

## **EFEK PAJANAN KADMIUM (Cd) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) PADA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**Muhamad Hendy Arizal<sup>1</sup>, Eko Suhartono<sup>2</sup>, M. Bakhriansyah<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

<sup>2</sup> Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

<sup>3</sup> Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

Email korespondensi: [hendyarizal@yahoo.com](mailto:hendyarizal@yahoo.com)

**ABSTRACT: Cadmium (Cd) is heavy metal that pollutant in the environment.** Chronic intake of Cd induces toxicity on liver, kidney, and ovary. Cd could damage the tissue with stress oxidative damage mechanism. Malondialdehyde (MDA) is the product of lipid peroxidation used as a measure of lipid peroxidation and stress oxidative damage. This was an experimental laboratoric using two groups. The control group P(0) was given aquadest 2 ml per day for 4 weeks and the exposure group P(1) was given a solution of Cd with a concentration of  $1.2 \times 10^{-2}$  mg for 4 weeks. The results showed the mean of MDA level in the P(0) and the P(1) were 214.80  $\mu$ M and 232.00  $\mu$ M, respectively. Statistical analysis using Unpaired Test-T obtained the result  $p = 0.016$  ( $p < 0.05$ ). It can be concluded that Cd causes increased MDA levels in rats ovary.

**Keywords:** Cadmium, malondialdehyde, ovarium, oxidative stress, rats.

**ABSTRAK : Kadmium (Cd) merupakan logam berat bersifat polutan yang mencemari lingkungan.** Paparan kronik Cd berefek toksik terhadap hati, ginjal, dan ovarium. Cd merusak jaringan melalui mekanisme stres oksidatif. Malondialdehyde (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang menjadi parameter dalam mengukur kerusakan oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek paparan Cd terhadap kadar MDA ovarium tikus putih. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik yang dilakukan pada 2 kelompok, yakni kelompok kontrol P(0) yang diberi aquadest sebanyak 2 ml selama 4 minggu dan kelompok perlakuan P(1) yang diberi Cd dengan konsentrasi  $1,2 \times 10^{-2}$  mg dalam 2 ml aquadest setiap hari selama 4 minggu. Hasil penelitian didapatkan rerata pada kelompok kontrol P(0) sebesar  $214,80 \pm 22,90 \mu$ M dan pada kelompok perlakuan P(1) sebesar  $232,00 \pm 20,40 \mu$ M dengan nilai  $p = 0,016$  ( $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa Cd menyebabkan peningkatan kadar MDA pada ovarium tikus putih.

**Kata-kata kunci:** Kadmium, malondialdehyde, ovarium, stres oksidatif, tikus putih.

## PENDAHULUAN:

Kadmium (Cd) merupakan salah satu jenis logam berat. Bentuknya lunak, berwarna putih-keperakan, dan tergabung dalam golongan IIB pada tabel periodik bersama zink (Zn) dan merkuri (Hg). Cd memiliki nomor atom 48, titik leleh 321°C dan titik didihnya 765°C. Logam ini sangat mudah teroksidasi di dalam udara (1).

Sebanyak 75% Cd digunakan untuk produksi baterai, 12% untuk bahan dasar cat, 8% untuk pelapis baja, 4% untuk stabilisator, dan 1% untuk proses perindustrian lainnya. Logam ini sangat efisien untuk digunakan sebagai bahan kimia perindustrian (2,3).

Indonesia merupakan negara berkembang yang pengelolaan emisinya tergolong buruk, pembuangan limbah Cd sembarangan dapat mengakibatkan pencemaran tanah dan air. Hasil penelitian Athena *et al* pada tahun 2008 menyatakan bahwa, air laut Jakarta terkontaminasi logam berat terutama Cd. Pencemaran ini disebabkan oleh limbah domestik perkotaan atau industri, kemudian mencemari sungai di Jakarta yang bermuara ke teluk Jakarta (4).

Cd dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui berbagai macam cara, seperti melalui pajanan di tempat kerja karyawan-karyawan industri, rokok dan memakan makanan yang terkontaminasi oleh Cd itu sendiri. Cd diserap melalui saluran gastrointestinal, paru-paru, dan kulit (1).

