

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Hasil dari evolusi industri global mengakibatkan terjadinya kontaminasi lingkungan karena adanya sumber polusi yang berasal dari aktivitas industri manusia. Salah satu cemaran yang mencemari lingkungan adalah logam berat. Selain itu, kegiatan pertambangan karena adanya pelapukan geologis menyebabkan peningkatan konsentrasi logam berat di lingkungan sekitar dan terjadinya polusi air. Logam berat tidak dapat terdegradasi, sehingga terjadi akumulasi pada sedimen air (Al-Kahtani *et al.*, 2009). Keberadaan komponen kimia seperti logam berat dapat meningkatkan kerusakan di area lingkungan yang berdampak pada kehidupan organisme di lingkungan tersebut, khususnya organisme akuatik. Keberadaan logam berat di lingkungan akuatik dapat berasal dari pembuangan air limbah kota ataupun limbah industri (Kolpin *et al.*, 2002). Bahan kimia industri seperti Bisphenol A (BPA) dan Nonylphenol (NP) diduga dapat mengganggu sistem endokrin pada hewan dengan beberapa penelitian membuktikan bahwa paparan senyawa tersebut dapat menyebabkan gangguan pada perkembangan reproduksi, terutama ikan (Xu W *et al.*, 2014).

Senyawa kimia yang paling sering ditemukan di air tawar adalah logam yang meliputi, Kadmium (Cd), Nikel (Ni), Kromium (Cr), Seng (Zn), Tembaga (Cu), Cobalt (Co) dan Timbal (Pb). Secara biologis, logam berat diklasifikasikan menjadi logam essential (Fe, Ni, Cu, dan Zn) yang berguna untuk sistem metabolisme ikan dan logam non essential (Pb, Hg, dan Cd) yang beracun dan tidak memiliki fungsi dalam sistem biologis. Hal tersebut dikarenakan, dapat menyebabkan kematian sel akibat hilangnya aktivitas enzim serta menyebabkan anemia pada mamalia dan ikan (Gwozdzinski *et al.*, 1992). Secara khusus, ikan sangat rentan dan mudah terpapar polutan akibat dari aktivitas mencari makan dan hidup di ekosistem perairan, sehingga ikan tidak dapat terhindar dari dampak bahaya dari polutan. Logam berat dapat masuk ke tubuh ikan dengan proses absorpsi secara langsung dari air melalui insang dan kulit ataupun dengan menelan makanan yang

terkontaminasi. Kemudian, logam berat akan memasuki aliran darah ikan dan secara bertahap terakumulasi di dalam jaringan tubuh sehingga berdampak terjadinya kerusakan fisiologis, terganggunya proses biokimia, menghambat pertumbuhan, gangguan pada sintesis hormon reproduksi dan menurunnya kesehatan ikan (Amini *et al.*, 2013). Faktanya, polutan logam berat dapat terakumulasi dalam organisme akuatik. Sehingga, perlu dilakukan pengkajian untuk mengetahui risiko dan efek dari paparan logam berat terhadap ikan.

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) salah satu kelompok ikan yang telah diakui sebagai model biologis yang baik, karena mudah dalam penanganan, pembiakan dan pemeliharaan di laboratorium serta dapat digunakan untuk mempelajari kemungkinan adaptasi dalam studi toksikologi (Almeida *et al.*, 2002). Telah diketahui, ikan dianggap sebagai salah satu organisme yang berpotensi terpapar logam berat yang dapat menyebabkan terganggunya sistem metabolisme, biosintesis dan fungsi organ ikan tersebut. Oleh karena itu, ikan nila (*O. niloticus*) sebagai salah satu ikan yang banyak digunakan sebagai model hewan untuk mempelajari terkait dampak logam berat yang dapat mempengaruhi aktivitas sistem endokrin pada tubuh ikan. Terlebih lagi perlu difokuskan pada ikan betina terhadap paparan logam berat yang berdampak toksik pada ikan terkait sintesis hormon steroid estrogen ikan yang dapat menyebabkan rendahnya kadar hormon, berkurangnya produksi gamet dan kemampuan fertilisasi (Roggio MA *et al.*, 2014).

