

PERBEDAAN AKTIVITAS SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) PADA OTAK TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) AKIBAT RENDAMAN KADMIUM *in vitro*

Indro Ramadhana¹, Ahmad Husairi², Eko Suhartono³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat

²Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat

³Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat

Email korespondensi: indro.number6@gmail.com

Abstract: Cadmium is heavy metal shaped metal ions divalent non-essential that induces a toxic effect dangerous. Cadmium into the body, mainly the brain can lead to oxidative stress which that mediated by reactive oxygen species (ROS). ROS concentration in the brain regulated by superoxide dismutase (SOD) activity. SOD activity serves as enzymatic antioxidant to disorder caused by superoxide radical. This research is an experimental study that performed by making the brain of white rat homogenates than divided it into four groups: one control group (P0) and three treatment groups were exposed Cd (P1, P2, P3). The measurement results showed the average SOD activities in the group was P0 = 0.0129±0.0015, P1 = 0.0056±0.0008, P2 = 0.0034±0.0008 dan P3 = 0.0005±0.0003. the results of One Way Anova analysis, followed by Post-Hoc test, showed that there were significant differences between each treatment group.

Keywords: Cadmium, Brain, Superoxide Dismutase (SOD), reactive oxygen species (ROS)

Abstrak: Kadmium merupakan logam berat yang berbentuk ion logam divalent non-essensial yang menginduksi efek toksik berbahaya. Kadmium masuk ke dalam tubuh terutama otak dapat mengakibatkan stres oksidatif yang dimediasi oleh senyawa oksigen reaktif (SOR). Kadar SOR di dalam otak diatur oleh aktivitas *superoxide dismutase* (SOD). Aktivitas SOD berfungsi sebagai antioksidan enzimatik untuk gangguan yang diakibatkan oleh radikal superoksida. Penelitian ini bersifat studi eksperimental yang dilakukan dengan homogenat otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu satu kelompok kontrol (P0) dan tiga kelompok perlakuan yang dipajankan Cd (P1, P2, P3). Hasil pengukuran menunjukkan rerata aktivitas SOD pada kelompok P0 = 0.0129±0.0015, P1 = 0.0056±0.0008, P2 = 0.0034±0.0008 dan P3 = 0.0005±0.0003. Hasil analisis uji One Way Anova yang dilanjutkan dengan uji Post-Hoc menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna disetiap kelompok perlakuan.

Kata – Kata Kunci: Kadmium, otak, Superoksida Dismutase (SOD), senyawa oksigen reaktif (SOR)

PENDAHULUAN

Pencemaran logam berat meningkat sejalan dengan perkembangan industri. Pencemaran logam berat di lingkungan adalah penyumbang tingkat toksisitas yang sangat tinggi dalam kehidupan makhluk hidup. Salah satu jenis logam berat yang berbahaya bagi kehidupan makhluk hidup ialah Kadmium (Cd).¹ Kontaminasi Cd di lingkungan, melalui lapisan bumi dan aktivitas manusia. Kadmium merupakan unsur utama fosfat bebatuan dan terdeposit dalam lapisan bumi. Kadmium juga dapat ditemukan pada industri panas bumi, industri bahan bangunan, areal pertambangan, dan lain-lain.²

Menurut penelitian Almasiova *et all* pada tahun 2012, manusia pada umumnya terpajan Cd di tempat kerja atau melalui konsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi Cd. Makanan pokok yang dikonsumsi seperti nasi dan gandum juga merupakan salah satu penyebab pajanan Cd pada manusia. Sumber pajanan utama Cd pada populasi umum meliputi makanan dan rokok tembakau.³

Secara alami, logam berat yang berada di air laut memiliki konsentrasi yang sangat kecil. Hasil konsentrasi Cd menunjukkan nilai bervariasi dari waktu ke waktu. Konsentrasi tersebut diperkirakan akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan aktivitas industri.⁴ Kadmium yang ada pada perairan suatu saat akan mengendap pada dasar perairan, yang membentuk sedimentasi. Hal ini akan menyebabkan organisme yang mencari makan di dasar perairan (udang dan kerang) akan memiliki peluang yang besar untuk terpajan logam berat yang terikat di dasar perairan, organisme ini selanjutnya dikonsumsi manusia.⁵

