

Dampak Kadmium terhadap Kadar Glukosa Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) in vitro

Valentina Halim¹, Eko Suhartono^{2*}, Agung Biworo³

Program Studi Pendidikan Dokter¹

Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler²

Departemen Farmakologi³

Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin.

*e-mail: ekoantioxidant@gmail.com

Abstrak

Mekanisme kadmium menginduksi toksisitas pada hepar yaitu dengan menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif menghambat enzim yang berperan dalam proses metabolisme glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan kadar glukosa pada homogenat hepar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan pada 4 kelompok: kelompok P0 yang tidak dipajankan Cd, kelompok P1 dipajankan Cd 0,03 mg/L, kelompok P2 dipajankan Cd 0,3 mg/L, dan kelompok P3 dipajankan Cd 3 mg/L. Hasil penelitian didapatkan rata-rata kadar glukosa pada kelompok P0 sebesar 21.667 μ M, kelompok P1 sebesar 33.278 μ M, kelompok P2 sebesar 69.889 μ M, dan kelompok P3 sebesar 150.667 μ M. Melalui uji statistik Kruskal-Wallis didapatkan perbedaan yang bermakna $p=0,000$ ($p<0,05$) dan uji pos hoc Mann-Whitney juga menunjukkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi kepekatan/konsentrasi pemajanan Cd terhadap homogenat hepar maka semakin tinggi pula peningkatan kadar glukosa pada hepar tikus.

Kata kunci: kadmium, glukosa, hepar

Cadmium Impact on Liver Glucose Level in White Rat (*Rattus norvegicus*) in vitro

Abstract

The mechanism of cadmium inducing hepatotoxicity is by creating oxidative stress. Oxidative stress inhibits enzymes which have a role in the process of glucose metabolism. This research aimed to analyze the differences of glucose level in the liver homogenate. This research was an experimental laboratory using four groups namely P0 group unexposed to Cd, P1 group exposed to Cd 0,03 mg/L, P2 group exposed to Cd 0,3 mg/L, and P3 group exposed to Cd 3 mg/L. The result showed the average levels of glucose in P0 group was 21.667 μ M, P1 group was 33.278 μ M, P2 group was 69.889 μ M, and P3 group was 150.667 μ M. Statistical analysis Kruskal-Wallis test found significant differences $p=0,000$ ($p<0,05$) and post hoc test using Mann-Whitney also showed significant differences in all groups. It can be concluded that the higher Cd concentration exposed to liver homogenate the higher elevation levels of glucose in the rat liver.

Keywords: cadmium, glucose, liver

PENDAHULUAN

Kadmium (Cd) merupakan salah satu jenis logam berat yang banyak dimanfaatkan untuk kehidupan manusia. Misalnya: senyawa CdS dan CdSeS banyak digunakan sebagai zat warna, CdSO₄ digunakan dalam industri baterai yang berfungsi untuk pembuatan sel Weston, CdBr₂ dan CdI₂ yang secara terbatas digunakan dalam dunia fotografi, (C₂H₅)₂Cd digunakan dalam mekanisme pembuatan tetraetil-Pb, dan masih banyak lagi (Cotuk dkk, 2010; Iskandar dkk, 2017). Selain bermanfaat, Cd juga merupakan polutan yang dapat merusak lingkungan sehingga terakumulasi didalamnya.

Berdasarkan hasil beberapa penelitian yang dilakukan oleh Komari dkk (2013) di perairan sekitar Pelabuhan Trisakti Banjarmasin Kalimantan Selatan ditemukan kandungan Cd. Adapun temuan Cd yang ditemukan sebagai berikut : di daerah perairan Basirih sebesar 0,034 ppm, Trisakti sebesar 0,03 ppm, dan Banjar Raya sebesar 0,029 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa kadar Cd pada daerah tersebut sudah melewati baku mutu yang ditetapkan oleh Keputusan Gubernur Kalimantan Selatan No.5 Tahun 2007, yaitu kandungan logam berat kadmium tidak boleh melebihi 0,01 ppm pada suatu perairan.