Selain itu, ditinjau dari segi manfaat ikan nila sebagai ikan konsumsi yang populer karena tinggi protein dan rendah lemak jenuh yang bermanfaat bagi kesehatan konsumen untuk mengurangi obesitas, meningkatkan sistem metabolisme, menguatkan tulang dan mencegah risiko penyakit kronis seperti arthritis serta kanker. Terkait keberagaman manfaat ikan nila sebagai ikan konsumen, perlu dilakukan penelitian serta penanganan sebagai upaya menjaga kesehatan ikan dan kualitas gizi ikan yang terkandung terlebih lagi pada ikan nila yang hidup di area lingkungan yang terkontaminasi akibat dari aktivitas antropogenik. Kontaminasi lingkungan akibat adanya bahan kimia pada organisme akuatik, khususnya ikan akan menyebabkan bioakumulasi bahan kimia

di dalam tubuh ikan, sehingga akan berdampak secara berkelanjutan bagi konsumen yang memakan ikan terkontaminasi tersebut. Salah satu kontaminasi lingkungan adalah bahan kimia berupa logam berat yang dapat terakumulasi pada ikan nila yang berdampak terhadap indeks bahaya kesehatan manusia menunjukkan bahwa risiko kumulatif dari paparan kadmium sangat meningkat dengan meningkatnya tingkat konsumsi ikan (Omar *et al.*, 2013).

Keberadaan logam dengan konsentrasi tertinggi yakni kadmium yang merupakan logam non esensial dan sangat beracun bagi biota perairan. Silva dan Martinez (2014) menyatakan bahwa paparan kadmium dapat menurunkan aktivitas enzim, sehingga ikan kehilangan kemampuan dalam mengatur kadar kalsium dalam darah yang dapat menyebabkan hipokalsemia. Toksisitas logam juga dapat menimbulkan gangguan terhadap biosintesis steroidegenik dan stres oksidatif. Kadmium dapat masuk ke lingkungan akuatik dan terjadi akumulasi di dalam tubuh organisme akuatik yang menyebabkan pertumbuhan, osmoregulasi dan reproduksi ikan menjadi terganggu akibat paparan logam kadmium (Kim *et al.*, 2004). Paparan kronik terhadap kadmium inorganik menyebabkan akumulasi logam pada jaringan dan organ yang menyebabkan perubahan metabolik, kerusakan membran, mengganggu ekspresi gen dan terjadinya apoptosis (Waisberg *et al.*, 2003).

Paparan kadmium dapat mengganggu aktivitas enzim yang terlibat pada steroidogenesis dalam sintesis estrogen dan terjadi ketidakseimbangan antioksidan dan oksidan dalam organel. Sehingga, dapat mengakibatkan stress oksidatif dengan merangsang produksi radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Pada penelitian sebelumnya (Sellin and Kolok, 2006) menyatakan bahwa ikan betina yang dipaparkan logam berat akan terjadi akumulasi pada ovarium yang mengakibatkan gangguan terhadap reproduksi sehingga berdampak pada keberhasilan pemijahan, tingkat kesuburan, keberhasilan pembuahan dan penetasan hingga dapat mengakibatkan kematian pada keturunan. Paparan kadmium juga telah terbukti bahwa dapat mengganggu sistem endokrin ikan yakni kadmium dapat mengikat urutan DNA reseptor estrogen dan mempengaruhi transkripsi (Le Guevel *et al.*, 2000). Menurut Takiguchi dan Yoshihara (2005)

menyatakan bahwa paparan kadmium dapat menginduksi perubahan kadar plasma dan sekresi hormon reproduksi seperti estrogen dan testosteron dalam plasma yang diawali dengan adanya gangguan pada sumbu HPG (*Hypothalamus Pituitary Gonad*).

