efek toksik baku (takaran median) digunakan sebagai tolok ukur potensi ketoksikan racun

TD_{50} (*toxic dose*)

Bila efek toksik berupa perubahan biokimia, fungsional dan struktural

LD_{50} (*lethal dose*)

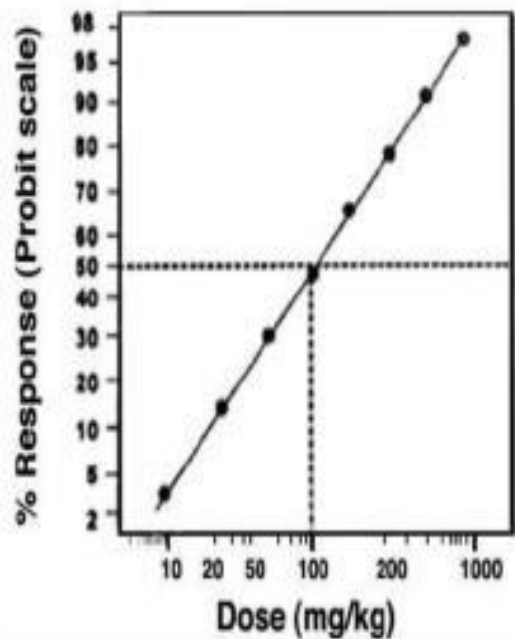
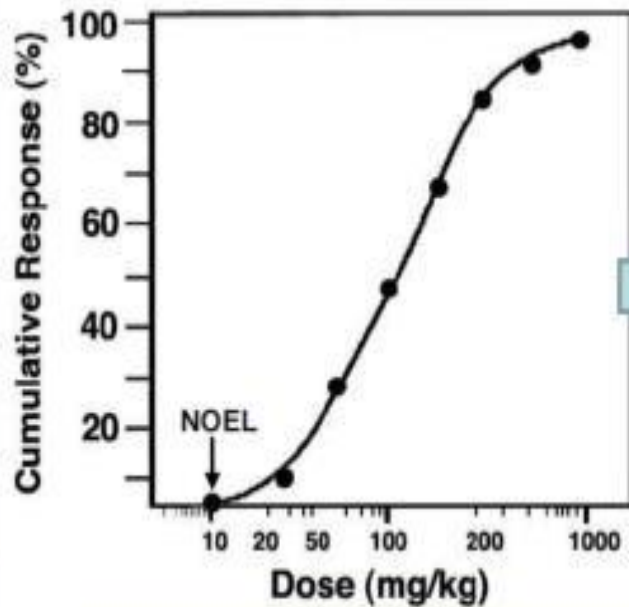
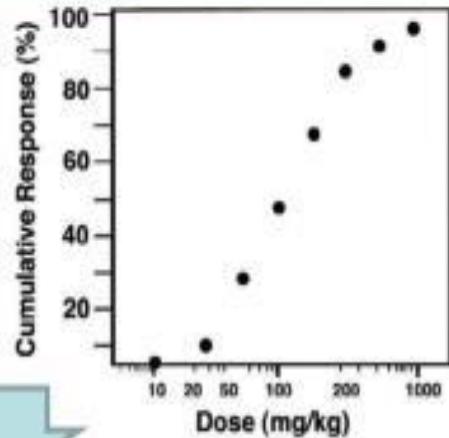
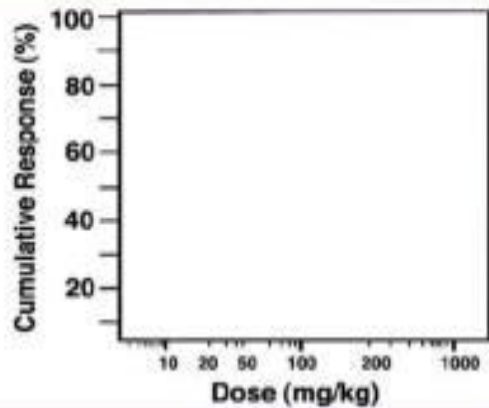
Bila efek toksik berupa kematian

