

Analisis nikotin dalam beberapa organ mencit jantan yang telah menghirup asap rokok

Analysis of nicotine in various organs of male mice after inhalation of cigarette smoke

Irda Fidrianny, IGNIA Supradja dan Andreanus A Soemardji

Departemen Farmasi, Institut Teknologi Bandung

Abstrak

Nikotin merupakan salah satu unsur berbahaya dalam asap rokok, oleh karena itu kadarnya dalam organ perlu ditetapkan. Telah dilakukan analisis kromatografi lapis tipis kualitatif dan kuantitatif nikotin dalam beberapa organ mencit jantan yang telah menghirup asap rokok. Nikotin diekstraksi dengan kloroform dalam suasana basa amonia dan ditentukan kadarnya dengan spektrofotodensitometri. Kadar nikotin dalam paru-paru mencit jantan yang telah menghirup asap rokok lebih tinggi dari pada dalam ginjal dan hati.

Kata kunci: nikotin, paru-paru, ginjal, hati, mencit jantan

Abstrak

Nicotine is one of dangerous components in cigarette smoke, therefore concentration of nicotine in organ quantitative in organs must be determined. Qualitative and quantitative thin layer chromatographic analysis of nicotine in various organs of male mice after inhalation of cigarette smoke has been carried out. Nicotine was extracted with chloroform in ammoniacal medium and determined by spectrophotodensitometry. The nicotine content in lung is higher than kidney and liver.

Key words: nicotine, lung, kidney, liver, male mice

Pendahuluan

Merokok merupakan salah satu hal yang sering dilakukan oleh sebagian orang baik pada waktu senggang ataupun pada waktu melaksanakan pekerjaan. Orang yang merokok disebut perokok aktif, sedangkan orang berada dekat dengan orang yang merokok disebut perokok pasif. Bahan utama dalam pembuatan rokok adalah daun kering tembakau (*Nicotiana tabacum*), yang merupakan sumber utama nikotin (Reynold, 1993).

Nikotin merupakan salah satu dari alkaloid yang sudah lama diketahui (Stedman, 1968). Nikotin dalam asap rokok dengan cepat diabsorpsi dari paru-paru ke dalam darah dan hampir sama efisiensinya apabila diberikan secara intravena. Senyawa ini mencapai otak dalam waktu 8 detik setelah inshalasi. Nikotin dalam jangka waktu lama akan terakumulasi dalam pembuluh darah dan mengakibatkan terjadinya penyempitan dinding pembuluh

darah (Gilman, *et al.*, 1991). Nikotin dalam asap rokok tidak hanya masuk ke dalam tubuh perokok aktif tapi juga akan masuk ke dalam tubuh perokok pasif.

Penelitian ini bertujuan menentukan kadar nikotin dalam beberapa organ mencit jantan yang telah menghirup asap rokok, yang merupakan simulasi perokok pasif.

Metodologi

Bahan

Pelarut dan alat yang digunakan untuk analisis kualitatif adalah rokok putih "I" (rokok uji), nikotin baku, mencit jantan Swiss-Webster 19-24 g, alat simulasi perokok aktif, amonia, kloroform, bismut subnitrat, kalium iodida, metanol, silika gel G 60 F, alat pembuat kromatografi lapis tipis (Spreader), alat pengujian putar vakum (Rotavapor RE-111), lempeng lapis tipis siap pakai silika gel GF 254 bejana kromatografi, mikropipet (Socorex 5 – 50 µl), lampu ultraviolet, spektrofotometer ultraviolet – sinar tampak (Shimadzu UV-VIS Recording

Spektrofotometer UV-160), Spektrofotometer inframerah (Beckman IR-33). Alat yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah Spektrofotodensitometer (Shimadzu Dual Wavelength TLC Scanner CS-910).

Pengambilan Paru-paru, Ginjal dan Hati Mencit

Satu batang rokok uji dibakar dengan menggunakan alat simulasi perokok aktif selama 7 ± 1 menit per rokok. Asap yang terbentuk dihembuskan ke dalam suatu ruangan dengan volume 1130 cm^3 yang berisi 2 ekor mencit yang sudah ditimbang. Mencit dibiarkan dalam ruangan tersebut selama 10 menit. Selanjutnya mencit ditempatkan di ruangan terbuka selama 10 menit. Setelah itu mencit dikorbankan dan diambil paru-paru, ginjal dan hatinya. Masing-masing organ ditimbang kemudian dibandingkan terhadap bobot badan masing-masing. Untuk kontrol dilakukan dengan prosedur yang sama seperti di atas tetapi tanpa rokok.

