

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu agen pencemaran yang berbahaya bagi manusia dan lingkungan karena sifat toksisitasnya bagi kehidupan adalah kadmium (Cd). Cd adalah logam berat berwarna putih keperakan terang dan termasuk golongan IIB pada tabel periodik dengan nomor atom 48, berat atom 112,41 Da dan massa jenis 8,64 g/cm³ (Bradl, 2005). Secara natural, Cd banyak ditemukan di kerak bumi. Penambangan, pemrosesan logam, dan produksi baterai adalah awal dari paparan Cd di lingkungan (Zeece, 2020). Sumber utama pelepasan Cd atmosfer adalah aktivitas gunung berapi. Diperkirakan jumlah Cd yang dilepaskan oleh aktivitas vulkanik adalah 100-500 ton. Aktivitas vulkanik di dalam laut juga merupakan salah satu sumber alami Cd (Nriagu, 1979). Pada manusia, paparan Cd disebabkan oleh konsumsi makanan, minuman, dan inhalasi terutama pada asap rokok (Bishop, 2020). Cd ditemui dalam kadar rendah pada berbagai makanan. Sumber Cd pada tumbuhan dapat ditemui pada sayuran berdaun hijau, rumput laut, kentang, dan biji-bijian, sedangkan pada sumber hewani dapat ditemui pada hati, ginjal, dan kerang (Zeece, 2020). Kadmium klorida (CaCl₂) adalah bentuk utama dari Cd yang larut dalam air dalam konsentrasi tinggi, sedangkan kadmium oksida (CaO) adalah bentuk yang paling umum pada paparan melalui respirasi (Cannino, 2009).

Tingkat paparan Cd maksimum untuk orang dewasa adalah 2,5 µg/kg berat badan (Zeece, 2020). Jumlah harian Cd yang dikonsumsi melalui sumber makanan adalah sekitar 10-25 g tetapi bervariasi pada beberapa tempat. Sebagai contoh, di Jepang, jumlah Cd yang dikonsumsi dari makanan adalah 28 g/hari. Di Cina yaitu sebanyak 9,9 g/hari, dan 9-10 g/hari di Jerman (Kikuchi, 2003). Di Indonesia, jumlah Cd yang dikonsumsi dari makanan lebih banyak bersumber dari berbagai jenis ikan diantaranya ikan Kurisi (*Nomipterus hexodon*), ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*), dan ikan Tongkol (*Auxis thazard*) dengan kadar rata-rata

kandungan cadmium 0,146; 0,144; dan 0,137 mg/kg, yang apabila dikonsumsi dalam skala harian, maka dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan (Purnomo, 2008). Banyak kelompok pekerja yang secara tidak sadar terpapar Cd dengan proporsi yang signifikan. Di antara kelompok pekerja ini adalah pekerja di area penambang, pabrik cat dan baterai secara khusus terpapar debu dan asap Cd dalam jumlah yang signifikan. Seiring dengan kelompok pekerja tersebut, perokok adalah salah satu kelompok yang paling banyak terpapar Cd (Jarup, 1998).

Setelah masuk secara oral dan inhalasi, Cd akan diserap melalui paru-paru dan dinding usus (Fergusson, 1990) kemudian diedarkan melalui sirkulasi darah ke bagian tubuh yang lain (Zalups & Ahmad, 2003). Cd dapat dengan mudah menembus tubuh dan masuk ke dalam sitoplasma melalui *Calcium channel* membran sel (Blazka, 1991). Cd kemudian dapat mengikat molekul intraseluler, menumpuk di dalam sel, dan menyebabkan transformasi metabolik. Kadar Cd yang tinggi diikat oleh glutathione, yaitu protein larut yang kaya sulfhidril dan metallothionein (MTs) sebagai garis pertahanan pertama melawan logam beracun intraseluler, termasuk Cd, karena ikatan logam dengan metallothionein secara signifikan dapat mengurangi toksisitasnya, mencegah interaksi dengan komponen seluler penting seperti enzim, protein struktural, DNA, dan membran sel (Ivanina, 2008). Cd mampu mempengaruhi proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, dan aktivitas seluler lainnya (Waisberg, 2003). Paparan Cd yang berkepanjangan dapat menyebabkan baik kanker paru-paru (Demir, 2014), prostat (Verougstraete, 2003), testis (Marettová), dan ginjal (Song, 2015). Gen supresor tumor dapat diinaktivasi oleh Cd yang menyebabkan kerusakan mekanisme perlekatan sel, memicu apoptosis, menekan perbaikan DNA, meningkatkan produksi radikal bebas dan mempengaruhi sistem antioksidan (Redza-Dutordoir, 2016; Bashir, 2016). Cd mampu menyebabkan pelepasan *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), oksida nitrat (NO) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam organisme seperti logam berat lainnya (Birben, 2012) dan lebih lanjut dapat menyebabkan peroksidasi pada membran sel (Chaoui, 1997), degradasi sistem pertahanan antioksidan, munculnya inflamasi, gangguan struktur