Lethal Dose 50 (LD₅₀)

- dosis tunggal suatu senyawa obat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50 % hewan percobaan dari keseluruhan hewan coba yang digunakan dalam penelitian.
- **semakin kecil nilai LD50 semakin toksik senyawa tersebut**

- Terdapat beberapa metode yang paling sering digunakan untuk menghitung harga LD50 yaitu
- 1. metode grafik Lithfield & Wilcoxon (1949),
- 2. metode kertas grafik probit logaritma Miller dan Tainter (1944), dan
- 3. metode rata – rata bergerak Thompson-Weil (1952) yang didasarkan pada kekerabatan antara peringkat dosis dan % hewan yang menunjukkan respon
- 4. Farmakope Indonesia edisi III

Metode Grafik



Cara Probit

- Syarat:
 1. Mempunyai tabel probit
 2. Menentukan nilai probit dari % kematian tiap kelompok uji
 3. Menentukan log dosis tiap tiap kelompok
 4. Menentukan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log dosis
 5. Masukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian hewan coba) pada persamaan garis lurus pada nilai Y. Nilai LD50 atau LC50 dihitung dari nilai antilog X pada saat $Y=5$

CARA FARMAKOPE INDONESIA III

1. Menggunakan seri dosis atau konsentrasi yang berkelipatan tetap
2. Jumlah hewan percobaan tiap kelompok harus sama
3. Dosis harus diatur sedemikian rupa supaya memberikan efek dari 0-100% dan hitungan dibatasi di rentang tersebut

Rumus perhitungan LD50 adalah

$$m = a - b (\sum p_i - 0,5)$$

$$m = \log \text{LD50}$$

a = logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b = beda log dosis yang berurutan

p_i = jumlah yang mati menerima dosis i dibagi jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i

Contoh Perhitungan LD₅₀ menurut Farmakope Indonesia III

Siapkan fenol dengan berbagai konsentrasi di dalam beaker glass.
Siapkan anak ikan 10 ekor, masukkan kedalam masing-masing beaker glass, dan mulai hitung waktunya
Lakukan pengamatan selama 1,5-2 jam
Hitung berapa jumlah ikan yang mati dan jumlah ikan yang hidup
Tabelkan dan hitung LD₅₀ nya

Dosis	Jumlah Hewan Perkelompok	Jumlah Hewan		Pi
		Mati	Hidup	
0.04 %	10	10	0	1
0.02 %	10	10	0	1
0.01 %	10	10	0	1
0.005 %	10	10	0	1
0.0025%	10	10	0	1
0.00125%	10	0	10	0
Kontrol	10	0	10	0
				$\Sigma P_i = 1$

Perhitungan LD₅₀ berdasarkan Farmakope Indonesia III

1.) Log dosis terendah yang menyebabkan kematian 100% tiap kelompok (a) = 0.0025% , Log 0.0025 = -2.602

2.) Beda log dosis yang berurutan (b) = log 0.04 - log 0.02 = 0.301

3.) Jumlah hewan yang mati yang menerima dosis sebanyak i dibagi jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i

$$(\sum P_i) = \sum P_i = (1 + 0) = 1$$

$$m = a - b (\sum P_i - 0.5)$$

$$\text{Log LD}_{50} = -2.602 - 0.301 (1 - 0.5)$$

$$= -2.602 - 0.301 (0.5)$$

$$= -2.602 - 0.150$$

$$= -2.752$$

Antilog -2.752

$$\text{LD}_{50} = 0.001770 \%$$

Contoh lain

Dosis	Jumlah hewan seluruhnya	Jumlah hewan yang mati	Jumlah hewan yang hidup	Pi
500 mg/kgBB	10	10	0	1
250 mg/kgBB	10	8	2	0.8
125 mg/kgBB	10	5	5	0.5
62,5 mg/kgBB	10	2	8	0.2
31,25 mg/kgBB	10	0	10	0
				$\Sigma P_i = 2.5$