Ekstraksi Nikotin dari Paru-paru, Ginjal dan Hati Mencit

Dua paru-paru, ginjal dan hati masing-masing dihomogenisasi dengan 1 mL air. Lalu dibasakan dengan 0,5 mL amonia, diekstraksi dengan 5 mL kloroform dan ekstrak kloroform yang diperoleh dipekatan hingga 1 mL (Chamberlain, 1985; Reynolds, 1993,).

Analisis Kualitatif Nikotin

a. Analisis kualitatif nikotin secara kromatografi lapis tipis

Analisis kualitatif nikotin dalam paru-paru, ginjal dan hati dilakukan secara kromatografi lapis tipis dengan membandingkan harga R_f antara bercak sampel dan bercak nikotin baku, dengan menggunakan fase diam silika gel G 60, pengembang metanol-amonia (200:3) dan penampak bercak Dragendorff (Gritter, 1991; Stahl, 1985).

b. Analisis kualitatif nikotin secara spektrofotometri ultraviolet

Bercak hasil kromatogram sampel dan nikotin baku, masing-masing dikerok dan dilarutkan dalam etanol. Dibuat spektrum serapan ultraviolet sampel dan nikotin baku. Kemudian dibandingkan panjang gelombang maksimum antara sampel dan nikotin baku (Fidrianny, dkk., 2004; Moffat, 1986).

Analisis Kuantitatif Nikotin

a. Penentuan perolehan kembali nikotin secara spektrofotodensitometri

Dibuat larutan nikotin baku $1 \mu\text{L}/\text{mL}$. Dua paru-paru, ginjal dan hati mencit kontrol masing-

masing dihomogenisasi dengan air, lalu ditambahkan 5 μL larutan nikotin baku. Dibasakan dengan 0,5 mL amonia lalu diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Ekstrak kloroform yang diperoleh masing-masing ditotolkan 10 μL pada pelat kromatografi dan dielusi dengan pengembang metanol-amonia (200:3). Kadar perolehan kembali nikotin dapat dihitung dengan bantuan persamaan regresi kurva kalibrasi.

b. Penentuan Kadar Nikotin dalam Paru-paru, Ginjal dan Hati Mencit

Sejumlah tertentu ekstrak yang diperoleh dari 2,3 masing-masing ditotolkan hingga sebanyak 1 mL pada kromatografi lapis tipis, lalu dielusi dengan pengembang metanol-amonia (200:3). Diukur dengan spektrofotodensitometri pada panjang gelombang maksimum nikotin 265 nm. Kadar nikotin dalam organ mencit dapat dihitung dengan bantuan persamaan regresi kurva kalibrasi.

Hasil dan Pembahasan

Dalam penelitian ini simulasi perokok pasif dilakukan dengan menggunakan dua ekor mencit yang ditaruh dalam suatu ruangan dengan volume 1130 cm^3 . Kemudian ke dalam ruangan tersebut dihembuskan asap rokok yang berasal dari satu batang rokok uji yang dibakar dengan alat simulasi perokok aktif. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kadar nikotin dalam asap rokok uji adalah sebesar $1,21 \pm 0,02 \text{ mg/batang rokok}$ (Fidrianny, dkk., 2004). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat dinyatakan bahwa densitas nikotin dalam ruangan tersebut adalah $\pm 1,21 \text{ mg}/1130 \text{ cm}^3$ atau $\pm 1,08 \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Dengan demikian penelitian ini dapat memberi gambaran tentang pengaruh asap rokok yang berasal dari perokok aktif terhadap lingkungan.

Distribusi nikotin terutama dalam hati, paru-paru dan ginjal (Gilman, *et al.*, 1991). Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif nikotin dalam organ – organ tersebut pada mencit yang telah menghirup asap rokok.

Hasil uji kualitatif nikotin dalam paru-paru, ginjal dan hati mencit secara kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel G 60, pengembang metanol-amonia (200:3) dan penampak bercak Dragendorff, menunjukkan bahwa salah satu bercak sampel mempunyai harga R_f yang sama dengan bercak nikotin

baku. Kemudian dilakukan kromatografi lapis tipis preparatif, pita yang mempunyai harga Rf yang sama dengan nikotin baku dikerok dan dilarutkan dalam etanol. Hasil menunjukkan bahwa spektrum ultraviolet sampel mempunyai panjang gelombang maksimum yang sama dengan nikotin baku. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa dalam paru-paru, ginjal dan hati mencit terdapat nikotin.

Dari hasil penelitian sebelumnya (Fidrianny, *et al.*, 2004), diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = 9,065 + 1,79 x$, dengan koefisien korelasi $r = 0,99$. Hasil perolehan kembali nikotin dalam paru-paru, ginjal dan hati mencit secara spektrofotodensitometri adalah: $91,07 \pm 0,08\%$, $90,78 \pm 0,09\%$ dan $90,18 \pm 0,05\%$ (Tabel I). Hal ini menunjukkan bahwa prosedur yang digunakan memberikan hasil perolehan kembali yang baik.

