

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kontaminasi dari logam merupakan masalah yang serius di dunia karena toksisitas dan non biodegradabilitas. Masuknya logam ke dalam rantai makanan dapat berasal dari pencemaran air dan tanah pada lahan pertanian yang kemudian diserap oleh tanaman. Logam yang paling sering terdeteksi di lingkungan adalah kadmium, seng, tembaga, arsenik, nikel, merkuri, kromium, timbal, dan aluminium (Rodriguez dan Mandalunis, 2018). Akumulasi beberapa logam di alam bisa menimbulkan dampak negatif tidak hanya bagi lingkungan, namun juga pada manusia jika didapatkan dengan jumlah yang berlebih, contohnya adalah akumulasi logam aluminium. Aluminium adalah zat yang dapat ditemukan di mana-mana secara alami, sebagai unsur paling melimpah ketiga di alam. Aluminium dapat secara sengaja maupun tidak sengaja digunakan dalam air, makanan, obat-obatan, dan vaksin yang dikonsumsi oleh manusia. Aluminium juga dapat ditemukan sebagai partikel dalam udara. Bentuk fisik dan kimia dari aluminium mempengaruhi penyerapan, akumulasi, dan bioavailabilitas sistemiknya. Variasinya yang tersebar luas dalam diet dapat menyebabkan asupan aluminium lebih tinggi daripada batas yang bisa ditoleransi oleh tubuh. Menurut WHO sendiri, ambang batas masukan logam Al yang ditoleransi oleh tubuh adalah 1 mg/kg berat badan. Toksisitas berbagai bentuk Al sangat bergantung pada bentuk fisik dan kelarutan relatifnya dalam air. Toksisitas Al terlarut, tergantung pada dosis Al^{+3} yang didistribusikan ke jaringan target. Akumulasi tersebut bisa mengakibatkan terbentuknya radikal bebas yang merusak unsur intrinsik dari sel (Willhite, 2021).

Akumulasi aluminium terbanyak berada di tulang, khususnya tulang femur. Setelah diserap oleh tubuh, aluminium akan dimasukkan ke matriks tulang dan diambil oleh osteoklas selama proses resorpsi tulang. Aluminium akan mengendap di permukaan tulang trabekular dan saluran vaskuler lalu menembus ke tulang kompak. Aluminium juga bisa terdeplesi pada permukaan periosteal dan endosteal (Rodriguez dan Mandalunis, 2018). Efek toksik dari aluminium pada tulang dapat menimbulkan fraktur disertai dengan osteomalasia, hipoparatiroidisme, dan anemia mikrositik. Aluminium menjadi sangat toksik untuk tulang karena dapat menimbulkan stress oksidatif akibat jumlah radikal bebas yang menumpuk, sehingga menyebabkan apoptosis osteoblas. Akumulasi aluminium biasanya didapatkan pada matriks mineralisasi dimana di dalam osteoblas terdapat kolagen tipe 1. Selain itu, aluminium menghambat pengendapan osteoid dengan merusak osteoblas secara langsung. Jika osteoblas mengalami kerusakan, resiko untuk mengalami fraktur secara spontan akan meningkat (Pratiwi, 2020).

Penelitian menggunakan tikus sehat yang diinduksi oleh $AlCl_3$ menunjukkan hasil akhir osteoporosis pada tulang femur. Hal tersebut dapat terjadi akibat ketidakseimbangan proses *bone formation* dan *bone resorption*. Aluminium menurunkan konsentrasi Ca dan P sehingga menghambat proses *bone formation*. Pada penelitian lain, aluminium dapat menginduksi *bone resorption* dengan meningkatkan aktivitas dari TRACP 5b dan NTX-1 serta menurunkan level CO-1 (Song *et al.*, 2020).

