

Uji Toksisitas Akut Bisa Ular Viper Hijau (*Trimeresurus albolabris*), Gambaran Makroskopis Ginjal Dan Hepar Mencit (*Mus musculus*)

Acute Toxicity Test Of The Green Viper Snake (*Trimeresurus albolabris*), Macroscopic Description Of The Kidney And Liver Of Mice (*Mus musculus*)

Moch. Rizky Darmawan¹, Dadik Rahardjo², Wiwiek Tyasningsih³, Rochmah Kurnijasanti⁴, Djoko Legowo⁵, Boedi Setiawan⁶

¹Mahasiswa, ²Divisi Kesehatan Masyarakat Veteriner, ³Divisi Mikrobiologi Veteriner, ⁴Divisi Kedokteran Dasar Veteriner, ⁵Divisi Patologi Veteriner, ⁶Divisi Klinik Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Corresponding author: darmawan.mr-2015@fkh.unair.ac.id

ABSTRACT

According to WHO (2010), the *Trimeresurus albolabris* snake is a venomous snake with a high number of bite cases in Indonesia. Information on the character and level of toxicity of snake venom in Indonesia, including *Trimeresurus spp.* snakes, is still minimal. This study aims to determine the LD50 value (lethal dose 50), clinical symptoms, and to determine the macroscopic appearance of the liver and kidneys of mice (*Mus musculus*) after being injected by a the white-lipped pit viper (*Trimeresurus albolabris*) venom. The LD50 value of *Trimeresurus albolabris* venom injected subcutaneously into mice was 5,09 mg/kgBW. Clinical symptoms that appear increased movement activity, increased respiratory rate, lethargy, decreased activity, and reduced grooming. Macroscopic appearance of the liver that looks abnormal is found (1) color changes in the form of pale, pale yellowish, and red spots (petechiae). (2) changes in surface structure found only one liver that is not flat. (3) changes in consistency in the form of brittle easily. In the kidney that looks abnormal, found (1) changes in color in the form of pale. (2) changes in surface structure were only found in one kidney in the form of nodules. (3) changes in consistency in the form of brittle easily and soft.

Keywords: Acute toxicity, Kidney, Liver, *Mus musculus*, Snake venom, *Trimeresurus albolabris*

Received: 02-09-2021

Revised: 03-10-2021

Accepted: 16-11-2021

PENDAHULUAN

Kasus keracunan dan luka gigitan ular berbisa (envenomation) merupakan salah satu masalah kesehatan di beberapa belahan dunia terutama di Sub-Sahara Afrika, Asia, Amerika Latin dan Papua New Guinea (Chu et al., 2010; Gutiérrez et al., 2010; Girish & Kemparaju, 2011).

Di Asia Tenggara, terjadi kasus gigitan ular berbisa berkisar sebesar 111.000 – 498.000 kasus per-tahun. Angka kematian (mortalitas) yang

disebabkan akibat gigitan ular di Asia Selatan dan Tenggara berkisar 790 – 19.000 kematian per-tahun (Sutantoyo, 2016). Indonesia belum memiliki data epidemiologi nasional untuk kasus tersebut. Berdasarkan hal ini, kasus akibat gigitan bisa ular di Indonesia masuka ke dalam kategori Neglected Tropical Disease atau kasus yang terabaikan (Adiwinata & Nelwan, 2015).

Menurut WHO (2010), terdapat dua kategori ular berbahaya di

Indonesia, yaitu Ular Penting Kategori I dan Kategori II. Ular Penting Kategori I merupakan kelompok ular dengan efek bisa tinggi yang hidup berdekatan dengan manusia, seperti di pemukiman, persawahan, perkebunan, dan lainnya. Sehingga menyebabkan ular dari kategori I menimbulkan konflik dengan manusia dengan jumlah yang cukup banyak. Ular Penting Kategori II adalah ular yang memiliki kadar bisa yang setara dengan ular pada kategori I tetapi memiliki preferensi habitat dan perilaku yang berbeda dari ular Kategori I sehingga konflik yang terjadi dengan manusia jumlahnya lebih rendah (Warrell, 2010).