Hitung nilai LD_{50} sesuai Farmakope Indonesia III

$$m = a - b (\sum P_i - 0,5)$$

$$\log LD_{50} = \log 500 - (\log 500 - \log 250) (2,5 - 0,5)$$

$$= 2,699 - (0,301) (2)$$

$$\log LD_{50} = 2,699 - 0,602$$

$$\log LD_{50} = 2,097$$

$$LD_{50} = \text{Antilog } 2,097$$

$$= 125,026 \text{ mg/kgBB}$$

Contoh lain

dosis	Jumlah hewan per kelompok	Jumlah hewan yang mati	Jumlah hewan yang hidup	
500 mg/kgBB	10	10	0	1
250 mg/kgBB	10	10	0	1
125 mg/kgBB	10	8	2	0.8
62,5 mg/kgBB	10	2	8	0.2
31,25 mg/kgBB	10	0	10	0
				$\Sigma P_i = 2$

Hitung nilai LD_{50} sesuai Farmakope Indonesia III

$$m = a - b (\sum P_i - 0,5)$$

$$\log LD_{50} = \log 250 - (\log 500 - \log 250) (2 - 0,5)$$

$$= 2,398 - (0,301) (1,5)$$

$$\log LD_{50} = 2,398 - 0,452$$

$$\log LD_{50} = 1,946$$

$$LD_{50} = \text{Antilog } 1,946$$

$$= 88,308 \text{ mg/kgBB}$$

CARA WEIL

- $\text{Log } m = \log D + d(f+1)$
- Keterangan
- m: nilai LD50
- D: dosis terkecil yang digunakan
- d: log dari kelipatan dosis
- f: suatu nilai dalam tabel weil, karena angka kematian tertentu (r)



Hitung LD₅₀ dari data di samping jika setiap kelompok terdiri dari 5 mencit .

Kel	Dosis mg/kg	Log dosis	Kematian	% kematian
1	10	1	0	0
2	20	1,301	1	20
3	40	1,602	3	60
4	80	1,903	5	100

Cara weil

lihat tabel weil N=4, jumlah hewan 5/kelompok

$$\log m = \log D + d(f+1)$$

$$\log m = \log 10 + 2 (0,7+1)$$

$$= 1 + \log 2 (1,7)$$

$$= 1 + 0,301 \times 1,7 = 1,5117$$

$$m = \text{antilog } 1,5117 = 32,486 \text{ mg/kg}$$

jadi LD₅₀=32,486 mg/kg

Pada Kurva hubungan dosis-respon

- Bentuk bagian awal kurva lebih relevan dikaji daripada bentuk kurva keseluruhan
- Hal ini berkaitan dengan ambang pemejanan racun, yakni takaran pemejanan dimana individu tidak menunjukkan respon atau efek toksik yang terukur/teramati

Batas aman ketoksikan racun yang lazim disebut kadar efek toksik tak teramati (KETT) atau "no observed effect level"

KETT merupakan takaran pemejanan tertinggi yang tidak menyebabkan timbulnya efek toksik atau kematian pada diri subjek uji, yakni titik potong kurva awal dengan absis (sumbu x)

Dari kasus pemejanan tunggal/akut
kekerabatan dosis-respon

Harga
 LD_{50}/TD_{50}

KETT

Tabel 1. Kriteria ketoksikan xenobiotika (Loomis, 1978)

	Kriteria	LD ₅₀ (mg/kg)
1.	Luar biasa toksik	Kurang dari 1 (< 1)
2.	Sangat toksik	1 – 50
3.	Cukup toksik	50 – 500
4.	Sedikit toksik	500 – 5000
5.	Praktis tidak toksik	5000 – 15000
6.	Relatif kurang berbahaya	> 15000