Kadar testosteron yang lebih tinggi dapat menginduksi perkembangan jaringan testis di dalam ovarium yang berpotensi menjadi ikan hermafrodit (Strussman dan Nakura, 2003). Selain itu, testosteron yang berlebih akan mengakibatkan disfungsi reproduksi khususnya ovarium pada ikan betina, serta terjadinya perubahan sex pada ikan seperti protogini yakni perubahan ikan betina menjadi jantan. Maka dari itu, untuk melindungi integritas membran biologis akibat dari proses oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, sekaligus sebagai memperbaiki sintesis hormon estrogen dan testosteron perlu adanya mekanisme pertahanan secara enzimatik maupun non enzimatik. Komponen sistem pertahanan terbagi menjadi dua kelompok utama yakni enzim antioksidan dan antioksidan eksogen seperti suplemen vitamin dan beberapa logam esensial sebagai enzim antioksidan (Halliwell *et al.*, 2007).

Vitamin C (L- Asam Askorbat, AsA) bermanfaat sebagai pemeliharaan proses fisiologis normal pada hewan akuatik. Senyawa ini merupakan antioksidan yang bersifat larut dalam air dan merupakan kofaktor terhadap reaksi hidroksilasi (Kumari dan Sahoo, 2005). Ketika hewan akuatik terpapar penyakit menular, vitamin C dapat melindungi sel fagosit dan jaringan sekitarnya dari kerusakan oksidatif. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa vitamin C dapat mempercepat pertumbuhan, imunologi dan peningkatan resistensi terhadap stres dan penyakit (Lin dan Syiah, 2005). Selain itu, kandungan asam askorbat pada vitamin C dapat meminimalisir efek toksisitas logam pada ikan dengan adanya peningkatan kekebalan sebagai pencegahan efek berbahaya dari logam berat, sehingga kesehatan ikan tetap terjaga (El-Greisy *et al.*, 2015). Vitamin C dapat meminimalisir toksisitas air yang terkontaminasi logam berat, serta meningkatkan ketahanan dan resistan terhadap penyakit. Kekurangan asupan asam askorbat akan menyebabkan keterlambatan pertumbuhan, penurunan imunitas, tingginya mortalitas dan rusaknya formasi kolagen pada ikan (Wei *et al.*, 2020).

Menurut Alemayehu (2018) pemberian suplemen pakan terhadap pakan ikan dapat mendorong pertumbuhan dan kondisi fisik pada ikan Nila, meningkatkan sistem imun dan dapat lebih meningkatkan fisiologis ikan daripada menggunakan pakan ikan tradisional. Penambahan suplemen pada pakan meliputi probiotik, prebiotik, imunostimulan, enzim, hormon, asam organik dan pakan tambahan yang fungsional lainnya. Penambahan probiotik sebagai suplemen pada pakan ikan dapat meningkatkan palatabilitas pakan, warna pakan dan kualitas nutrient pakan yang dapat memudahkan ikan dalam mencerna pakan untuk mendukung peningkatan terhadap produksi ikan. Mikroorganisme pada probiotik berperan penting dalam pemeliharaan kualitas air, pengelolaan limbah, meningkatkan produktivitas ikan, siklus nutrisi, pengembangan pakan fungsional dan perlindungan terhadap penyakit menular.

