

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, kemajuan di bidang teknologi dan industri semakin berkembang pesat. Banyaknya sektor perindustrian tentu menyebabkan semakin banyak pula bahan pencemar yang masuk dalam lingkungan, apabila tidak dikelola secara benar. Salah satu bahan pencemar yang terkandung dalam buangan limbah dan paling banyak terjadi adalah pencemaran logam berat (Harlyan & Sari, 2015). Logam berat merupakan elemen yang sukar terurai dan dapat terakumulasi melalui rantai makanan (bioakumulasi) dengan efek jangka panjang yang merugikan bagi makhluk hidup (Indirawati, 2017). Logam berat dapat masuk dalam tubuh dengan mengonsumsi bahan makanan yang terkontaminasi, hewan laut, dan air minum, serta melalui inhalasi yang tercemar sebagai debu, atau melalui paparan di tempat kerja (Ming-Ho, 2005). Selain itu, dapat masuk ke tubuh dengan diserap melalui kulit seperti timah (Engwa *et al.*, 2019).

Logam berat yang masuk ke dalam tubuh akan diangkut oleh sistem peredaran darah dan terakumulasi di dalam sel tubuh dan jaringan. Logam berat dapat berikatan dengan protein, asam nukleat, serta makromolekul lain yang mengganggu fungsi seluler. Oleh karena itu, keracunan logam berat dapat menimbulkan konsekuensi pada tubuh manusia. Ada beberapa kasus mengenai pencemaran logam berat. Pencemaran arsen di Bangladesh yang menyebabkan melanosis hingga kanker kulit dan gangren (Fazal *et al.*, 2001). Selain itu, kasus pencemaran merkuri di Jepang yang mengakibatkan sindrom Minamata atau kelainan fungsi saraf (Kondo, 2000) dan kasus *Itai-itai disease* di Jepang menyebabkan gejala *nephropathy* dan *osteomalacia* akibat paparan kadmium (Istarani & Pandebesie, 2014).

Kadmium (Cd) merupakan salah satu logam berat yang berbentuk kristal putih keperakan, lunak, mengkilap, tidak larut basa, dan mudah bereaksi, serta menghasilkan oksida bila dipanaskan (Widowati dkk, 2008). Cd banyak digunakan

di industri untuk produksi cat, paduan pigmen, pelapis, baterai serta plastik (Engwa *et al.*, 2019). Limbah dari penggunaan Cd sebagai bahan baku proses industri dapat masuk ke dalam perairan. Masuknya logam berat ke perairan dapat terakumulasi di dalam tubuh biota perairan dan menurunnya kualitas perairan. Biota yang tercemar dapat dikonsumsi manusia, sehingga Cd juga akan masuk dan terakumulasi ke dalam tubuh manusia. Selain itu, paparan Cd juga dapat masuk melalui inhalasi, seperti menghirup asap rokok. Pada manusia dan mamalia lain, paparan Cd dapat menyebabkan sel mengalami nekrosis dan apoptosis yang kemudian dapat menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti edema paru, kerusakan testis, osteomalasia, disfungsi ginjal dan hati (Arroyo *et al.*, 2012).

Logam Cd dapat terakumulasi di dalam tubuh manusia dan baru keluar dari dalam tubuh dalam waktu berkisar 20-30 tahun (Istarani & Pandebesie, 2014). Bentuk ionik kadmium (Cd^{2+}) dapat mengikat banyak biomolekul dan interaksi ini mendasari mekanisme toksisitasnya. Cd yang masuk ke dalam tubuh akan diangkut ke jaringan dan organ melalui aliran darah yaitu eritrosit dan albumin (Genchi *et al.*, 2020). Pengangkutan Cd melalui darah dapat membuat Cd terakumulasi di organ seperti ginjal, hati, dan usus (Tinkov *et al.*, 2018; Satarug, 2018). Cd memiliki sifat kimia dan fisik yang mirip dengan logam esensial seperti besi (Fe), seng (Zn) atau kalsium (Ca), Cd dapat diangkut dan diambil ke dalam sel melalui proses yang sama dan melalui transport yang sama (Vesey, 2010).

Cd yang berikatan dengan albumin akan melepaskan ikatannya, lalu memasuki sel hepar untuk diakumulasi dan membentuk ikatan Cd-MT. Di dalam hepatosit, Cd dapat mensintesis ekspresi dari protein metallothionein (MT). Sel yang mengandung MT resisten terhadap toksisitas Cd, sedangkan sel yang tidak mensintesis MT akan lebih sensitif (Han *et al.*, 2015). Gugus thiol (-SH atau sulfihidril) yang ada pada Cys membantu pengikatan yang kuat Cd-thionein. MT membantu dalam penangkal radikal bebas. Secara tidak langsung, ikatan tersebut menginduksi pelepasan *Reactive Oxygen Species* seperti superoksida (O_2^-), hidroksil (OH^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) (Birben *et al.*, 2012). Paparan Cd mengakibatkan tubuh memberikan respon fisiologis berupa produksi ROS yang meningkat. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak

berpasangan, biasanya tidak stabil dan sangat reaktif (Finkel & Holbrook, 2000). ROS dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid, sehingga permeabilitas membran sel terganggu. Maka dari itu, pengikatan Cd dengan protein sulfhidril mampu mengganggu aktivitas Na^+K^+ -ATPase (Chunhabundit, 2016).