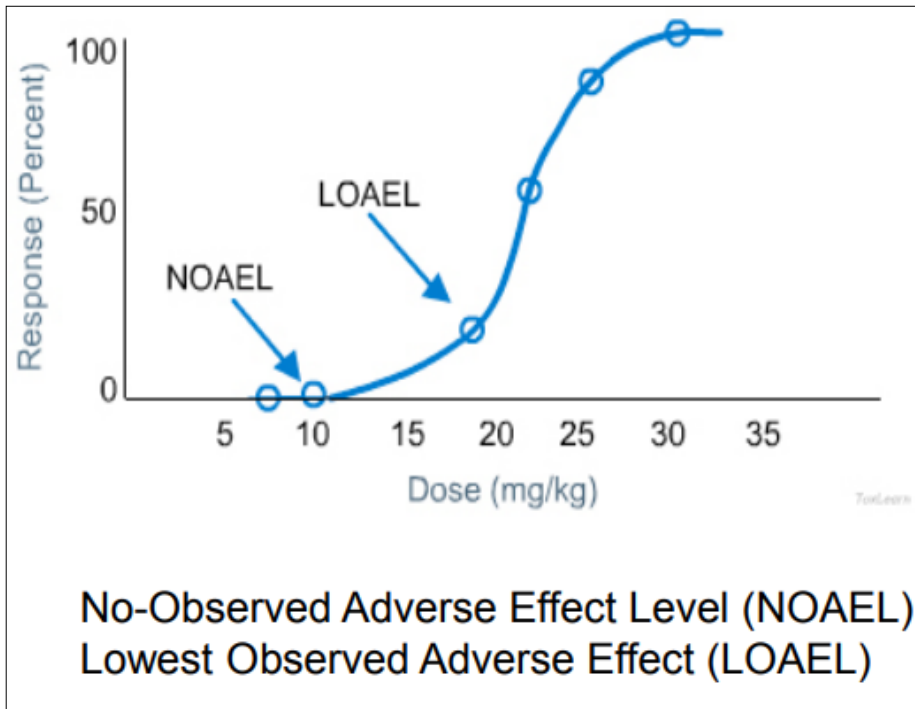
LD₅₀/TD₅₀
tidak
menggambarkan
batas
keamanan
racun

Batas keamanan racun digambarkan oleh KETT, artinya: Misalnya meskipun harga LD₅₀ racun A lebih besar daripada LD₅₀ racun B atau potensi ketoksikan akut racun A lebih rendah daripada racun B, tidak berarti racun A pasti lebih aman daripada racun B.

Batas aman suatu racun harus dilihat dari harga KETT nya

KETT/NOEL

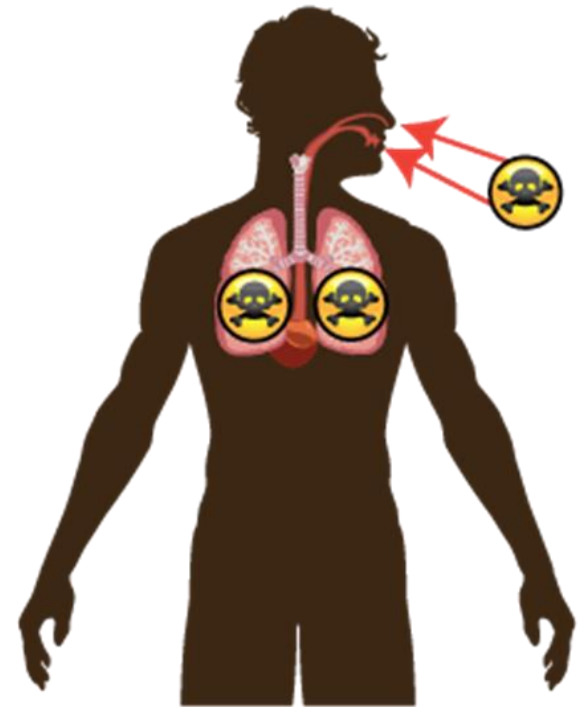
- Menggambarkan takaran pemejanaan tertinggi yang tidak menyebabkan timbulnya efek toksik atau kematian pada diri subjek uji
- Diperoleh dari uji ketoksikan sub kronis