Probiotik bermanfaat untuk meningkatkan pertumbuhan, menjaga kesehatan ikan dan resistensi penyakit pada berbagai ikan budidaya (Gomez gil *et al.*, 2000). Bakteri asam laktat merupakan jenis mikroorganisme yang dapat mengikat ion logam melalui khelasi ataupun *complexation* dalam meminimalisir keberadaan logam berat (Mrvic *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian Bhakta (2012) menyatakan bahwa *Lactobacillus reuteri* dapat meminimalisir kadar kadmium di dalam usus ikan. Selain itu, menurut Topcu dan Bulat (2010) menyimpulkan bahwa *Enterococcus faecium* dapat secara efektif meminimalisir kadmium yang terkandung pada air. Selanjutnya, *Bacillus catenulatus* telah dipelajari bahwa merupakan bioabsorpsi terbaik untuk kadmium (Kim *et.al.*, 2015). Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini yakni probiotik yang diproduksi dengan metode fermentasi menggunakan media molase dan starter yang mengandung bakteri *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megantherium*, *Bacillus licheniformis*, dan *Lactobacillus fermentum* yang memiliki kemampuan untuk menekan dan melawan bakteri pantogen dan mendegradasi bahan toksin serta dapat meningkatkan sistem imunitas ikan.

Berdasarkan uraian latar belakang, perlu dilakukan lebih lanjut terkait dampak kadmium terhadap produksi estrogen dan testosteron ikan betina serta potensi penambahan suplemen pakan vitamin C dan probiotik yang dapat

mengurangi toksisitas kadmium yang berdampak pada kadar hormon estrogen dan testosteron pada ikan betina. Sehingga, gangguan reproduksi pada ikan akibat paparan logam berat dapat diminimalisir oleh probiotik melalui pengikatan logam berat dan suplemen vitamin C yang berguna dalam meningkatkan sistem imun ikan dan agen antioksidan terhadap adanya radikal bebas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah konsentrasi kadmium berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen dan testosteron ikan *Oreochromis niloticus* betina ?
2. Apakah penambahan suplemen yang ditambahkan pada pakan berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen dan testosteron ikan *Oreochromis niloticus* betina yang dipaparkan kadmium dari berbagai konsentrasi ?
3. Pemberian jenis pakan manakah yang lebih efektif dalam mengurangi toksisitas kadmium terhadap kadar hormon estrogen dan testosteron ikan *Oreochromis niloticus* betina ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh kadmium dari berbagai konsentrasi terhadap kadar hormon estrogen dan testosteron *Oreochromis niloticus* betina
2. Mengetahui pengaruh penambahan suplemen pakan terhadap produksi hormon estrogen dan testosteron *Oreochromis niloticus* betina yang dipaparkan kadmium dari berbagai konsentrasi
3. Mengetahui keefektifan jenis suplemen pakan dalam mengurangi toksisitas kadmium terhadap produksi hormon estrogen dan testosteron *Oreochromis niloticus* betina

#### 1.4 Asumsi Penelitian

Paparan kadmium yang bersifat toksik dapat mengakibatkan gangguan terhadap produksi hormon estrogen dan testosteron. Kadmium berpotensi sebagai *Endocrine Disrupting Chemicals* (EDC) yang dapat mengganggu aktivitas produksi estrogen dengan secara langsung mengikat reseptor estrogen (ER) atau secara tidak langsung dengan mempengaruhi HPG (*Hipotalamus Pituitary Gonadal*) yang berdampak terhadap sintesis estrogen. Paparan kadmium menyebabkan stres oksidatif dikarenakan adanya senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dari kadmium yang berpengaruh terhadap kinerja sistem saraf, endokrin dan reproduksi. Kadmium mempengaruhi kinerja *Hipotalamus Pituitary Gonadal* (HPG) yang berperan dalam memproduksi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), yang mana akan menghambat rangsangan *pituitary* dalam memproduksi hormon gonadotropin seperti FSH dan LH. Akibat dari toksisitas kadmium terhadap HPG, dapat menyebabkan menurunnya produksi FSH yang akan berdampak terhadap penurunan hormon estrogen pada ikan betina, sehingga aktivitas produksi telur akan terganggu.