Gigitan ular berbisa bertanggung jawab terhadap beberapa komplikasi patologis keracunan baik secara lokal atau sistemik (menyeluruh) pada korbannya (Kumar et al., 2010, Warrell, 2010). Keracunan atau luka yang disebabkan oleh gigitan ular berbisa ini dapat disembuhkan dan diobati dengan berbagai cara yaitu dengan memanfaatkan antivenom (antibisa) yang ada (Karim dkk., 2014), namun kenyataan saat ini, obat antibisa masih sangat terbatas di beberapa negara termasuk di Indonesia.

Negara Indonesia hanya mempunyai produksi satu serum anti bisa ular, yaitu polivalen yang hanya bisa digunakan untuk jenis ular kobra jawa (*Naja sputatrix*), ular tanah (*Calloselasma rhodostoma*), dan ular weling (*Bungarus fasciatus*). Sedangkan untuk jenis ular lainnya negara Indonesia harus mendatangkan serum anti bisa ular dari negara lain (WHO, 2016).

Salah satu ular dari famili Viperidae yang merupakan ular yang berbisa adalah ular viper hijau (*Trimeresurus albolabris*). Ular dari famili Viperidae ini memiliki jenis bisa hemotoxin yang banyak mengandung enzim prokoagulan (Adiwinata, 2015; Karim dkk., 2014). Menurut Alfi dkk., (2017), dilaporkan dua korban dari

gigitan ular famili Viperidae mengalami gangguan fungsi hepar dan kerusakan ginjal akut.

T. albolabris masuk dalam kategori I ular penting di Indonesia. Hal ini disebabkan karena konsentrasi bisa yang tinggi dan diimbangi dengan jumlah kasus gigitan ular yang tinggi (WHO, 2010). Gigitan bisa ular ini dapat menimbulkan efek lokal berupa rasa sakit, pembengkakan, pembesaran nodus limfa, ekimosis, blister, nekrosis lokal dan efek sistemik utama berupa perdarahan mukosa (Sarmin et al., 2013; Suen, 2017).

Berbagai komplikasi yang timbul akibat dari gigitan ular berbisa memerlukan sebuah terapi suportif dan simptomatik, untuk mendukung fungsi organ tersebut. Sementara menunggu pemulihan organ tersebut akibat bisa ular dapat melakukan identifikasi komplikasi yang terjadi dan tata laksana yang adekuat diperlukan untuk menurunkan angka morbiditas dan mortalitas pada kasus gigitan ular (Agus dan Panji, 2016).

Informasi dan penelitian mengenai karakter dan tingkat toksisitas bisa ular dari berbagai ular di Indonesia, termasuk golongan *Trimeresurus* spp masih minim. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya nilai LD50 (lethal dose 50) bisa ular viper hijau (*Trimeresurus albolabris*), untuk mengetahui kondisi gejala klinis pada mencit (*Mus musculus*) setelah diinjeksikan bisa ular viper hijau (*Trimeresurus albolabris*) secara subkutan, dan untuk mengetahui gambaran makroskopis hepar dan ginjal mencit (*Mus musculus*) setelah diinjeksikan bisa ular viper hijau (*Trimeresurus albolabris*) secara subkutan.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan

Agustus 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner, Ruang Nekropsi Patologi dan pemeliharaan hewan coba dilaksanakan di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penelitian ini menggunakan Hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan sebanyak 50 ekor, umur 2 bulan, jenis kelamin jantan dan memiliki berat badan rerata 25 gram. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara acak yang sebelumnya telah diberi perlakuan sama.

Berdasarkan penelitian Duan et al., (2016) LD 50 bisa ular *Trimeresurus albolabris* secara intraperitoneal (i.p) sebesar 3,3 mg/kgBB. Berdasarkan nilai LD50 (i.p) 3,3 mg/kgBB tersebut, penelitian ini mencoba menggunakan rentang lima dosis bertingkat sebanyak 1,5 kali yang termasuk dalam dosis 3,3 mg/kgBB. Kelima dosis bisa ular yang digunakan yaitu 1,5 mg/kgBB; 2,25 mg/kgBB; 3,375 mg/kgBB; 5,06 mg/kgBB; 7,5 mg/kgBB. Hewan Coba dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok P1 diberikan dosis bisa ular sebesar 1,5 mg/kgBB; Kelompok P2 sebesar 2,25 mg/kgBB; kelompok P3 sebesar 3,375 mg/kgBB; kelompok P4 sebesar 5,06 mg/kgBB; dan kelompok P5 sebesar 7,5 mg/kgBB.