The **NOEL (no observable effect level)** is the highest dose or exposure **level** of a substance or material that produces **no** noticeable (**observable**) toxic **effect** on tested animals

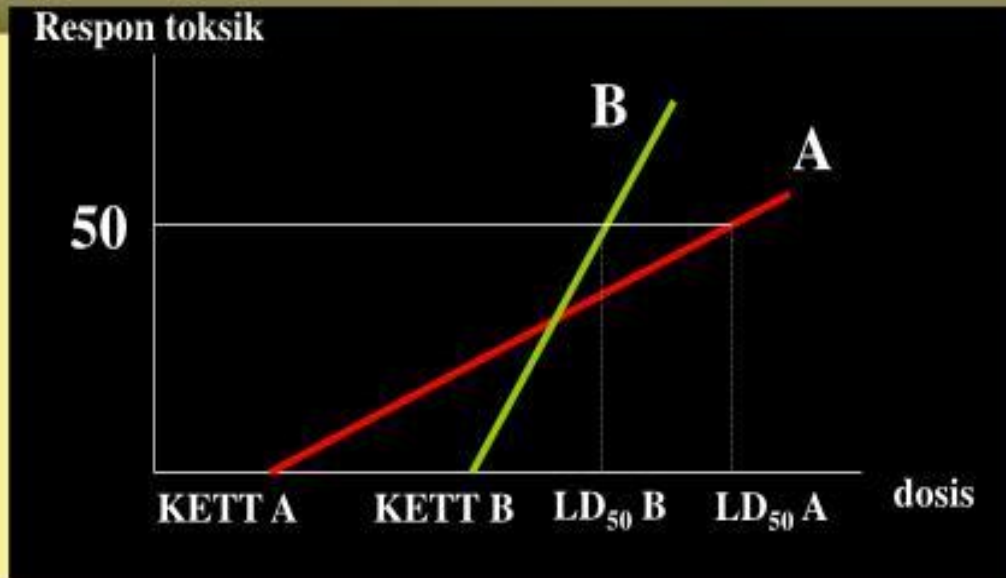
Kekerabatan waktu-respon

- ▶ MHDD (Masukan Harian yang Dapat Diterima) → ADI (*Acceptable Daily Intake*)
 - ▶ Merupakan takaran harian maksimum (mg/kgBB) racun pangan (zat tambahan makanan, senyawa pencemar, residu dsb) yg dapat diterima manusia pada pemejanaan jangka pendek
- ▶ MHMD (Masukan Harian Maksimum yang Diperbolehkan)
 - ▶ Merupakan kadar maksimum bahan pangan yang diperbolehkan



