

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Industrialisasi menimbulkan efek negatif berupa limbah industri baik yang terbentuk padat maupun cair berpengaruh terhadap lingkungan sekitarnya. Jika limbah tersebut dilepaskan ke perairan bebas, akan terjadi perubahan nilai dari perairan itu baik kualitas maupun kuantitas sehingga perairan dapat dianggap tercemar. Menurut Palar (2004) logam berat merupakan bahan kimia golongan logam yang sama sekali tidak dibutuhkan oleh tubuh, dimana jika masuk ke dalam tubuh organisme hidup dalam jumlah yang berlebihan akan menimbulkan efek negatif terhadap fungsi fisiologis tubuh. Logam berat yang masuk ke dalam tubuh dalam jumlah kecil akan berakumulasi di dalam tubuh, sehingga pada suatu saat juga dapat menimbulkan efek negatif dan gangguan kesehatan.

Salah satu bahan pencemar pada perairan adalah logam berat timbal (Pb). Timbal dan persenyawaannya digunakan dalam industri baterai sebagai bahan yang aktif dalam pengaliran arus elektron. Kemampuan timbal dalam membentuk *alloy* dengan logam lain telah dimanfaatkan untuk meningkatkan sifat metalurgi ini dalam penerapan yang sangat luas, contohnya digunakan untuk kabel listrik, konstruksi pabrik-pabrik kimia, kontainer dan memiliki kemampuan tinggi untuk tidak mengalami korosi (Palar, 2004). Semakin tingginya keberadaan timbal di lingkungan, tentu akan membuat semakin mudah timbal masuk dalam sistem kehidupan yang pada akhirnya akan terakumulasi pada manusia. Jika dikonsumsi oleh manusia, timbal dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti gangguan

kesadaran, anemia, kerusakan ginjal, hipertensi, neuromuskular, konsekuensi patofisiologis, kerusakan saraf pusat dan perubahan tingkah laku (Nurbaya dan Wijayanti, 2010). Salah satu jalur akumulasi utama logam timbal ke manusia adalah melalui sistem pencernaan. Masuknya logam timbal ke dalam tubuh manusia melalui jalur pencernaan bisa melalui makanan dan minuman yang dikonsumsi seperti daging, buah, dan sayuran (Sudarwin, 2008). Pemaparan timbal melalui minuman dapat berasal dari air minum yang dikonsumsi setiap hari, karena timbal juga digunakan pada pipa air, *solder*, dan kran air minum yang disalurkan lewat pipa yang dilapisi timbal akan menyebabkan tingginya kandungan timbal yang terlarut dalam air tersebut. Bahan makanan dan minuman yang tercemar oleh timbal ini tentu sangat berbahaya bagi organisme yang mengkonsumsinya terutama manusia, meskipun kadarnya masih rendah, pemaparan yang berlangsung dalam jangka waktu lama akan menyebabkan efek kronis (Suciani, 2007).

Sifat timbal yang toksik dan akumulatif ini dapat menyebabkan gangguan di organ tubuh. Akumulasi plumbum tertinggi dalam jaringan lunak terjadi berturut-turut pada ginjal disusul hati, otak, paru, jantung otot dan testis (Hariono, 2005). Timbal dapat mengendap di jaringan organ dan menimbulkan gangguan di organ tersebut. Salah satunya adalah hepar yang merupakan organ dengan laju metabolisme yang tinggi pada tubuh manusia, saling memberikan substrat dan energi dari satu sistem metabolisme ke sistem yang lain, mengolah dan menyintesis berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lainnya. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan (Lu,

1995). Adapun mekanisme kerusakan hepar yang diakibatkan oleh timbal adalah timbal tingkat tertentu dapat menginduksi pembentukan radikal bebas superoksida ($O_2^{\cdot-}$) yang menurunkan kemampuan sistem antioksidan tubuh sehingga dengan sendirinya akan terjadi stres oksidatif (Gurer dan Ercal, 2000). Stres oksidatif terjadi melalui dua mekanisme interelasi yang meliputi pembentukan radikal bebas dan berkurangnya kadar antioksidan dalam sel (Carocho dan Ferreira, 2013). Produksi senyawa *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas secara berlebihan, dapat menyebabkan rusaknya membran sel, dan membran mitokondria, serta kanal ion, sehingga keseimbangan ion terganggu, dan mendorong terjadinya inflamasi pada sel dan jaringan hepar, yang ditandai dengan terbentuknya radikal nitrooksida ($NO_2^{\cdot}$) dan apabila bergabung dengan radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan membentuk senyawa radikal peroksinitrit yang bersifat sangat merusak (Mahdi dan Aulaniam, 2010).