protein dan oksidasi asam nukleat, serta secara negatif mempengaruhi mekanisme perbaikan DNA (Rani, 2014). Secara tidak langsung, Cd dianggap berkontribusi pada produksi ROS karena Cd bekerja dengan menghambat ekspresi enzim antioksidan seperti superoxide dismutase (SOD) dan katalase (CAT), sehingga meningkatkan kadar $O_2^{\cdot-}$ dan H_2O_2 dan lebih lanjut menyebabkan peroksidasi lipid (Casalino, 2002).

Stres oksidatif yang diinduksi oleh Cd mendorong dalam ketidakseimbangan antara produksi ROS dan antioksidan endogen (Cuypers *et al.*, 2010). Mitokondria merupakan salah satu organel utama yang menghasilkan ROS (Kovac *et al.*, 2015). Studi pada mamalia telah menunjukkan bahwa mitokondria merupakan salah satu target seluler utama dari Cd. Paparan Cd dapat menyebabkan gangguan mitokondria, seperti potensi runtuhnya struktur membran, apoptosis, dan hambatan respirasi mitokondria (Belyaeva *et al.*, 2011). Gangguan pada mitokondria akan menyebabkan produksi ROS yang berlebihan (Okoye *et al.*, 2019). Selain itu, Cd juga telah terbukti sebagai agen penginduksi stres oksidatif dengan menginduksi perubahan aktivitas enzim antioksidan (Atli & Canli, 2010; Zheng *et al.*, 2016b).

Antioksidan adalah mekanisme pertahanan yang diproduksi tubuh untuk menetralkan efek ROS. Antioksidan bisa bersifat enzimatik dan nonenzimatis. Sumber antioksidan nonenzimatis diantaranya vitamin C, vitamin E, selenium, seng, beta karoten, karoten, taurin, hipotaurin, glutathione, dan flavonoid, sedangkan untuk antioksidan enzimatik termasuk SOD, CAT, glutaredoxin, dan glutathione reductase (Agarwal, 2008). Namun, seiring bertambahnya usia tubuh, kadar antioksidan menurun, mengakibatkan gangguan keseimbangan antara molekul antioksidan dan prooksidan. Hal ini menghasilkan pembentukan stres oksidatif dan pada gilirannya, mengesampingkan kapasitas *scavenging* oleh antioksidan baik karena berkurangnya ketersediaan antioksidan atau pembentukan ROS yang berlebihan. Oleh karena itu, suplementasi dengan oksidan oral dapat membantu mencegah stres oksidatif dan kontribusinya terhadap patogenesis penyakit dalam (Sekhon, 2010).