Reproduksi ikan dikontrol oleh *Hipotalamus Pituitary Gonadal* (HPG), pengaruh kadmium pada HPG dapat mengganggu aktivitas aromatase otak yang berperan sebagai pertumbuhan dan regenerasi neuron pada ikan, selain itu juga aromatase berkaitan dengan gonad yang berperan dalam produksi hormon estrogen untuk pembentukan telur dan reproduksi ikan betina. Pengaruh kadmium pada HPG akan menyebabkan adanya perubahan kadar hormon pada hipofisis dan dalam proses gonad kemudian mempengaruhi ekspresi gen terkait sistem endokrin dan akhirnya produksi estrogen akan menurun akibat gangguan aktivitas enzim aromatase. Kadmium dapat menekan aktivitas enzim aromatase yang berperan dalam konversi estrogen menjadi testosteron, sehingga akan mengakibatkan peningkatan kadar testosteron yang dapat memicu terjadinya PCOS (*Polycystic Ovary Syndrome*) pada ikan betina. Maka, akan terjadi perubahan sex *protogynous* akibat penurunan ekspresi *cyp19a1a* oleh enzim aromatase yang dapat memicu peningkatan kortisol sebagai penyebab terjadinya maskulinisasi pada ikan betina. Maskulinisasi ikan betina dapat terjadi dengan penghambatan

ekspresi *cyp19a1a* yang berpengaruh dalam berkurangnya kadar estrogen pada serum dan dengan merangsang ekspresi *hsd11b2* untuk meningkatkan produksi testosteron secara berlebih.

Sehingga, dalam penanganan akumulasi kadmium yang berdampak terhadap produksi estrogen pada tubuh ikan betina, yakni dilakukan dengan pemberian suplemen pakan probiotik dan vitamin C. Suplemen vitamin C bersifat antioksidan terhadap radikal bebas dari logam, sedangkan penambahan probiotik dari bakteri asam laktat berperan sebagai pengendali patogen akibat adanya kontaminasi logam berat. Bakteri asam laktat dapat mengikat logam berat yang beracun karena membran sel bakteri kaya akan peptidoglikan dan asam teikoat yang dapat bereaksi dengan ion logam, sehingga dapat meminimalisir toksisitas logam pada tubuh ikan. Dengan adanya penambahan suplemen pakan probiotik dan vitamin C, dapat memperbaiki respon rangsangan HPG pada ikan betina yang terpapar kadmium sekaligus meningkatkan kerja enzim aromatase pada proses steroidgenik, sehingga produksi hormon estrogen dapat meningkat dan testosteron tidak terjadi produksi berlebih.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Jika konsentrasi paparan kadmium yang diberikan semakin tinggi, maka produksi estrogen akan semakin menurun dan terjadi produksi testosteron berlebih akibat adanya penghambatan enzim aromatase dari paparan kadmium. Paparan kadmium pada *O. niloticus* betina dapat berpengaruh terhadap aktivitas enzim aromatase yang berperan dalam konversi testosteron menjadi estrogen sehingga menyebabkan produksi testosteron berlebih sekaligus menurunnya kadar estrogen. Penurunan aktivitas cytochrome P450 akan memicu peningkatan kortisol yang berhubungan dengan produksi testosteron secara berlebih, sehingga menyebabkan disfungsi ovarium ikan betina yang berdampak pada maskulinisasi ikan betina. Maka dari itu, perlu dilakukannya penambahan suplemen pakan yakni suplemen vitamin C dan probiotik yang dapat mengurangi toksisitas kadmium dengan meningkatkan produksi estrogen sekaligus memperbaiki aktivitas enzim aromatase, supaya tidak terjadi produksi berlebihan pada testosteron ikan betina.

### **1.6 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada pembaca mengenai informasi terkait pengaruh kadmium terhadap produksi estrogen dan testosteron pada *Oreochromis niloticus* betina sekaligus dampak pemberian suplemen pakan dalam meminimalisir toksisitas kadmium yang terpapar pada *Oreochromis niloticus* betina. Bentuk meminimalisir toksisitas kadmium dilakukan melalui penambahan suplemen vitamin C dan probiotik pada pakan komersial, sehingga diharapkan dapat meningkatkan produktivitas ikan betina.