Logam ini dapat menyebabkan beberapa efek negatif secara fisiologi dan reproduksi pada makhluk hidup. Hasil penelitian Roopha *et al* pada tahun 2010

menyatakan bahwa, Cd dapat merusak jaringan melalui mekanisme stress oksidatif. Setelah diabsorpsi oleh tubuh, Cd terakumulasi di dalam hati dan ginjal (5,6).

Selain berefek pada hati dan ginjal, Cd diduga dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada ovarium. Hal ini didasarkan atas sifat Cd yang mampu menembus barrier ovarium. Hasil penelitian Mori *et al* pada tahun 2009 menyatakan bahwa, induksi Cd pada burung puyuh berefek terhadap produksi telur dan perkembangan embrio burung puyuh di Jepang. Penanda stress oksidatif pada burung puyuh, seperti kadar metallothionein, glutasi peroksidase-1 mRNA, melondialdehyde (MDA), dan aktifitas katalase telah diteliti. Hasilnya menunjukkan bahwa, terjadi peningkatan dari ekspresi metallothionein mRNA, MDA, dan atrofi folikel ovarium. Hidup di lingkungan yang terpapar Cd dapat mengganggu proses fetomaternal dengan insiden abortus spontan (3,7).

Meski sudah banyak dijelaskan temuan-temuan ilmiah tentang efek Cd terhadap ginjal dan hati, belum ada data pendukung yang dapat dijadikan bukti ilmiah efek Cd terhadap ovarium tikus. Hal inilah yang menjadi dasar perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh Cd terhadap kadar MDA sebagai parameter stres oksidatif pada ovarium.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental dengan *posttest-only with control group design* untuk jangka waktu 4 minggu. Pada penelitian ini digunakan tikus putih

betina (*Rattus norvegicus*). Berdasarkan rumus federer didapatkan sebanyak 40 ekor dengan umur 10 minggu dan berat 130-180 gram. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ovarium tikus putih betina, aquadest, Cd yang dilarutkan, buffer fosfat, ether, 200  $\mu$ l TCA 100%, 100  $\mu$ l Na-Tiobarbiturat 1%, 250  $\mu$ l HCl 1 N. Alat yang digunakan pada penelitian meliputi alat-alat gelas kimia (PYREX<sup>®</sup>), sentrifuge (SENTURION<sup>®</sup>), spektrofotometer dengan  $\lambda = 500 - 600\text{nm}$ , plestinometer, mikropipet, neraca elektrik (GIBERTINI<sup>®</sup>), timbangan, alat bedah minor, sarung tangan, jarum pentul, styrofoam, kapas, kandang tikus, *aluminium foil*, lampu Bunsen, penjepit keras, dan pipet eppendorf.

Sebelum mendapat perlakuan, tikus diadaptasikan selama 1 minggu untuk memberikan kondisi fisik dan psikologis yang sama. Selama pemeliharaan, tikus putih diberi minum aquadest dan pakan yang sama. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok, yakni kontrol dan perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri atas 20 ekor tikus. Pada kelompok kontrol (Po), tikus putih diberi 2 ml aquadest dengan sonde setiap pagi sedangkan pada kelompok perlakuan (P1) tikus putih dipajankan Cd. Setelah 4 minggu, tikus dikorbankan menggunakan ether dan dilakukan pembedahan untuk mengambil ovarium untuk diperiksa kadar MDA. Ovarium dicuci dengan buffer fosfat pH 7, kemudian ditumbuk hingga berubah menjadi cairan. Kemudian diambil 5 ml lalu disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Setelah itu, diambil 200  $\mu$ L supernatan untuk diperiksa kadar

MDA. Tikus dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil ovarium dan diperiksa kadar MDA. Pembuatan sampel ovarium dibagi menjadi larutan dasar, larutan blanko, dan larutan uji. Kadar MDA diukur dengan alat spektrofotometer dan diambil absorbansinya. Kadar MDA pada larutan uji diambil berdasarkan kadar absorbansi pada larutan dasar.