Kadmium menginduksi toksisitas atau menyebabkan efek toksik melalui stres oksidatif yang dimediasi oleh senyawa oksigen reaktif (SOR).² Senyawa oksigen

reaktif merupakan hasil metabolisme aerob yang normal. Kelebihan stres oksidatif dapat mengganggu homeostasis selular, yang meningkatkan produksi SOR. Senyawa oksigen reaktif bereaksi terhadap lemak, protein, pigmen, dan asam nukleat, menghasilkan lipid peroksidase, merusak membran, dan dapat menginaktivkan berbagai macam aktivitas enzim yang mempengaruhi metabolisme selular.⁶ Senyawa oksigen reaktif tersebut bekerja dengan menarik elektron yang terdapat pada molekul biologis terutama pada membran sel dan membentuk radikal bebas baru dalam reaksi berantai oksidatif sitotoksik. Reaksi ini berlangsung secara berantai dan pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan sel.^{7,8}

Dalam mengatasi kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh SOR, tubuh memiliki sistem perlindungan yang kompleks dan komprehensif. Antioksidan enzimatik endogen yang berfungsi sebagai penetralisir SOR meliputi katalase, superoksida dismutase, dan glutathion peroksidase. Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan enzimatik yang aktivitasnya dapat dinilai berdasarkan kemampuannya dalam menghambat reaksi radikal superoksida.⁷

Dalam memperjelas mekanisme toksisitas Cd terhadap tubuh, khususnya pada otak, pada penelitian ini dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek pajanan Cd terhadap aktivitas enzim SOD pada otak.

METODE PENELITIAN

Subjek penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan umur 10 minggu dan berat sekitar 200-250 gram. Sebelum mendapat perlakuan, tikus diadaptasikan selama 1 minggu untuk memberikan kondisi fisik serta keadaan psikologis yang baik. Selama pemeliharaan, tikus putih diberi pakan yang sama.

Dilakukan perlakuan, yang sebelumnya dipuasakan dulu selama 4 jam.

Tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yakni P0 sebagai kelompok kontrol, P1 sebagai kelompok perlakuan pertama, P2 sebagai kelompok perlakuan kedua, P3 sebagai kelompok perlakuan ketiga. Dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Pada kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan P1, P2, dan P3, tikus putih diberi 2 mL aquadest setiap pagi selama 1 minggu. Setelah itu, tikus putih dikorbankan dengan menggunakan ketamin serta dilakukan pembedahan untuk diambil otaknya. Kemudian otak tersebut dimasukkan ke dalam larutan sukrosa EDTA dengan di sayat kecil otak sebelum dimasukkan dan diberi perlakuan.

- P0 : Otak tikus + inkubasi 1 jam
- P1 : Otak tikus + 0,003 mg/L CdSO₄ + inkubasi 1 jam
- P2 : Otak tikus + 0,3 mg/L CdSO₄ + inkubasi 1 jam
- P3 : Otak tikus + 3 mg/L CdSO₄ + inkubasi 1 jam

Pengukuran aktivitas SOD dalam supernatant diukur dengan metode misra dan fridovich. Sebanyak 500 mL supernatant ditambahkan ke 0.800 mL buffer karbonat (100 mM, pH 10.2) dan 100 mL efinefrin (3 mM). Perubahan absorbansi masing-masing sampel kemudian dicatat pada panjang gelombang 480 nm dengan spektrofotometer selama 2 menit pada selang waktu 15 detik. Demikian pula untuk larutan blanko dan standard, satu unit SOD didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dibutuhkan untuk menghambat 50% dari autooksidasi efinefrin. Campuran diencerkan 1/10 kemudian baca absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian perbedaan aktivitas superoksida dismutase (SOD) pada otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat rendaman kadmium (Cd) *in vitro* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Perbedaan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Otak Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Rendaman Kadmium (Cd) *in vitro*

Kelompok	n	Aktivitas SOD	
		Rata-rata ± SD	One Way Anova
P0	6	0,0129 ± 0,0015	0,000
P1	6	0,0056 ± 0,0008 ^a	
P2	6	0,0034 ± 0,0008 ^{a,b}	
P3	6	0,0005 ± 0,0003 ^{a,b,c}	

Keterangan :

- SOD : Superoksida Dismutase
- Cd : Kadmium
- n : besar sampel
- P0 : kelompok kontrol
- P1 : homogenat otak + 0,003 mg/L CdSO₄
- P2 : homogenat otak + 0,3 mg/L CdSO₄
- P3 : homogenat otak + 3 mg/L CdSO₄
- SD : standar deviasi
- a : ada perbedaan bermakna dengan P0
- b : ada perbedaan bermakna dengan P1
- c : ada perbedaan bermakna dengan P2