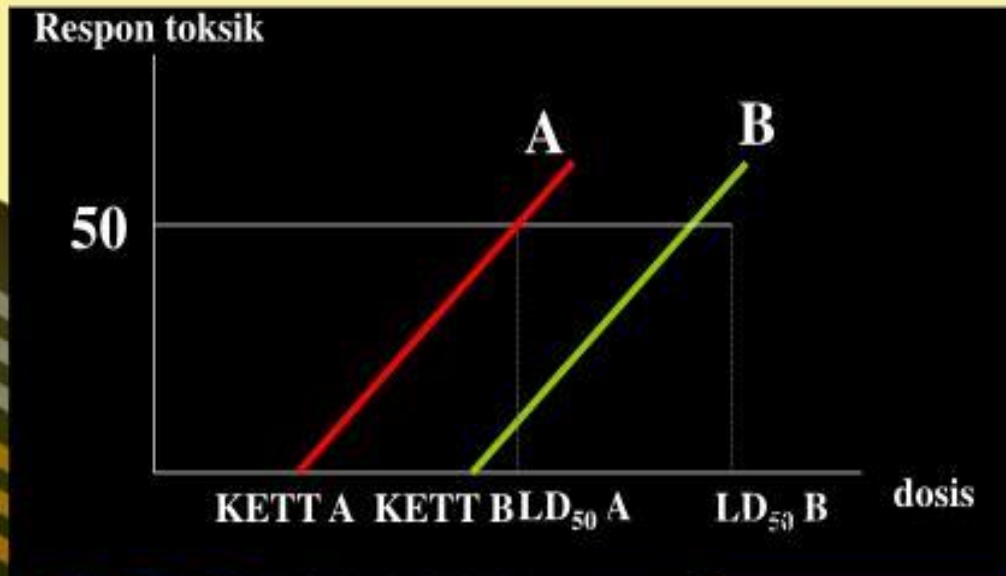
toxtutor.nlm.nih.gov

Hal ini dapat dilihat pada gambar berikut :



Batas aman racun B lebih besar dari pada racun A, meskipun ketoksikan akut B relatif lebih tinggi daripada A

Hal ini terjadi terutama bila kurva kekerabatan dosis-respon yang diperbandingkan tidak sejajar, misalnya mekanisme aksi atau wujud efek toksik racun A dan Berbeda



Tetapi bila kurva yang diperbandingkan sejajar (gambar disamping) mungkin perbedaan potensi ketoksikan akut berbading lurus dengan batas keamanan (KETT) racun