Pembuatan sediaan larutan dibuat dengan dosis bisa ular (dengan 0,5 ml NaCl fisiologis/ per-ekor mencit). NaCl Fisiologis merupakan larutan pengencer yang dipakai dalam uji LD50 bisa ular (Meier, 1986). Terlebih dahulu dibuat sediaan larutan tabung A dengan cara melarutkan bisa ular dari dosis tertinggi (7,5 mg/kg) untuk tiap mencit dengan berat 25 gram dengan NaCl fisiologis, lalu tabung A di homogenkan menggunakan vortex selama satu menit. Lalu dari tabung A, dilakukan pengenceran menurun sebanyak 1,5 kali sampai didapatkan tabung E (dosis

1,5 mg/kg). perlakuan injeksi pada mencit dilakukan injeksi secara subkutan.

Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 24 jam setelah hewan coba di injeksikan bisa ular viper hijau (*T. albolabris*). Pengamatan dilakukan selama 30 menit setiap 6 jam sekali selama 24 jam dengan melihat gejala klinis yang muncul dari hewan coba. Perhitungan nilai LD50 ditentukan berdasarkan metode Aritmatik Reed dan Muench (1983).

Pada hewan coba yang mati dilakukan nekropsi untuk melihat kondisi hepar dan ginjal. Hewan coba yang masih hidup dalam 24 jam, selanjutnya ditunggu selama 7 hari. Apabila hewan coba masih hidup, dilakukan eutanasia dengan cara dislokasi servical.

Pengamatan makroskopis hati dan ginjal mencit meliputi warna, struktur permukaan dan konsistensi. Hati dan ginjal yang normal berwarna merah kecoklatan, permukaannya licin dan konsistensi kenyal (Rita, 2008).

Kriteria normal bila tidak ditemukan perubahan warna, perubahan struktur permukaan, dan perubahan konsistensi. Derajat kerusakan hati dan ginjal : 0 = Tidak terjadi perubahan; + = bila ditemukan 1 kriteria diatas; ++ = Bila ditemukan 2 kriteria diatas; +++ = Bila ditemukan 3 kriteria diatas.

ANALISIS DATA

Data kematian mencit yang diinjeksikan bisa ular viper hijau (*T. albolabris*) secara subkutan selanjutnya dihitung nilai LD50 dengan metode aritmatik Reed dan Muench (1983). Hasil penelitian dijelaskan secara deskriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data kematian toksisitas akut bisa ular *T. albolabris* dapat dilihat pada (Tabel 1.1)

Tabel.1.1. Jumlah kematian mencit dalam 24 jam setelah pemberian bisa ular *Trimeresurus albolabris*.

Kelompok Perlakuan	Dosis	Jumlah Mencit	Jumlah Kematian
1	1,5 mg/kgBB	10	0
2	2,25 mg/kgBB	10	4
3	3,375 mg/kgBB	10	4
4	5,06 mg/kgBB	10	5
5	7,5 mg/kgBB	10	10

Dari uji toksisitas akut pada mencit yang diinjeksi bisa ular *T albolabris* yang telah dihitung berdasarkan metode perhitungan aritmatik Reed dan Muench (1983) diperoleh hasil sebagai berikut, dosis bisa ular *T. albolabris* yang menyebabkan kematian kelompok mencit dibawah 50% diketahui sebesar 3,375 mg/kgBB. Jarak proporsional yang diperoleh dengan menghitung 50% kematian dikurangi dengan persentase terdekat dibawahnya yang lebih rendah, dibagi dengan persentase tertinggi dikurangi persentase yang lebih rendah diperoleh nilai 0,26. Penambahan dosis dihitung berdasarkan dosis terbesar dibagi dosis terkecil didapatkan hasil .

Berdasarkan data diatas, dihitung besar LD50 dengan rumus Anti Log (log dosis dibawah 50% kematian + jarak proporsional × logaritma penambahan dosis diperoleh LD50 bisa ular viper hijau sebesar 5,09 mg/kgBB.

Hasil nilai LD50 bisa ular *T. albolabris* termasuk dalam kategori sangat toksik, berdasarkan Bbhan toksik yang menyebabkan kematian 50% pada mencit dengan dosis 1 sampai 50 mg/kgBB termasuk kedalam kategori sangat toksik (Loomis, 1987).