Enzim antioksidan endogen seperti SOD, CAT dan glutathione peroksidase (GPx) sangat penting untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas oksigen dan peroksidasi lipid. Radikal bebas $O_2^{\cdot-}$ yang dihasilkan oleh stres oksidatif dengan cepat diubah menjadi H_2O_2 oleh SOD. H_2O_2 yang dihasilkan kemudian dapat diurai oleh CAT dan GPx menjadi H_2O dan O_2 (Ahmad, 1995). Banyak publikasi terkait menunjukkan bahwa stress oksidatif akibat perlakuan Cd dapat mengubah aktivitas enzim antioksidan endogen dan tingkat MDA pada serangga (Wilczek *et al.*, 2003; Migula *et al.*, 2004). Penurunan kadar pada CAT akibat paparan Cd lebih lanjut dapat meningkatkan kadar H_2O_2 dan ketika H_2O_2 bereaksi dengan ion besi (Fe^{2+}) maka akan menghasilkan hidroksil radikal ($\cdot OH$) (Pignatello, 2006), yang memulai terjadinya peroksidasi lipid yang memberikan kerusakan terhadap struktur membran sel (Jurczuk, 2003).

Malondialdehid (MDA) dapat digunakan sebagai indikator adanya stres oksidatif menggunakan *thiobarbituric acid reacting substances test* (TBARS) (Giera, 2012) dan merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid (Kiang, 2012). Esterbauer (1991) melaporkan bahwa MDA lebih stabil secara kimiawi dan permeabel daripada ROS dan kurang toksik dibandingkan dengan 4-hidroxy-2-nonenal (4-HNE) dan methylglyoxal (MG), yang juga merupakan produk dari peroksidasi lipid (Benedetti, 1980; Agadjanyan, 2005). Untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipid akibat ketidakseimbangan antara produksi ROS dan antioksidan endogen, dapat menggunakan antioksidan eksogen.

Gynura procumbens merupakan tanaman yang sudah lama menjadi obat alternatif bagi masyarakat. Sebagai obat tradisional, daun dari tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif, seperti peradangan, kanker, diabetes dan hipertensi serta penyakit umum lainnya (Perry, 1980). Dalam penelitian Ahmad (2019), ekstrak metanol daun *G. procumbens* mampu meningkatkan kadar CAT dan menurunkan kadar MDA pada plasma darah melalui aktivitas antioksidannya. Pada penelitian Niwat (2015), diketahui bahwa flavonoid pada *G. procumbens* merupakan kontributor paling penting dalam aktivitas antioksidan. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Arifin

(2018), yang menyebutkan bahwa flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang sangat baik karena sangat reaktif sebagai donor hidrogen dan elektron. Dalam penelitian Wanti (2021), dilaporkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ekstrak metanol daun *G. procumbens* menunjukkan nilai $IC_{50} = 302,19$ mg/L serta mampu meningkatkan kadar enzim SOD pada hepar akibat paparan terhadap Cd. Sejalan dengan penelitian Muhsyi (2021), pemberian ekstrak metanol akar adventif *G. procumbens* mampu meningkatkan kadar SOD pada serum darah mencit yang dipapar Pb dengan nilai total fenolik pada *G. procumbens* menunjukkan $120,24 \pm 2,81$ mg/L yang bermanfaat sebagai antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Sayuti dan Yenrina, 2015). Pada penelitian Bhakti (2021), pemberian ekstrak metanol akar adventif *Gynura procumbens* yang memiliki aktivitas antioksidan sedang ($IC_{50} = 147,41$ mg/L) dari flavonoid jenis kaempferol ($1148,148$ mgL⁻¹/g) dan kuersetin ($289,444$ mgL⁻¹/g) mampu menurunkan kadar MDA pada mencit yang terpapar Cd. Ekstraksi *G. Procumbens* dengan 80% metanol pada suhu di bawah 60°C akan memberikan retensi yang lebih besar dari kandungan total fenolik (TPC) dan ekspresi yang lebih besar dari aktivitas penangkapan radikal bebas (FRSA) (Akowuah et al., 2009). Metanol juga diidentifikasi sebagai pelarut ekstraksi *G. Procumbens* yang lebih efektif dibandingkan dengan etanol 95% dan ekstrak air berdasarkan TPC dan FRSA yang lebih tinggi (Akowuah et al., 2012). Dibandingkan dengan bagian tanaman lain (batang dan akar), daun *G. procumbens* lebih mudah didapat dan tersedia setiap saat. Dengan mengambil daunnya, tanaman tersebut tidak terlalu terganggu dan dapat melanjutkan pertumbuhannya secara normal (Timotius, 2020).