Kontaminasi aluminium pada tulang diasosiasikan dengan terjadinya penurunan *bone mineral density* (BMD) serta peningkatan risiko osteoporosis. Paparan aluminium bisa menghambat mineralisasi osteoblas. Jalur utama dalam menghambat mineralisasi osteoblas adalah melalui transformasi dari *growth factor β 1/ smad pathway* yang menjadi kaskade signaling utama dalam meregulasi mineralisasi osteoblas (Sun *et al.*, 2016). Disfungsi osteoblas yang disebabkan oleh Aluminium, juga dapat memainkan peran

penting dalam etiologi osteoporosis. Sudah terdapat bukti bahwa *bone formation* bisa dihambat oleh pemberian jangka panjang *aluminium chloride* (AlCl_3) melalui *down regulation Wnt/ β - catenin signaling pathway in vivo* pada hewan coba tikus. Hal tersebut mengindikasikan bahwa osteoblas memegang peran kunci dan dapat digunakan sebagai target terapi dari lesi tulang yang diinduksi aluminium (Zhu *et al.*, 2016). Pada penelitian lain menggunakan seratus ekor tikus wistar, tikus yang diberi perlakuan Al menunjukkan deposisi Ca, P, dan Mg yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus kontrol. Tingkat *trace element* (Zn, Fe, Cu, Mn, Se, B, dan Sr) secara signifikan lebih rendah pada kelompok yang diberi perlakuan dengan Al dibandingkan pada kelompok kontrol setelah 60 hari. BMD dari metafisis femur pada kelompok yang diberi perlakuan dengan Al juga didapatkan lebih rendah daripada kelompok kontrol. Temuan ini menunjukkan bahwa paparan Al jangka panjang mengurangi tingkat mineral dan *trace element* dalam tulang. Akibatnya, akan terjadi pengeroposan tulang (Li *et al.*, 2011).

Aluminium juga diserap oleh kelenjar paratiroid sehingga mengganggu sekresi hormon paratiroid (PTH). Efek Al untuk mengatur reseptor kalsium paratiroid (CaSR) masih belum jelas. Tidak ada efek Al pada CaSR yang terlihat dalam penelitian tikus. Namun, hasil akhir dari penelitian oleh Klein, hipoparatiroidisme fungsional dapat terjadi dengan diikuti terjadinya hiperkalsiuria. Hasil akhir dari perubahan ini adalah Al dapat menggantikan kalsium pada permukaan tulang, sehingga menyebabkan osteomalasia, hiperkalsemia, dan hiperkalsiuria. Selain itu, hiperkalsemia ringan juga dapat menyebabkan penekanan sekunder sekresi PTH. Bukti nyata dari terjadinya hipoparatiroidisme dapat dilihat dari pasien yang diberi nutrisi kalsium. Terlihat bahwa Al menghambat *uptake* dari kalsium oleh tulang. Hasil lain dari akumulasi Al di tulang dan kelenjar paratiroid adalah penghambatan enzim ginjal-2 hidroksivitamin D-1 alfa hidroksilase (25 (OH) D-1-alfa hidroksilase), yang mengubah 25 (OH) D menjadi 1 alfa,

25 dihidroksi vitamin D (Klein, 2019).

Pada studi *cross-sectional* yang dilakukan oleh Hellstorm *et al* menunjukkan tidak ada hubungan signifikan antara kandungan aluminium pada tulang dan *bone mineral density* (BMD) secara keseluruhan. Tetapi ada juga ilmuwan yang telah meneliti efek aluminium pada sel tulang secara *in vitro*, dan hasilnya agak bertentangan karena menunjukkan bahwa aluminium dapat memiliki efek negatif atau positif pada metabolisme tulang, atau tidak sama sekali. Faktanya, pada tikus osteopenik dengan fungsi ginjal normal, aluminium justru mampu menginduksi pembentukan tulang. Sebenarnya dalam penelitian sebelumnya, aktivitas osteoblastik yang tinggi dan aktivitas osteoklastik yang tinggi dapat terjadi secara bersamaan. Hal tersebut menunjukkan proses pergantian tulang yang tinggi dan merupakan faktor risiko independen patah tulang pada manusia. Namun sebaliknya, terdapat juga penelitian yang menunjukkan bahwa aluminium telah terbukti menghambat aktivitas osteoblastik dan memiliki efek negatif pada mineralisasi tulang. Secara tidak langsung, aluminium juga tampaknya memiliki efek negatif pada tulang dengan mengganggu pelepasan hormon paratiroid (PTH) dan sintesis PTH dengan akibat meningkatkan kadar kalsium serum, yang dapat mengubah homeostasis antara kalsium dan fosfor (Hellström, 2006).