Kematian pada mencit dapat terjadi akibat kelainan koagulasi dan perdarahan akibat racun pada bisa ular viper hijau (*Trimeresurus albolabris*). Kelainan ini terjadi akibat enzim prokoagulan protease serin dan enzim prokoagulan lain yang memiliki struktur seperti trombin yang mengaktifasi faktor X, protrombin dan faktor pembekuan lain. Enzim ini

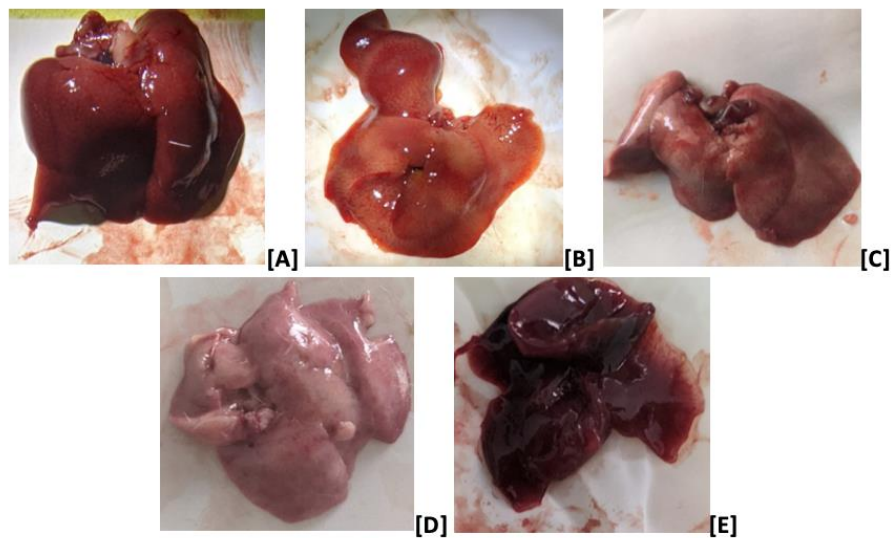
menstimulasi pembekuan darah dengan pembentukan fibrin pada aliran darah. Secara paradoks, proses ini berujung pada ketidakmampuan darah berkoagulasi karena banyak fibrin yang dihasilkan langsung diurai oleh sistem plasmin fibrinolitik tubuh, setelah itu, kadar faktor pembekuan sangat menurun menyebabkan darah tidak akan membeku (konsumsi koagulopati) (WHO, 2016).

Bisa ular *T. albolabris* dapat menyebabkan pembengkakan lokal, nekrosis, koagulopati berkepanjangan, defibrinasi (konsumsi fibrinogen), trombositopenia (jumlah trombosit darah rendah), leukositosis (jumlah sel darah putih yang sangat tinggi), dan perdarahan sistemik spontan pada korban gigitan (Bourke *et al.*, 2020).

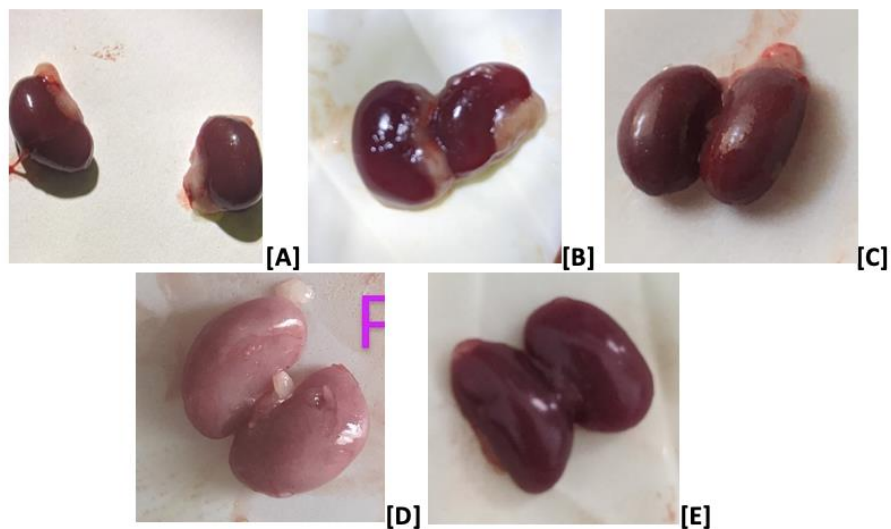
Gejala klinis yang terjadi pada mencit antara lain: peningkatan aktivitas gerak, laju nafas meningkat, letargi (kelesuan), penurunan aktivitas, dan penurunan *grooming*. Gejala klinis mencit yang mengalami peningkatan aktivitas gerak, laju nafas meningkat dapat terjadi karena efek lokal dari gigitan ular berbisa berupa nyeri lokal. Menurut Setiati dkk., (2014), gigitan dari famili Viperidae dapat menimbulkan efek lokal dalam kurun waktu 15 menit setelah gigitan yang menimbulkan rasa sakit pada daerah dekat gigitan.