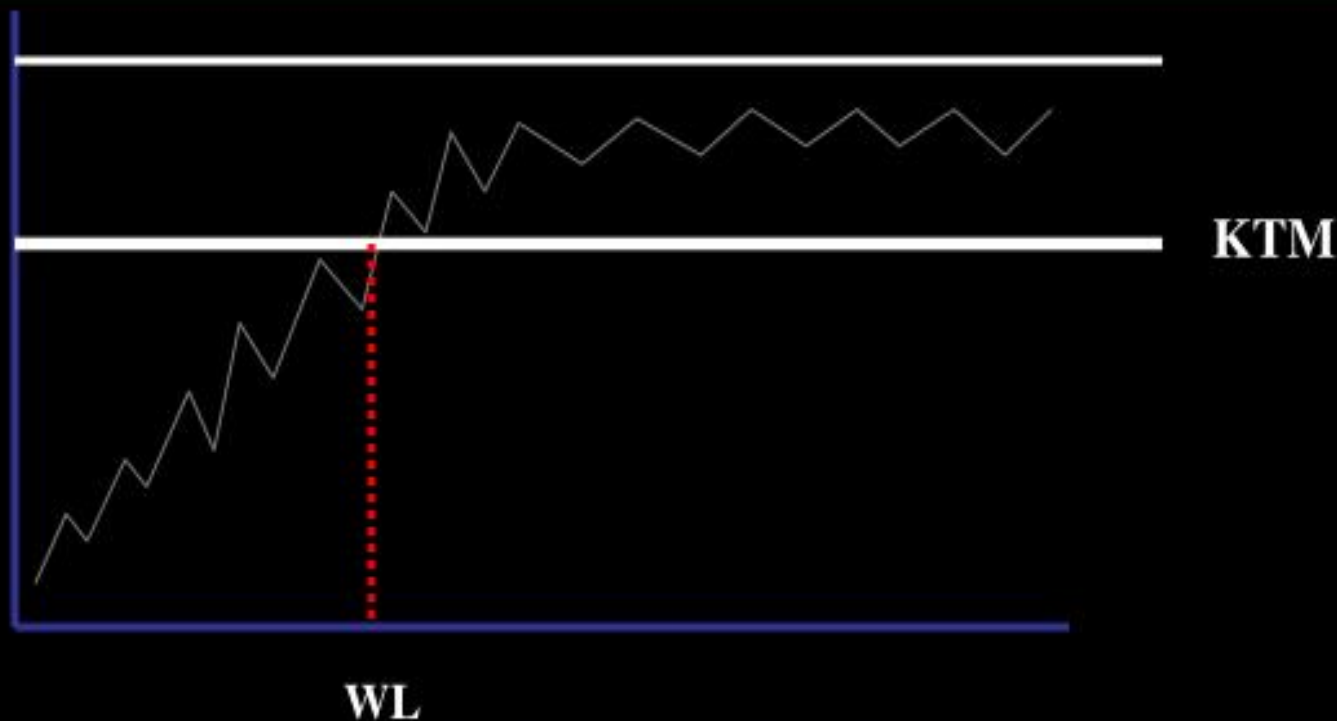
KEKERABATAN WAKTU-RESPON

Berguna untuk :

Evaluasi dan penilaian ketoksikan racun pada pemejanan sub kronis (10% masa hidup subjek uji) dan kronis (85% masa hidup subjek uji)

WAKTU LATEN (WL)

Adalah waktu yang dilewati sebelum efek toksik menjadi nyata



Sifat antaraksi racun pada pemejanan kronis

Terbalikkan

- Umumnya memiliki $t_{1/2}$ pendek
- Jarang terjadi kejenuhan translokasi racun
- Mencapai kadar konstan dalam darah (steady-state)/kadar tunak/Kkt
- Kinetika hubungan dosis-respon : orde 1 → WL tidak berbanding lurus dg dosis
- Pada umumnya $WL = 4 \times t_{1/2}$

Sekuestrasi Fisik

- Waktu paruh lebih panjang sehingga Kkt dan WL lebih panjang
- Contoh : $t_{1/2}$ DDT 1,8 tahun, jika pemejanan 1,8 tahun sekali, maka $WL = 4 \times 1,8 = 7,2$ tahun sehingga DDT akan berada dibawah KTM dalam waktu yang lama sehingga gejala toksik lambat terlihat

Tak Terbalikkan

- Waktu laten sebanding dengan dosis pemejanannya (mengikuti orde 0)
- Dengan dosis rendah efek toksis terlihat nyata
- Akibat pemejanan kronis akan terjadi penumpukan efek toksik
- contoh teratogenik

Masukan harian yang dapat diterima (MHDD)

- *Acceptable daily intake* (ADI)
- Tolok ukur ini dapat ditetapkan apabila KETT suatu racun telah ditetapkan

$$\text{MHDD (mg/kg BB manusia)} = \frac{\text{KETT (mg/kgBB hewan uji)}}{\text{faktor aman (biasanya 100)}}$$

Faktor aman

- Merupakan tetapan yang menggantikan berbagai faktor yang tidak diketahui dalam mengekstrapolasikan data hasil hewan uji ke manusia.
- Berbagai faktor tersebut adalah : kondisi fisiologis dan patologis hewan uji ke manusia, faktor perbedaan jumlah subjek yang terlibat dalam ekstrapolasi (dari jumlah hewan uji yang sedikit ke manusia dengan jumlah yang besar dan beragam)
- Faktor aman biasanya 100, tetapi tidak semua racun/obat memiliki faktor aman 100, bisa lebih kecil atau lebih besar

Contoh KETT senyawa

senyawa	KETT (tikus)	Faktor aman	MHDD (manusia)
Heksa klorobenzena (1969)	1,25 mg/kgBB/hari	2000	0,6 mcg
Dieldrin (1970)	0,025 mg/kgBB/hari	200	0,1 mcg
DDT	0,05 mg/kgBB/hari	10	5,0 mcg