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan $p=0,000$, terdapat adanya perbedaan bermakna pada uji tersebut. Untuk mengetahui data yang menunjukkan perbedaan bermakna, maka dilakukan uji *Post-Hoc*. Uji *Post-Hoc One Way Anova* didapatkan hasil disetiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan salah satu hasil yang menunjukkan perbedaan bermakna pada P0 dan P1 : $p=0,000$ ($P<0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan bermakna pada uji ini.

Pemberian Cd dapat memberikan pengaruh terhadap homogenat otak, menunjukkan bahwa pemberian Cd 3 mg/L memberikan pengaruh berupa penurunan aktivitas SOD terhadap otak yang sama dengan pemberian Cd sebesar 0,003 mg/L serta 0,3 mg/L memberikan efek yang signifikan terhadap aktivitas SOD tersebut.

Menurut penelitian Winarsi *et al* pada tahun 2012, menjelaskan hipoksia juga menjadi salah satu faktor yang dapat meningkatkan stres oksidatif dengan memproduksi SOR berlebihan tanpa mengkompensasikan pada aktivitas enzim antioksidan.²² Antioksidan enzimatis adalah enzim-enzim yang mengkatalisis oksidan maupun radikal bebas yang reaktif dan menjaga keseimbangan oksidatif agar tidak terjadi peningkatan jumlah/kadar oksidan yang berlebihan.⁹

Peningkatan senyawa oksigen reaktif (SOR) menyebabkan stres oksidatif dan mengaktifasi sinyal inflamasi. Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara spesies reaktif seperti radikal bebas, oksidan dan pertahanan antioksidan. SOR yang termasuk oksigen, dan produk reduksi superoksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil, serta reaktif nitrogen spesies (RNS) seperti radikal bebas nitrik oksida dengan produknya.^{19,11} ROS dihasilkan oleh metabolisme oksigen dan memiliki satu elektron tak berpasangan yang menjadi sangat reaktif.¹²

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim yang penting dalam sel hidup untuk mempertahankan fisiologis normal dan untuk mengatasi stres.²² SOD juga merupakan antioksidan enzimatis yang dihasilkan oleh tubuh untuk mengatasi kerusakan oksidatif. Paparan Cd dapat menyebabkan terganggunya aktivitas enzimatis tersebut, sehingga Cd dapat mempengaruhi aktivitas SOD menjadi terhambat.¹³

Menurut penelitian Hamilton *et al* pada tahun 2015, bahwa aktivitas enzim SOD yang terpapar oleh Cd menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik. Pada konsentrasi Cd yang lebih tinggi dapat mengakibatkan terjadinya penurunan aktivitas enzim SOD.¹⁴ Antioksidan enzimatis SOD meningkat secara signifikan, disebabkan oleh peningkatan jumlah radikal bebas yang dihasilkan akibat paparan Cd.⁹

Menurut penelitian Gerspacher *et al* pada tahun 2009, bahwa kadmium dapat masuk ke sistem saraf pusat melalui jalur pernafasan atau dengan mengubah permeabilitas penghalang darah otak, dan dapat menyebabkan peroksidasi lipid merusak DNA dan perubahan homeostatis kalsium.¹⁵ Selain itu, juga dapat menurunkan kandungan glutathion, penurunan superoksida dismutase dan aktivitas glutathion S-transferase dalam otak tikus, menunjukkan bahwa Cd meningkatkan peroksidasi lipid dan stres oksidatif. Antioksidan dapat menangkali penurunan aktivitas ATPase dan peningkatan stres oksidatif yang diinduksi oleh Cd.¹⁶