Antioksidan endogen utama pada sel-sel tubuh adalah enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim SOD merupakan enzim antioksidan endogen yang mempunyai peranan penting secara langsung melindungi sel dari gangguan radikal bebas, dan secara tidak langsung memelihara keseimbangan oksigen yang bersifat toksik (Wresdiyati *et al.*, 2002). Bahaya timbal dalam tubuh (hepar) dapat menurunkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) yang berfungsi untuk menghambat pembentukan superoksida (Mahdi dan Aulaniam, 2010). Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan *glutathione* (GSH) peroksidase. Mekanisme kerja SOD akan menangkap senyawa oksigen reaktif seperti superoksida ($O_2^{\cdot-}$) radikal menjadi

hidrogen peroksida, lalu *glutation* peroksidase mengubahnya menjadi air. (Ariadini, 2007).

Protein merupakan polipeptida yang berasal dari banyak molekul asam amino. Unit struktur ikatan peptide terdiri dari beberapa asam amino yang digabungkan oleh ikatan peptide. Protein adalah instrumen yang menginformasikan ekspresi genetik yang terdapat dalam ribuan gen di dalam inti sel, setiap gen mencirikan suatu sifat nyata dari organisme, didalam sel terdapat ribuan protein yang berbeda, masing-masing membawa fungsi spesifik yang ditentukan oleh gen yang sesuai (Setiawan, 2014). Kiang dan Tsokos (1998) menyatakan bahwa sel dan jaringan organ yang mengalami *heat shock*, digambarkan sebagai terjadinya beberapa perubahan metabolik sel, yang dinyatakan dengan ekspresi protein yang dikenal sebagai *heat shock protein* yang disingkat HSP. *Heat shock protein* erat hubungannya dengan *chaperon*. *Chaperon* berperan dalam proses translasi. Fungsi *chaperon* berperan menjaga supaya polipeptida dalam transpor dari sitosol menuju mitokondria tidak melipat. Berdasarkan molekul *chaperon*, ada tiga golongan protein HSP, masing-masing adalah HSP 70, banyak terdapat pada sitosol dan endoplasma retikulum serta mitokondria, HSP 60 terdapat di mitokondria, dan HSP 90 terdapat pada sitosol. Keberadaan timbal dalam tubuh dapat menurunkan secara nyata total protein (TP), dan albumin (ALB), tetapi meningkatkan aspartat transaminase (AST), alanin aminotransferase, alkalin phosphatase (APT), dan interleukin- 2 atau IL-2. Sedangkan protein yang hilang kemungkinan adalah protein penting dalam sel seperti enzim, antibodi, dan

protein pembentuk matriks sitoskeleton yang semuanya dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian sel.

Curcumin merupakan komponen fitokimia yang ditemukan dalam kunyit (*Curcuma longa*). Oleh karena warnanya, *curcumin* telah digunakan juga dalam industri pakaian, makanan sebagai pengawet dan tambahan dalam bahan pangan. *Curcumin* juga digunakan sebagai obat dan ramuan tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit di beberapa negara. Rasio kandungan *curcuminoid* dalam kunyit adalah *curcumin* I 75%, *curcumin* II (demetoxycurcumin) 16%, dan *curcumin* III (bisdemethoxycurcumin) 8% (Da'i *et al.*, 2010).

Curcumin mempunyai gugus penting dalam proses antioksidan tersebut. Salah satu metode yang sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan secara *in vitro* adalah metode 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini mengukur aktivitas antioksidan mengurangi DPPH (radikal yang jarang ditemukan di sistem biologis) dapat dilihat dengan perubahan warna dari ungu ke kuning selanjutnya menggunakan spektrofotometer. Kandungan fenol dan flavonoid pada ekstrak *curcumin* mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC_{50} yang didapatkan untuk aktivitas antioksidan *curcumin* adalah 9,27 $\mu\text{g/mL}$ menurut penelitian Atira (2019).