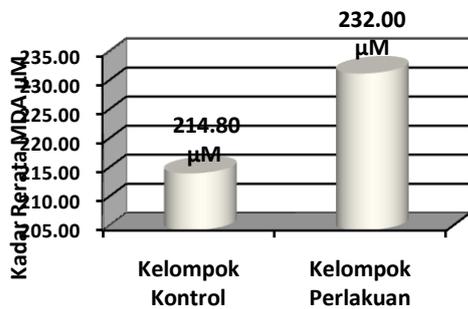
Data yang diperoleh kemudian ditabulasikan dan dihitung rata-ratanya pada masing-masing kelompok. Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji Shapiro-Wilk dengan  $\alpha=5\%$ . Data berdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Selanjutnya dilakukan uji parametrik t-test tidak berpasangan dengan tingkat kepercayaan 95%.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia/Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru pada bulan Mei sampai Agustus 2013.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah 4 minggu masa perlakuan, rata-rata berat badan tikus untuk kelompok kontrol didapatkan sebesar 159,25 gr dan kelompok paparan sebesar 147,26 gr. Tikus dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil ovarium dan diperiksa kadar MDA. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap tikus kelompok kontrol P(0) dan kelompok perlakuan P(1), diperoleh data kadar MDA masing-masing kelompok dengan jumlah data 20 pada kelompok kontrol dan 20 pada kelompok perlakuan. Selanjutnya dibuat data rata-rata masing-masing kelompok.

Data lebih jelas ditampilkan pada gambar 1.



**Gambar 1.** Perbedaan kadar MDA ( $\mu\text{M}$ ) pada ovarium tikus putih kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi paparan Cd

Hasil perhitungan pada gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA pada kelompok kontrol P(0) dengan kelompok perlakuan P(1). Rerata kadar MDA pada kelompok perlakuan P(1) yaitu  $232,00 \pm 20,40 \mu\text{M}$ , dan kadar ini lebih tinggi dibandingkan dengan rerata kadar MDA pada kelompok kontrol P(0) yaitu  $214,80 \pm 22,90 \mu\text{M}$ . Hal ini menunjukkan bahwa kadar MDA pada kelompok yang dipajankan Cd lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang tidak dipajankan Cd. Hasil Uji-t tidak berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ) dengan nilai  $p = 0,016$ .

Peningkatan kadar MDA ovarium pada kelompok perlakuan terjadi karena adanya induksi oleh Cd. Cd memberikan efek negatif terhadap fungsi biologis tubuh. Paparan Cd jangka panjang dapat memberikan efek toksik pada

manusia dan hewan. Induksi Cd menyebabkan peningkatan ROS sehingga meningkatkan aktivitas stres oksidatif yang diukur dengan parameter kadar MDA pada ovarium tikus. Paparan Cd masuk ke berbagai organ tubuh melalui sirkulasi darah. Cd masuk ke dalam ovarium dengan menembus barier ovarium. Selanjutnya Cd yang masuk di dalam ovarium akan merusak jaringan di sekitarnya secara tidak langsung dengan mekanisme stres oksidatif dan meningkatkan ROS. ROS adalah senyawa turunan oksigen yang lebih reaktif dibandingkan oksigen pada kondisi dasar. Contoh dari ROS adalah superoksida anion, hidroksil, peroksil,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dan lain sebagainya (7,8,9,10).

Pajanan Cd meningkatkan produksi  $\text{H}_2\text{O}_2$  di dalam sel. Peningkatan kadar ROS akan menginisiasi kerusakan oksidatif. Hal ini membuat fungsi dari metabolisme terganggu dan kerusakan integritas membran sel. Kadar ROS yang berlebihan akan meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid yang berdampak terhadap kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh (11,12).

Peroksidasi lipid adalah sebuah proses kerusakan oksidatif ditandai dengan terputusnya ikatan rantai asam lemak pada membran sel menjadi senyawa-senyawa yang bersifat toksik terhadap sel. Bukti utama adanya kerusakan oksidatif dapat dilacak melalui pengukuran penanda biokimia akibat peroksidasi lipid dan oksidasi protein. Pengukuran produk oksidasi tersebut dapat dilakukan pada plasma, urin, dan ovarium (12).