Pada penelitian ini masih terdapat keterbatasan, dalam perlakuan kepada tikus sebelum dan sesudah dilakukan pembedahan, serta tingkat stres dari tikus yang berbeda, rentan untuk dikondisikan. Selain itu perlunya kompetensi yang lebih baik untuk mahasiswa dalam proses

pembedahan sampai pengambilan organ yang diperlukan waktu yang cepat agar tidak terjadi lisis pada sel organ tersebut, khusus organ yang peneliti gunakan yaitu otak, dari struktur anatomi yang kecil sehingga sulit diidentifikasi. Serta tahap pemberian bahan kadmium kepada organ tersebut. Adanya kelemahan pada penelitian ini terletak pada prosesnya yaitu secara *in vitro*, karena pada proses ini memiliki keterbatasan yang tidak mewakili seluruh aspek yang terjadi didalam tubuh. Kedepannya perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh paparan kadmium secara *in vivo*, khususnya otak.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang dapat disimpulkan bahwa aktivitas superoksida dismutase (SOD) pada homogenat otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang direndam kadmium dengan konsentrasi 3 mg/L lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya. Secara khusus dapat disimpulkan: (1) nilai rata-rata aktivitas SOD pada otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak direndam Cd sebesar 0,0129 mM, kelompok yang direndam Cd dengan konsentrasi 0,003 mg/L sebesar 0,0056 mM, kelompok yang direndam Cd dengan konsentrasi 0,3 mg/L sebesar 0,0034 mM, dan kelompok yang direndam Cd dengan konsentrasi 3 mg/L sebesar 0,0005 mM; serta (2) terdapat perbedaan nilai rata-rata aktivitas SOD yang bermakna secara statistik, kelompok tanpa rendaman Cd dengan kelompok rendaman Cd 0,003 mg/L $p=0,000$; $p<0,05$, kelompok tanpa rendaman Cd dengan kelompok rendaman Cd 0,3 mg/L $p=0,000$; $p<0,05$, serta kelompok tanpa rendaman Cd dengan kelompok rendaman Cd 3 mg/L $p=0,000$; $p<0,05$.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ernawati. Kerang Bulu (*Anadara inflata*) Sebagai Bioindikator Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) di muara Sungai Asahan. Medan: Universitas Sumatera Utara, 2010. Tesis.
2. Rumahlatu D. Biomonitoring: Sebagai Alat Asesmen Kualitas Perairan Akibat Logam Berat Kadmium pada Invertebrata Perairan. *Sainstis* 2012;1(5):10-34.
3. Almasiova V, Lukacinova A, Holovska L, 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.
4. Rahman A. Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada Beberapa Jenis Krustasea Di Pantai Batakan dan Takisung Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan. *Bioscientiae* 2006; 3(2):93-101.
5. Komari N, Irawati U, Novita E. Kandungan Kadmium dan Seng Pada Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*) Di Perairan Trisakti Banjarmasin Kalimantan Selatan. *Sains dan Terapan Kimia* 2013; 7(1): 42-49.
6. Heo DH, Baek IJ, Kang HJ, et al. Cadmium Regulates Copper Homeostasis by Inhibiting the Activity of Mac1, a Transcriptional Activator of the Copper Regulon, in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J* 2010; 431.
7. Suhartono E, Setiawan B. Kapita Selekta Biokimia Radikal Bebas, Antioksidan dan Penyakit. Banjarmasin: Pustaka Banua, 2006.

8. Triawanti dan Mashuri. Peran Bawang Putih Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Pengaruh Radikal Bebas Akibat Paparan Sinar Ultraviolet. Berkala Kedokteran FK UNLAM 2005; 4:28-34.
9. Suhartono E, Djati MS. Radikal Bebas dan Intosikasi Kadmium. Banjarmasin : Pustaka Banua, 2014:22-23.
10. Otitoju O, Onwurah I. Oxidative Stress and Superoxide Dismutase Activity in Brain of Rats Fed with Diet Containing Permethrin. Nigerian Society for Experimental Biology. 2008;20(2):93-98.
11. Franco MC, Dennys CN, Rossi F, et al. Superoxide Dismutase and Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Research Gate. 2013;5(1):141-158.
12. Noori S. An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. Open Access Scientific Reports. 2013;41(3):1-9.
13. Suhartono E, Fathurrahman, Iskandar. Gangguan Sistem Reproduksi Akibat Paparan Kadmium. Yogyakarta : Gosyen Publishing, 2015.
14. Hamilton MG, Esposito C, Malin M, et al. Effects of Copper and Cadmium on Development and Superoxide Dismutase levels in horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) embryos. Springer Plus. 2015;504(4):1-11.
15. Wang B, Yanli D. Cadmium and Its Neurotoxic Effects. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2013:10-22.
16. Gerspacher C, Scheuber U, Schiera G, et al. The Effect of Cadmium on Brain Cells in Culture. International Journal of Molecular Medicine. 2009;24(1):311-318.