Karthikeyan dan Bavani (2009) menyatakan bahwa Cd dapat menghambat aktivitas sodium potassium *pump* dan aktivitasnya berkurang sebesar 24,27%. Kacaunya transport ion atau molekul dapat mengakibatkan membran kehilangan permeabilitasnya. Ion K^+ akan keluar dari sel dan sejumlah Na^+ , air, serta dapat memodulasi Ca^{2+} masuk ke dalam sel. Akibatnya, cairan ekstrasel banyak yang masuk ke dalam sitoplasma, sehingga terjadi pembengkakan sel seperti hepatosit. Hepatosit yang kehilangan integritasnya dapat menyebabkan sel mengalami kematian (nekrosis). Penyerapan dan akumulasi Cd dalam hepatosit pada prinsipnya disebabkan oleh saluran kalsium dan pembawa yang terlibat interaksi dengan kelompok sulfhidril (Souza *et al.*, 1997; El-Sokkary *et al.*, 2010).

Akibat peningkatan produksi ROS, tubuh merespon dengan memproduksi enzim endogen seperti *catalase* (CAT) dan *superoxide dismutase* (SOD) untuk menetralkan ROS (Fauzi, 2018). Logam berat Cd sendiri dapat menghambat kerja enzim endogen CAT, SOD, dan tembaga-seng oksidase (Genchi *et al.*, 2020). Nurindah (2021), melaporkan bahwa larutan kadmium 100 mg/L mampu menurunkan kadar SOD pada hepar mencit. Secara bersamaan, kadar ROS yang meningkat dan diikuti penurunan kadar enzim endogen dapat memicu sel mengalami stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan tubuh dalam produksi dan eliminasi ROS serta penurunan produksi antioksidan (Li *et al.*, 2015) dan mengarah ke nekrosis sel. Penelitian sebelumnya melaporkan paparan Cd dapat menginduksi terjadinya stress oksidatif, kerusakan mitokondria, dan kematian hepatosit (Li & Xie, 2018; Xu *et al.*, 2013; Yiran *et al.*, 2013; Zou *et al.*, 2015). Hepatosit merupakan komponen utama penyusun hepar yang aktif regenerasi dengan meningkatkan mitosis. Kerusakan sel-sel tentu akan berdampak pada nilai indeks hepatosomatiknya dengan membandingkan bobot hati terhadap berat badan mencit. Kondisi stres yang berkembang di bawah pengaruh logam dan penggunaan cadangan energi yang berlebihan dalam menanggapi peningkatan

kebutuhan dapat menyebabkan penurunan indeks hepatosomatik (Çiftçi *et al.*, 2015).

Senyawa aktif biologis pada tumbuhan secara alami dapat bermanfaat untuk mencegah kerusakan organ akibat paparan logam berat, termasuk kadmium. *Gynura procumbens* merupakan tumbuhan tropis yang sering dimanfaatkan karena aktivitas antioksidannya. Daun tanaman ini sering dikonsumsi dalam makanan, dan penelitian menunjukkan kandungan daunnya tidak beracun (Rosidah *et al.*, 2009). Nurindah (2021) menyebutkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak daun *G. procumbens* sebesar 302,19 mg/L. *G. procumbens* mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, dan kumarin (Akowuah *et al.*, 2002; Manuhara *et al.*, 2017). Banyak studi menunjukkan bahwa flavonoid dan polifenol memiliki kontribusi besar terhadap aktivitas antioksidan eksogen. Kaewseejan *et al.*, (2015) melaporkan flavonoid menyumbang 63% dari total senyawa pada ekstrak daun *G. procumbens*. Pelarut yang digunakan juga akan menentukan senyawa yang akan larut. Ekstrak metanol *G. procumbens* memiliki anti radikal tertinggi jika dibandingkan menggunakan kloroform, etil asetat, dan butanol (Ashraf *et al.*, 2020). Hal itu didukung oleh Tan *et al.*, (2016) menyatakan ekstrak metanol mampu menurunkan peroksidasi lipid pada plasma hewan uji. Pelarut metanol merupakan pelarut polar yang dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid pada tanaman (Astarina dkk, 2013). Umumnya, flavonoid bersifat polar karena memiliki gugus fenol, sehingga lebih efektif jika ekstraksi senyawa tersebut menggunakan pelarut organik yang bersifat polar seperti metanol.