Timbal asetat yang dipaparkan akan berubah menjadi ion Pb^{2+} didalam tubuh, dan akan menjadi inhibitor untuk aktivitas enzim SOD. Ion Pb^{2+} akan menggantikan kofaktor Zn/Cu dari enzim SOD, sehingga dapat menghambat atau bahkan menonaktifkan aktivitas enzim SOD (Gurer dan Ercal, 2000). Agar tercapai homeostasis dan tidak terbentuk stres oksidatif, maka antara kadar ion

superoksida ($O_2^{\cdot-}$) yang merupakan substrat dan enzim SOD harus seimbang. Paparan timbal asetat menyebabkan meningkatnya kadar ion superoksida, sehingga kadar enzim SOD juga akan meningkat untuk mengimbangi meningkatnya kadar superoksida (Vaziri *et al.*, 1999). Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol pada tumbuhan yang berperan sebagai senyawa alami antioksidan di dalam tubuh. *Curcumin* termasuk senyawa polifenol dalam kelompok flavonoid (Heri, 2018). *Curcumin* berperan sebagai pendonor atom H juga sebagai *chelating agent* atau mengkhelat ion Pb^{2+} yang sebelumnya berikatan dengan enzim SOD, sehingga enzim SOD dapat berikatan kembali dengan kofaktornya (Flora *et al.*, 2012). *Curcumin* sebagai antioksidan dapat menggantikan sel-sel yang rusak, menangkap oksigen yang dibutuhkan untuk oksidasi (ROS *scavengers*), serta mencegah kerusakan struktur sel hepatosit dengan cara meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (SOD) dari kerusakan oksidatif (Sugiharto *et al.*, 2019).

Berdasarkan pemaparan tersebut, perlu dilakukan penelitian terhadap pengaruh antioksidan *curcumin* terhadap kadar SOD dan profil protein hepar mencit (*Mus musculus* L.) yang dipapar timbal. Sehingga, penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan terhadap pembaca mengenai pengaruh antioksidan *curcumin* terhadap kadar SOD dan profil protein hepar mencit (*Mus musculus* L.) yang dipapar timbal.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut, dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh pemberian *curcumin* terhadap kadar SOD hepar pada mencit yang dipapar logam berat timbal dengan berbagai dosis?
2. Bagaimana profil protein hepar yang diberi *curcumin* pada mencit yang dipapar logam berat timbal dengan berbagai dosis?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki dua macam tujuan, yaitu tujuan fungsional dan tujuan operasional sebagai berikut:

1.3.1. Tujuan fungsional

Tujuan fungsional pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *curcumin* pada hepar mencit yang dipapar logam berat timbal berdasarkan pengujian terhadap kadar SOD dan profil protein heparinya.

1.3.2. Tujuan operasional

Tujuan operasional pada penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar SOD hepar dan profil protein hepar mencit dengan cara menghitung kadar SOD dan berat molekul pita protein hasil elektroforesis.

1.4. Asumsi Penelitian

Dalam penelitian ini, penulis memiliki asumsi bahwa mencit yang dipaparkan oleh timbal asetat peroral merupakan model manusia setelah terpapar logam berat setiap harinya. Akumulasi timbal dalam tubuh dapat berasal dari berbagai sumber seperti, kontaminasi bahan kimia, makanan, dan air. Timbal kemudian terserap ke dalam sistem pencernaan dan mengganggu sistem metabolisme. Peningkatan kadar timbal dalam hepar dapat menyebabkan timbal

mengikat kofaktor Cu/Zn, dimana kofaktor berfungsi untuk membantu aktivitas enzim. Peningkatan kadar timbal dalam hepar juga menyebabkan produksi ROS secara berlebih. Terikatnya kofaktor dan peningkatan aktivitas ROS menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD. Timbal yang masuk ke dalam tubuh dapat merusak beberapa ikatan protein dalam hepar yang mengakibatkan hilangnya jenis protein tertentu yang memiliki fungsi penting. *Curcumin* diduga memiliki kadar antioksidan tinggi, sehingga dapat meningkatkan kadar SOD serta mempertahankan protein yang dibutuhkan oleh tubuh setelah terpapar logam berat berupa timbal.

1.5. Hipotesis Penelitian

1.5.1. Hipotesis kerja

Hipotesis kerja pada penelitian ini adalah jika *curcumin* yang berperan sebagai zat antioksidan dapat menangkal senyawa radikal bebas yang disebabkan oleh logam berat timbal, maka *curcumin* akan dapat meningkatkan kadar SOD dan menunjukkan profil protein pada hepar mencit yang dipapar logam berat timbal.

1.5.2. Hipotesis statistik

Hipotesis statistik pada penelitian ini adalah:

H_{10} :Tidak ada pengaruh pemberian *curcumin* pada kadar SOD hepar mencit yang dipapar logam berat timbal dengan berbagai dosis.

H_{1a} :Ada pengaruh pemberian *curcumin* pada kadar SOD hepar mencit yang dipapar logam berat timbal dengan berbagai dosis.

1.6. Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah guna mengetahui manfaat *curcumin* sebagai zat antioksidan yang mampu mengatasi senyawa radikal bebas yang disebabkan oleh paparan logam berat timbal terutama pada organ hepar sebagai peran utama metabolisme.