Tabel I. Hasil perolehan kembali nikotin dalam paru-paru, ginjal dan hati mencit secara Spektrofotodensitometri

Organ	Kadar rata-rata yang diperoleh kembali (%)
Paru-paru	$91,07 \pm 0,08$
Ginjal	$90,78 \pm 0,09$
Hati	$90,18 \pm 0,05$

Tabel II. Hasil penentuan kadar nikotin dalam paru-paru mencit secara Spektrofotodensitometri

Sampel	Kadar nikotin ($\mu\text{g/g}$ organ)	Rata-rata ($\mu\text{g/g}$ organ)
P1	19,55	$20,79 \pm 1,52$
P2	20,32	
P3	19,04	
P4	23,16	
P5	21,85	
P6	20,80	

Keterangan:

Pengambilan organ dilakukan 10 menit setelah 2 ekor mencit (dalam ruangan 1130 cm^3) menghirup asap dari 1 batang rokok uji

Tabel III. Hasil penentuan kadar nikotin dalam hati mencit secara Spektrofotodensitometri

Sampel	Kadar nikotin ($\mu\text{g/g}$ organ)	Rata-rata ($\mu\text{g/g}$ organ)
H1	3,84	$3,53 \pm 0,26$
H2	3,84	
H3	3,37	
H4	3,28	
H5	3,53	
H6	3,30	

Keterangan:

Pengambilan organ dilakukan 10 menit setelah 2 ekor mencit (dalam ruangan 1130 cm^3) menghirup asap dari 1 batang rokok uji

Tabel IV. Hasil penentuan kadar nikotin dalam ginjal mencit secara spektrofotodensitometri

Sampel	Kadar nikotin ($\mu\text{g/g}$ organ)	Rata-rata ($\mu\text{g/g}$ organ)
G1	0,99	$0,98 \pm 0,05$
G2	1,05	
G3	0,96	
G4	0,94	
G5	0,90	
G6	1,03	

Keterangan:

Pengambilan organ dilakukan 10 menit setelah 2 ekor mencit (dalam ruangan 1130 cm^3) menghirup asap dari 1 batang rokok uji

Kadar nikotin dalam paru-paru mencit yang telah menghirup asap rokok lebih besar daripada dalam hati mencit (Tabel II dan Tabel III). Hal ini disebabkan karena paru-paru merupakan organ utama dalam sistem respirasi dan pada saat inhalasi merupakan kontak pertama tubuh dengan asap rokok. Analisis nikotin dalam organ dilakukan 10 menit setelah menghirup asap dari 1 batang rokok. Di samping itu kemungkinan sebagian nikotin sudah termetabolisme di dalam hati, sehingga kadar nikotin dalam hati mencit lebih kecil dari

pada dalam paru-paru mencit. Nikotin dengan cepat dimetabolisme di hati (Gilman, *et al.*, 1991).

Kadar nikotin dalam ginjal mencit lebih kecil daripada dalam hati mencit (Tabel IV). Hal ini disebabkan karena dalam ginjal sebagian besar nikotin sudah mengalami metabolisme menjadi bentuk metabolitnya.

Kesimpulan

Kadar nikotin dalam paru-paru mencit 10 menit setelah menghirup asap 1 batang rokok lebih besar daripada dalam hati mencit. Sedangkan kadar nikotin dalam hati mencit lebih besar daripada dalam ginjalnya.

Mencit yang dalam penelitian ini dipakai sebagai simulasi perokok pasif dapat menggambarkan pengaruh yang terjadi pada perokok pasif manusia, atau pengaruh asap rokok yang berasal dari perokok aktif terhadap lingkungan.

Daftar Pustaka

- Chamberlain, J., (1985), *Analisis of Drug in Biological Fluids*, CRC Press, Inc., Boca Raton, 25-31, 75-81.
- Fidrianny, I., Supradja, I.G.N.A., dan Soemardji, A.S., (2004), Analisis nikotin dalam asap rokok dan filter rokok.
- Gilman, A.G., Hardman, J.G., and Limbird, L.E., (Eds.), (1991), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Vol.I, Pergamon Press, Singapore, 180-181, 545-549, 563.
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M., Schwarting, A.E., (1991), *Pengantar Kromatografi*, ed.2, terjemahan K. Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 107-155
- Moffat, A.C., (Ed.), (1986), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd ed., The Pharmaceutical Press, London, 807-808
- Reynolds, J.E.F. (Ed.), (1993), *Martindale: The Extra Phramacopoeia*, 30th ed., The Pharmaceutical Press, London, 1393-1394.
- Stahl, E., (1985), *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Makroskopii*, terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 3-10.
- Stedman, R.L., (1968), The Chemical Composition of Tobacco and Tobacco Smoke, *Chemical Reviews*, 68(2), 153-207.