Dari harga MHDD dapat dihitung MHMD (masukan harian maksimum yang diperbolehkan) yang dihitung dengan cara mengalikan MHDD dengan purata berat badan manusia (kg)

$$\text{MHMD (mg/hari)} = \text{MHDD (mg/kgBB manusia/hari)} \times \text{BB (kg)}$$

Contoh perhitungan MHMD

- KETT endosulfan (anjing) : 0,75 mg/kg/hari
- Faktor aman 100
- Rerata berat badan manusia 60 kg

$$\text{MHDD} = \frac{0,75 \text{ mg/kg/hari}}{100} = 0,0075 \text{ mg/kg/hari}$$

$$\begin{aligned} \text{MHMD} &= 0,0075 \text{ mg/kg/hari} \times 60 \text{ kg} \\ &= 0,45 \text{ mg/hari} \end{aligned}$$

LD₅₀ beberapa bahan kimia yang diberikan melalui cara yang berbeda pada mencit

Cara pemberian	LD ₅₀ (mg/kg BB) pada mencit dari		
	Prokain	DFP	fenobarbital
IV	45	0,34	80
IP	230	1,00	130
IM	630	0,85	124
SC	800	1,00	130
Oral	500	0,90	280

DFP= diisopropyfluorophospat

Manfaat mengetahui tolok ukur toksisitas

- Mengetahui gejala toksik
- Mengetahui penanganan gejala toksik
- Mengetahui waktu yang terbaik untuk mengatasi gejala keracunan
- Mengetahui kadar LD50 atau TD50 -
- Dapat digunakan untuk uji toksisitas suatu zat
- Dapat menjadi pertimbangan terapi penanganan ketoksikan
- Mendapatkan informasi klasifikasi zat beracun
- Mengetahui awal mula terjadinya efek toksik
- Memperkirakan waktu efek berakhir

Cara Untuk Mencegah atau Menekan Efek Toksik

1. Memperkecil absorpsi atau laju absorpsi sehingga konsentrasi plasma tetap dibawah kadar toksik
 - penggunaan absorben
 - pembilasan lambung
 - mempercepat pengosongan lambung-usus
2. Meningkatkan eliminasi zat toksik dan atau pembentukan suatu kompleks yang tidak aktif
 - perubahan pH urin
 - diuresis paksa
3. Memperkecil kepekaan obyek biologik terhadap efek
 - pemakaian antidot

Ringkasan

Tolok Ukur Ketoksikan Zat Beracun

Kualitatif

Mekanisme aksi
Wujud
Sifat
Gejala Klinis

Kuantitatif

Kekerabatan
1. Dosis- efek
2. Dosis- respons
3. Waktu- efek
4. Waktu respons

Penerapan dalam Terapi

Penerapan

```
graph TD; A[Penerapan] --> B[Toksikologi]; A --> C[Farmakologi]; B --> D(Slop); B --> E[KETT]; C --> F[Indeks Terapi];
```

Toksikologi

Slop

KETT

Farmakologi

Indeks Terapi

Penerapan



Penetapan



Potensi Ketoksikan

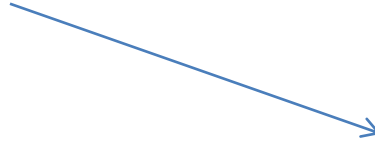


LD₅₀

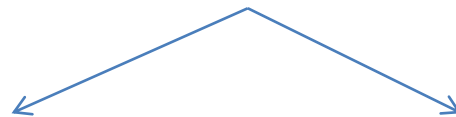
**Kisaran dosis
pemejanaan**



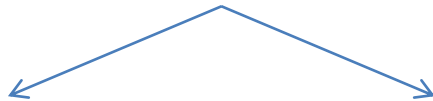
Slop Kurva



Batas Keamanan



Toksikologi



**Dosis
ambang
pemejanaan**



KETT

Farmakologi



**Indeks
Terapi
LD₅₀/ED₅₀**