Laju pernafasan meningkat pada mencit bisa terjadi akibat efek bisa ular Viperidae dapat mengakibatkan edema paru disertai dengan tekanan darah menurun kemudian denyut nadi meningkat (Setiati dkk., 2014). Gejala

klinis mencit tampak letargi (kelesuan)
dan penurunan aktivitas dapat terjadi
karena mencit dalam fase sistemik



Gambar.1.1. Gambaran hepar mencit secara makroskopis. **A:** kelompok P1 berwarna sebagian pucat, licin, dan kenyal. **B :** kelompok P2 berwarna sebagian pucat kekuningan, licin dan kenyal. **C:** kelompok P3 berwarna pucat + bintik merah, licin, dan mudah rapuh. **D:** kelompok P4: berwarna pucat, licin, kenyal. **E:** kelompok P5 berwarna merah kecoklatan, licin, mudah rapuh.



Gambar 1.2. Gambaran ginjal mencit secara makroskopis. **A:** kelompok P1 berwarna merah kecoklatan, licin, dan kenyal. **B:** kelompok P2 berwarna merah kecoklatan, licin dan kenyal. **C:** kelompok P3 berwarna merah kecoklatan, licin, dan kenyal. **D:** kelompok P4 berwarna pucat, licin, dan kenyal. **E:** kelompok P5 berwarna merah kecoklatan, licin, dan kenyal.

envenomation. Tanda fase sistemik menurut WHO (2016) ialah cemas, *nausea*, *vomiting*, *malaise*, nyeri abdomen, *weakness*, *drowsiness*, dan *prostration*.

Kondisi penurunan aktivitas dan penurunan *grooming* pada mencit dapat terjadi akibat mencit masih mengalami rasa sakit. Menurut Kohn *et al.*, (2007) penampilan gejala rasa sakit pada mencit yaitu penurunan tingkat aktivitas spontan dan penurunan *grooming*.

Penampakan warna hepar yang abnormal terlihat berwarna pucat sebagian, pucat keseluruhan, pucat kekuningan, dan bintik-bintik merah (*ptechiae*). Penampakan struktur permukaan hepar yang abnormal ditemukan satu organ yang tidak rata. Penampakan konsistensi ditemukan terasa mudah rapuh ketika ditekan, sedangkan pada hepar normal apabila ditekan akan kembali ke bentuk semula. Penampakan warna ginjal yang abnormal terlihat berwarna pucat. Penampakan struktur permukaan ginjal yang abnormal ditemukan terdapat satu organ yang tampak bernodul. Penampakan konsistensi ditemukan terasa berupa terasa lunak (kekenyalan berkurang) dan mudah rapuh. Hepar dan ginjal mencit yang tampak mengalami kerusakan yang dilihat secara makroskopis bisa terjadi karena bisa ular *Trimeresurus albolabris* dapat menyebabkan gangguan fungsi hepar dan kerusakan ginjal akut (Alfi dkk., 2017).

KESIMPULAN

Nilai LD50 yang dihitung dengan metode Aritmatik Reed & Muench (1983) bisa ular *Trimeresurus albolabris* yang diinjeksi secara subkutan terhadap mencit adalah 5,09 mg/kgBB. Gejala klinis yang tampak pada mencit setelah diinjeksi bisa ular *Trimeresurus albolabris* secara subkutan antara lain peningkatan aktivitas gerak, laju nafas