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk mencari tahu lebih lanjut bagaimana pengaruh ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* terhadap kadar CAT dan kadar MDA darah mencit yang terpapar Cd.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap kadar CAT pada serum darah mencit yang terpapar Cd?
2. Apakah pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap kadar MDA pada serum darah mencit yang terpapar Cd?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap kadar CAT pada serum darah mencit yang terpapar Cd
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap kadar MDA pada serum darah mencit yang terpapar Cd.

1.4 Asumsi Penelitian

Paparan kadmium masuk ke dalam tubuh, baik melalui oral atau inhalasi, dapat menginduksi terbentuknya ROS, ketika ROS sudah terlalu banyak dan melampaui ambang, enzim antioksidan endogen, seperti katalase, akan menuju pada titik jenuhnya sehingga berakibat pada kegagalan dalam melakukan aktivitas *scavenging*-nya. Ketidakmampuan katalase untuk melakukan aktivitas *scavenging* berakibat meningkatkan kadar hidrogen peroksida yang lebih lanjut dapat meningkatkan peroksidasi lipid yang merusak membran sel, produk akhir dari peroksidasi lipid ini adalah MDA yang apabila kadarnya melebihi ambang, maka dapat menjadi indikator terjadinya stress oksidatif. Pemberian ekstrak metanol

daun *Gynura procumbens* yang memiliki kandungan flavonoid dan fenolik diharapkan dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan hidrogen dan elektron yang berikatan dengan molekul-molekul radikal bebas sehingga molekulnya menjadi lebih stabil sehingga dapat mencegah atau menghambat terjadinya stres oksidatif dengan meningkatkan kadar CAT untuk mereduksi hidrogen peroksida dan menurunkan kadar MDA dalam serum darah.

1.5 Hipotesis Penelitian

1.5.1 Hipotesis kerja

Hipotesis kerja dalam penelitian ini adalah apabila ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* memiliki aktivitas sebagai antioksidan maka pemberian ekstrak tersebut mampu menghambat terjadinya stres oksidatif dan meningkatkan aktivitas CAT serta menurunkan kadar MDA pada serum darah yang terpapar logam berat Cd.

1.5.2 Hipotesis statistik

1. Jika ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* dapat mencegah penurunan jumlah kadar CAT pada serum darah *Mus musculus* yang dipapar Cd, maka pemberian ekstrak daun *Gynura procumbens* berbagai konsentrasi akan mengakibatkan perbedaan bermakna pada kadar CAT antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

H_0 : Pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* tidak berpengaruh terhadap menghambat terjadinya stres oksidatif dan peningkatan kadar CAT pada serum darah mencit yang terpapar Cd.

H_{a1} : Pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* berpengaruh terhadap menghambat terjadinya stres oksidatif dan peningkatan kadar CAT pada serum darah mencit yang terpapar Cd.

2. Jika ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* dapat mencegah peningkatan kadar MDA pada serum darah *Mus musculus* yang dipapar Cd, maka pemberian ekstrak daun *Gynura procumbens* berbagai konsentrasi akan mengakibatkan perbedaan bermakna pada kadar MDA antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

H_0 : Pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* tidak berpengaruh terhadap menghambat terjadinya stres oksidatif dan penurunan kadar MDA pada serum darah mencit yang terpapar Cd.

H_{a1} : Pemberian ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* berpengaruh terhadap menghambat terjadinya stres oksidatif dan penurunan kadar MDA pada serum darah mencit yang terpapar Cd.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan informasi yang didapat mengenai ekstrak metanol daun *Gynura procumbens* sebagai antioksidan yang memiliki pengaruh dalam peningkatan aktivitas CAT dan penurunan kadar MDA pada serum darah mencit yang terpapar Cd dapat menjadi salah satu upaya untuk pencegahan berbagai penyakit kronis akibat stres oksidatif melalui pemberian antioksidan.