Senyawa flavonoid memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonasikan atom hidrogennya, sehingga menjadi molekul non radikal yang stabil (Amić *et al.*, 2003). Senyawa tersebut dilaporkan dapat mengobati gangguan fungsi hati, misalnya kuersetin dapat melindungi hati dari kerusakan yang disebabkan oleh hepatotoksin (Bhatt & Flora, 2009; Ghosh *et al.*, 2009). *G. procumbens* ditemukan memiliki efek hepatoprotektif untuk menurunkan akumulasi lipid pada hati tikus (Li *et al.*, 2015). Berdasarkan paparan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh

ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr) terhadap histopatologi hepar mencit yang terpapar kadmium.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Berapakah nilai total flavonoid pada ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*)?
2. Apakah ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dapat mencegah peningkatan hepatosit bengkak dan nekrosis, serta penurunan hepatosit normal mencit yang terpapar kadmium (Cd)?
3. Apakah ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dapat mencegah penurunan indeks hepatosomatik mencit yang terpapar kadmium (Cd)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui nilai total flavonoid pada ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*).
2. Mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dalam pencegahan meningkatnya hepatosit bengkak dan nekrosis, serta menurunnya hepatosit normal mencit yang terpapar kadmium (Cd).
3. Mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dalam pencegahan menurunnya indeks hepatosomatik mencit yang terpapar kadmium (Cd).

1.4 Asumsi Penelitian

Kadmium (Cd) yang masuk melalui oral dibawa oleh darah akan berikatan dengan eritrosit dan albumin. Ketika Cd berada di organ target yaitu hepar, *up-take* Cd melalui difusi transmembran dengan bantuan protein transport untuk logam

esensial. Cd dapat menginduksi pembentukan protein thionein yang mengandung molekul thiol (-SH), sehingga membentuk ikatan metallothionein. Secara tidak langsung, Cd dapat menginduksi dilepaskannya molekul *Reactive Oxygen Species*, seperti superoksida (O_2^-), hidroksil (OH^-), hidrogen peroksida (H_2O_2). Molekul reaktif tersebut mampu merusak komponen terbesar penyusun membran sel yaitu asam lemak tak jenuh sehingga mampu menginduksi reaksi peroksidasi lipid. Reaksi tersebut dapat menurunkan integritas membran sehingga transport molekul dan ion di membran juga terganggu. Transport membran yang kacau menyebabkan ion K^+ akan keluar dari sel dan sejumlah Na^+ , air, serta dapat memodulasi Ca^{2+} masuk ke dalam sel. Akibatnya, cairan ekstrasel banyak yang masuk ke dalam sitoplasma, sehingga terjadi pembengkakan hepatosit dan berakhir kematian sel (nekrosis). Sel yang abnormal akan mempengaruhi kuantitas dari hepatosit normal, sehingga berat organ hepar juga mengalami perubahan. Banyaknya sel yang abnormal akan menurunkan nilai indeks hepatosomatik.

Dalam waktu bersamaan, Cd juga dapat berikatan pada gugus -SH enzim endogen yang dapat menghambat kerja enzim. Produksi ROS yang berlebih dan tidak diimbangi dengan produksi antioksidan endogen menyebabkan sel mengalami stress oksidatif. Oleh karena itu, tubuh perlu asupan antioksidan dari luar (eksogen) untuk menangkal ROS. Daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan tumbuhan tropis yang memiliki aktivitas antioksidan. Salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid yang mampu mendonorkan atom hidrogennya atau elektron bebasnya ke radikal bebas agar lebih stabil. Maka dari itu, diperlukan uji total flavonoid untuk mengetahui seberapa besar kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*). Adanya antioksidan eksogen berupa flavonoid diharapkan mampu mencegah atau menurunkan kerusakan sel seperti pembengkakan, nekrosis, dan sekaligus dapat meningkatkan nilai indeks hepatosomatik.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Jika ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dapat mencegah penurunan hepatosit normal, serta peningkatan hepatosit bengkak

dan nekrosis pada mencit yang terpapar kadmium, maka pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* berbagai konsentrasi akan mengakibatkan perbedaan bermakna pada jumlah ketiga jenis hepatosit antar kelompok perlakuan dengan kontrol.

H₀₁ : Tidak ada perbedaan bermakna pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* dalam mencegah penurunan hepatosit normal, serta peningkatan hepatosit bengkak dan nekrosis pada mencit yang terpapar kadmium.

Ha₁ : Ada perbedaan bermakna pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* dalam mencegah penurunan hepatosit normal, serta peningkatan hepatosit bengkak dan nekrosis pada mencit yang terpapar kadmium.

2. Jika ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dapat mencegah penurunan indeks hepatosomatik mencit yang terpapar kadmium, maka pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* berbagai konsentrasi akan mengakibatkan perbedaan bermakna pada indeks hepatosomatik antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

H₀₂ : Tidak ada perbedaan bermakna pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* dalam mencegah penurunan indeks hepatosomatik mencit yang terpapar kadmium.

Ha₂ : Ada perbedaan bermakna pemberian ekstrak metanol daun *G. procumbens* dalam mencegah penurunan indeks hepatosomatik mencit yang terpapar kadmium.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini ialah untuk mendapatkan informasi mengenai uji total flavonoid ekstrak metanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*), dan mengetahui pengaruh ekstrak tersebut sebagai antioksidan yang mampu mencegah kerusakan sel hepar akibat paparan kadmium.