meningkat, letargi (kelesuan), penurunan aktivitas, dan penurunan *grooming*. Gambaran makroskopis hepar dan ginjal mencit setelah diinjeksi bisa ular *Trimeresurus albolabris*. Pada hepar yang tampak abnormal ditemukan (1) perubahan warna berupa terdapat pucat, pucat kekuningan, dan bitnik-bintik merah (*petechiae*). (2) perubahan struktur permukaan hanya ditemukan satu hepar yang tidak rata. (3) perubahan konsistensi berupa mudah rapuh. Pada ginjal yang tampak abnormal, ditemukan (1) perubahan warna berupa pucat. (2) perubahan struktur permukaan hanya ditemukan pada satu ginjal berupa nodul. (3) perubahan konsistensi berupa mudah rapuh dan lunak.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwinata, R., dan Nelwan, E. J. 2015. Snake Bite in Indonesia. *Acta Medica Indonesiana - The Indonesian Journal of Internal Medicine*, 47(April), 358–365.
- Agus, I. P., dan Panji, S. 2016. Tatalaksana gigitan ular yang disertai sindrom Kompartemen di ruang terapi Intensif. 51, 188–193.
- Alfi, R. M., L. M. M. V. Silalahi., S. Sutarni., dan C. T. Srie. 2017. *Viperidae Snake Bite*: Kasus Serial. *Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana*, 2(2), 361-374.
- Bourke, L. A., N. J. Youngman., C. N. Zdenek., B. op den Brouw., A. Violette., R. Fourmy., B. G. Fry. 2020. *Trimeresurus albolabris* Snakebite Treatment Implications Arising From Ontogenetic Venom Comparisons of Anticoagulant Function, and Antivenom Efficacy. *Toxicology Letters* 327 (2020) 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2020.03.009>
- Chu, E.R., S.A. Weinstein., J. White., and D.A. Warrell. 2010. Venom ophthalmia caused by venoms of spitting elapid and other snakes:

- Report of ten cases with review of epidemiology, clinical features, pathophysiology and management. *Toxicon*. 56(3): 259-72.
- Girish, K.S. and K. Kemparaju. 2011. Overlooked issues of snakebite management: time for strategic approach. *Curr. Top. Med. Chem.* 11(20): 2494-2508.
- Gutiérrez, J.M., D. Williams., H.W. Fan., and D.A. Warrell. 2010. Snakebite envenoming from a global perspective: Towards an integrated approach. *Toxicon*. 56(7): 1223-1235.
- Karim, A. K, E Indrayani, dan L Hanum. 2014. Patofisiologi Bisa Ular dan Aplikasi Terapi Tumbuhan Obat Antiofidia (Antibisa). *Jurnal Biologi Papua*, 6(1), 80-90.
- Kohn, D. F., T. E. Martin., P. L. Foley., T. H. Morris., M. M. Swindle., G. A. Vogler, and S. K. Wixson. 2007. Guidelines for the Assessment and Management of Pain in Rodents and Rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 46(2): 97-108.
- Kumar, B.K., S.S. Nanda., P. Venkateshwarlu., Y.K. Kumar., and R.T. Jadhav. 2010. Antisnake venom serum (ASVS). *Inter. J. Pharmaceut. Biomed. Res. (IJPBR)*. 1(3): 76-89.
- Loomis T.A, 1987. *Essential Toxicology* 3rd. Lea & Febiger: Philadelphia.
- Meier, J and R. D. G. Theaicston. 1986. Approximate LD50 Determinations of Snake Venoms Using Eight to Ten Experimental Animals. *Toxicon*, vol. 24, no. 4, pp. 395-401, 1986.
- Rita, D. A. 2008. *Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara.
- Sarmin, S., M. R. Amin, H. Al-Mamun., R. Rahman., M. A. Faiz. 2013. Clinical Aspects of Green Pit Viper Bites in Bangladesh: A Study on 40 Patients. *Asia Pacific Journal of Medical Toxicology*.
- Setiati, S., A. Idrus., dan W. S. Aru. 2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam (Edisi VI)*. Jakarta Pusat: Intrna Publishing.
- Suen, P. Y. 2017. Bamboo Snake (*Trimeresurus albolabris*) Bite in Hong Kong and its Prognostic Factors For Local Complications With Surgical Intervention, Coagulopathy and Thrombocytopenia. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*. Vol. 24(2) 79 – 84.
- Sutantoyo, G. 2016. Antikolinesterase untuk Gigitan Ular dengan Bisa Neurotoksik. *Antikolinesterase Untuk Gigitan Ular Dengan Bisa Neurotoksik*, 43(1), 14 – 18.
- Warrell, D. A. 2010. *Guidelines for the Management of Snake-Bites*. World Health Organization. New Delhi.
- WHO. 2010. *WHO guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom*.
- WHO. 2016. *WHO Guidelines for the management of snake-bites*, 2nd edition