Berdasarkan uraian di atas, efek toksik dari aluminium perlu diteliti lebih lanjut terlebih dalam beberapa penelitian melaporkan konsumsi aluminium melalui diet cukup tinggi, berkisar 3 sampai 30 mg/hari (Song *et al.* 2020). Efek utama yang dapat dilihat dari toksisitas aluminium yaitu pada osteoblas dan osteoklas yang dapat diamati secara histopatologi. Efek toksik aluminium paling mungkin disebabkan karena kemampuannya untuk membentuk radikal bebas sehingga menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat dilihat dengan melakukan pemeriksaan kadar MDA darah (Song *et al.* 2020). Pada penelitian oleh Song *et al.*, dampak osteoporosis diteliti menggunakan *X-ray*, dengan

hewan coba berusia 3 minggu dalam waktu 120 hari. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil jika hewan coba yang diinduksi dengan alumunium menunjukkan gambaran *X-ray* yang lebih terang atau dapat diartikan jika *bone mineral density* nya lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Berlandaskan dari penelitian tersebut, penulis ingin membuktikan efek toksik dari alumunium terhadap kepadatan tulang pada hewan coba dewasa berusia lebih tua, yaitu 12-15 minggu dengan waktu yang lebih singkat, sekitar 3 bulan. Penulis ingin meneliti efek toksik dari alumunium dengan menggunakan teknik pengamatan kuantitatif kepadatan tulang dan hitung jumlah osteosit, osteoblas serta osteoklas. Tingkat kepadatan tulang yang diukur pada penelitian ini tidak menggunakan *X-ray* seperti penelitian oleh Song *et al.*, namun dengan mengukur luas dari trabekula tulang. Hal tersebut menjadi latar belakang penulis untuk meneliti lebih lanjut efek pemberian AlCl_3 per oral terhadap morfologi jaringan tulang dan tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah jumlah osteosit, osteoblas dan osteoklas dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 selama 87 hari dengan dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan dosis 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari akan berbeda dibandingkan dengan tanpa perlakuan tersebut?
2. Bagaimanakah kepadatan jaringan tulang dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 selama 87 hari dengan dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama

20 hari dan dosis 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari?

3. Bagaimanakah perbedaan pemberian dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari terhadap kepadatan jaringan tulang dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh $AlCl_3$?
4. Bagaimanakah perbedaan pemberian dosis sebesar 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari terhadap jumlah osteosit, osteoblas dan osteoklas dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh $AlCl_3$?

1.3. Tujuan Penelitian

berdasarkan rumusan masalah diatas maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui efek toksik alumunium yang diberikan selama 87 hari dengan dosis yang berbeda yaitu 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari terhadap proses remodeling tulang serta kaitannya terhadap kepadatan tulang pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui jumlah osteosit, osteoblas dan osteoklas dari tikus putih jantan

(*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 selama 87 hari dengan dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan dosis 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari akan berbeda dibandingkan dengan tanpa perlakuan tersebut.

2. Mengetahui kepadatan jaringan tulang dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 selama 87 hari dengan dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan dosis 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari akan berbeda dibandingkan dengan tanpa perlakuan tersebut.
3. Mengetahui perbedaan pemberian dosis 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari terhadap kepadatan jaringan tulang dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 .
4. Mengetahui perbedaan pemberian dosis sebesar 64 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 128 mg/kg/hari selama 20 hari dan 128 mg/kg/hari selama 67 hari lalu dinaikkan menjadi 256 mg/kg/hari selama 20 hari terhadap jumlah osteosit, osteoblas dan osteoklas dari tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa yang diinduksi oleh AlCl_3 .

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.4.1. Manfaat Akademis

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan ilmiah mengenai efek toksik dari AlCl_3 terhadap proses remodeling tulang dan angka kejadian osteoporosis sekunder pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain wistar dewasa.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui efek toksik dari induksi AlCl_3 terhadap gangguan tulang, salah satunya adalah osteoporosis sekunder.