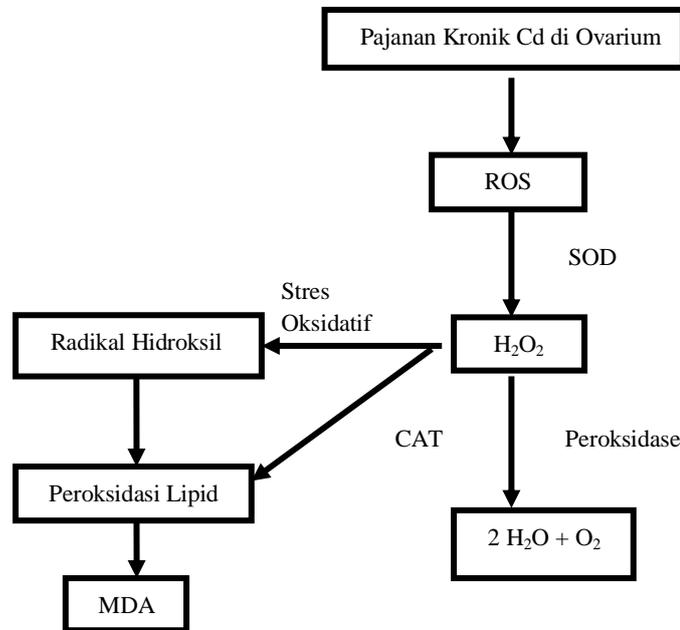
Secara normal sel akan merespon stres oksidatif melalui

pertahanan antioksidan dengan meningkatkan produksi enzim SOD, CAT, GSHPx, GR dan sistem perlindungan lain untuk mengurangi respon ROS yang berlebihan di dalam tubuh. Akan tetapi, produksi radikal bebas yang berlebihan akan merusak protein, lipid, dan DNA sehingga mengakibatkan transformasi sel atau kematian sel melalui mekanisme apoptosis atau nekrosis (12,13).

Parameter yang sering digunakan untuk mengukur akibat kerusakan dari peroksidasi lipid pada ovarium adalah MDA. MDA

merupakan indeks peroksidasi lipid dan dapat diukur melalui reaksi asam tiobarbiturat. Pada saat sel atau jaringan mengalami kerusakan, kompleks logam akan dilepaskan dari vakuola, organel, atau tapak pengasingan lain dalam sel. Sekali dilepaskan, ion logam tersebut akan berinteraksi dengan senyawa oksigen reaktif dan memperlambat proses peroksidasi lipid lebih jauh (5,8,9).

Skema proses reaksi Cd yang akan menyebabkan stres oksidatif dan mekanisme perlindungan tubuh dapat dilihat di gambar 2.



**Gambar 2.** Skema pengaruh Cd terhadap reaksi dalam tubuh

Akibat serangan radikal bebas maka akan terbentuk produk oksidatif yang sering digunakan sebagai penanda untuk menilai stres oksidatif. Dengan penilaian yang akurat terhadap penanda tersebut dapat diketahui kondisi patologis yang terjadi pada tubuh seseorang. MDA merupakan salah satu senyawa produk dari reaksi peroksidasi lipid. MDA diukur sebagai penanda

terjadinya stres oksidatif. Pada keadaan stres oksidatif yang tinggi, terjadi peningkatan kadar MDA serum secara signifikan. Bila kadar stres oksidatif teratasi, kadar MDA kembali menurun. Kadar MDA dapat diukur dalam darah, urin, jaringan dan cairan tubuh lainnya (13,14).

Kadar MDA pada kelompok kontrol juga terbentuk, Hal ini karena dalam keadaan normal MDA

juga terbentuk di dalam tubuh. ROS dapat dibentuk secara endogen yaitu dari dalam tubuh. Oksigen yang terhirup akan diubah oleh sel tubuh secara konstan menjadi ROS. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk ROS dan  $H_2O_2$  adalah sel polimorfonuklear, monosit dan makrofag. Produksi ROS secara fisiologis ini merupakan konsekuensi logis dalam kehidupan aerobik. Kadar MDA yang masih berada dalam kisaran fisiologis dapat dinetralkan dengan antioksidan endogen, sehingga tidak menjadi toksik bagi tubuh (9,13).

Penelitian sebelumnya yang mendukung penelitian ini yaitu penelitian Saad *et al* pada tahun 2012 yang menyatakan bahwa, Cd dapat meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid sehingga terdapat peningkatan kadar MDA. Dalam keadaan fisiologis ROS dinetralkan oleh antioksidan. Penelitian tersebut menjelaskan akumulasi Cd di jaringan plasenta dapat mengganggu fungsi fisiologis dari plasenta. Cd dapat merusak jaringan plasenta melalui toksisitas yang ditimbulkan pada enzim, membran sel, dan protein sitoplasma. Aktivitas peroksidasi lipid meningkat yang diukur melalui kadar MDA (10).

Penelitian Suhartono *et al* pada tahun 2013 menyatakan bahwa, Cd dapat menginduksi kerusakan oksidatif pada hati tikus dengan peningkatan kadar MDA dan  $H_2O_2$ . Pada penelitian ini dilakukan pemajanan Cd pada tikus dan hasilnya terjadi peningkatan kadar MDA dan  $H_2O_2$  pada hati tikus (15).

Penelitian lain yang menyebutkan bahwa Cd dapat meningkatkan kadar MDA diantaranya Wibowo *et al* pada tahun 2013. Disebutkan bahwa Cd dan Pb

memiliki efek toksik terhadap ginjal pada wanita hamil. Hal ini berhubungan dengan efek Cd dan Pb dapat menginduksi stres oksidatif yang menimbulkan gangguan fungsi ginjal (16).

## PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pajanan Cd meningkatkan kadar MDA pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibandingkan tikus putih yang tidak dipaparkan Cd, sedangkan secara khusus dapat disimpulkan rata-rata kadar MDA pada ovarium tikus putih kelompok tanpa pajanan Cd sebesar  $214,80 \pm 22,90 \mu M$ . Rata-rata kadar MDA pada ovarium tikus putih pada kelompok yang diberi pajanan Cd selama 4 minggu sebesar  $232,00 \pm 20,40 \mu M$ . Terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok tanpa pajanan Cd (kontrol), dengan kelompok yang dipajani Cd (perlakuan), dengan nilai  $p = 0,016$  ( $p < 0,05$ ).

Saran untuk penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur kadar MDA terhadap organ target selain ovarium. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang MDA dengan menggunakan hewan coba yang tingkatnya lebih tinggi dibandingkan tikus putih. Perlu dilakukan standarisasi prosedur anaestesi sebelum pembedahan untuk mengurangi tingkat stres tikus sebelum pembedahan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Yavuz C, Murat B, Onder K. environmental biology and pathophysiology of cadmium.

- IUFS Journal of Biology 2010; 69(1):1-5.
2. Boehme S, Panero M. Pollution prevention and management strategies for cadmium in the New York/New Jersey Harbor. New York: New York Academy of Sciences, 2003.
  3. Godt J, Scheidig F, Siestrup CG, et al. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 2006;1:22.
  4. Athena, Anwar M, Sukar. Risiko kesehatan masyarakat akibat konsumsi air bersih dan hasil laut yang mengandung kadmium di Kepulauan Seribu. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 2008; 1:678-688.
  5. Bernard A. Cadmium & its effect on human health. *Indian Journal Medicine* 2008; 128:557-564.
  6. Dailiah R, Savarimuthu M, Padmalatha, et al. Cadmium toxicity exposure -induced oxidative stress in postnatal development of wistar rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health sciences* 2010; 3(7):176-179.
  7. Makoto M, Shahidur R, Mariko M, et al. Acute effect of cadmium on female reproduction in birds. Athens : WSEAS Press, 2009.
  8. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. Elsevier Ireland Ltd 2011; 283:65-87.
  9. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39:44-84.
  10. Saad A, Hegazy NM, Amer HN, et al. The role of cadmium exposure on spontaneous abortion. *World Journal of Medical Sciences* 2012; 7(4):270-275.
  11. Viera A, Lukacinova A, Holovska K, et al. Effect of lifetime low dose exposure to cadmium on lipid metabolism of wistar rats. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 2012; 2(1):293-303.
  12. Suhartono E, Setiawan B, Yunanto A. Peran radikal bebas pada intoksikasi & patobiologi penyakit. Banjarmasin: Pustaka Banua Studio, 2009.
  13. Suhartono E, Setiawan B. Kapita selekta biokimia radikal bebas, antioksidan dan penyakit. Banjarmasin: Pustaka Banua, 2006.
  14. Alexander J, Benford D, Cockburn A, et al. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the european commission on cadmium in food. *The EFSA Journal* 2009; 980:1-139.
  15. Suhartono E, Triawanti, Yunanto A, et al. Chronic cadmium hepatooxidative in

rats: treatment with haruan fish extract. APCBEE Procedia 2013; 5:441-445.

16. Wibowo A, Rahaju FA, Firdaus RT, et al. The role of urinary cadmium and lead level on pregnant women renal function. Journal of Medical and Bioengineering 2013, 3:1.