Kadmium dapat masuk kedalam tubuh manusia melalui saluran pencernaan, paru-

paru, dan kulit. Setelah memasuki sistem peredaran darah, Cd akan berikatan dengan sel darah merah dan protein yang memiliki berat molekul tinggi dalam plasma, khususnya oleh albumin. Selanjutnya Cd masuk ke dalam hepar untuk proses detoksifikasi. Di dalam hepar, Cd berikatan dengan protein yang memiliki berat molekul rendah, yakni *metallothionein* dan kemudian membentuk kompleks *Cd-metallothionein*. Kompleks *Cd-metallothionein* akan diangkut ke dalam membran sinusoid hepar dan dipecah ikatannya. Sebagian kadmium akan memasuki siklus entero-hepatik dan berikatan dengan *Cd-glutation* untuk dikeluarkan dari tubuh melalui sistem bilier. Sebagian lainnya akan tetap berada di hepar dan terakumulasi didalamnya (Bernard dkk, 2008).

Akumulasi Cd di hepar akan menginduksi terbentuknya stres oksidatif, seperti superoksida (O₂[•]), senyawa hidroksil (OH[•]), nitrit oksida (NO), dan hidrogen peroksida (H₂O₂) melalui reaksi fenton. Superoksida (O₂[•]), senyawa hidroksil (OH[•]), dan hidrogen peroksida (H₂O₂) yang terbentuk akan menyebabkan hepatotoksisitas yang ditandai oleh degenerasi sel hepar, gangguan biomarker fungsi hati, dan gangguan sintesis enzim yang berperan dalam metabolisme glukosa (Adikwu, 2013; Gill, 2014; Anindya, 2016).

Penelitian oleh Cicik (2005) menyatakan bahwa hewan coba yang diinduksi Cd menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah dan penurunan kadar glikogen pada hepar. Penelitian lain juga melaporkan bahwa induksi Cd berhubungan dengan peningkatan kadar HbA1c dalam darah pasien diabetes mellitus (Borne, 2014). Penelitian tentang pengaruh pajanan Cd terhadap kadar glukosa sudah banyak dilakukan terkait darah manusia dan hewan coba, tetapi belum banyak yang meneliti pengaruhnya pada hepar. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengkaji perubahan kadar glukosa pada hepar akibat induksi Cd.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental dengan *posttest-only with control group design*. Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 24 ekor berumur sepuluh minggu dan berat 200-250 gram dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 6 ekor. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, *aquadest*, CdSO₄ yang dilarutkan, glukosa, ketamin, buffer fosfat pH 7, Trikloro Asetat (TCA) 20%, fenol 3%, dan H₂SO₄ pekat. Alat-alat yang digunakan pada penelitian meliputi gelas kimia (PYREX[®]), gelas beker (Iwaki[®]), spuit,

sentrifuge (SENTURION[®]), *waterbath*, timbangan, jarum suntik, spektrofotometer (T80+[®]), mikropipet (Clinipet[®]), sarung tangan, neraca elektrik (GIBERTINI[®]), alat bedah minor, dan kandang tikus.

Pembuatan homogenat

Tikus putih diperoleh dari peternakan tikus di Samarinda. Tikus putih diaklimatisasi selama satu minggu untuk memberikan kondisi fisik dan psikologis yang sama. Selanjutnya tikus putih dikorbankan dengan menggunakan ketamin serta dilakukan pembedahan untuk diambil heparnya. Hepar dicuci dengan TCA 20% lalu difiksasi dalam larutan buffer fosfat pH 7 dan ditumbuk hingga berubah menjadi cairan (homogenat). Homogenat hepar dibagi sesuai perlakuan (Kania, 2016; Lestaris, 2016).

Perlakuan homogenat

Homogenat hepar kemudian diberi perlakuan sesuai dengan kelompok uji, yakni: kelompok homogenat P0 homogenat kontrol (tanpa perlakuan); P1= kelompok homogenat dipajankan 0,003 mg/L CdSO₄; P2=kelompok homogenat yang dipajankan 0,3 mg/L CdSO₄; P3= kelompok homogenat yang dipajankan 3 mg/L CdSO₄. Semua kelompok diinkubasi selama satu jam. Setelah selesai diinkubasi, masing-masing homogenat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit guna

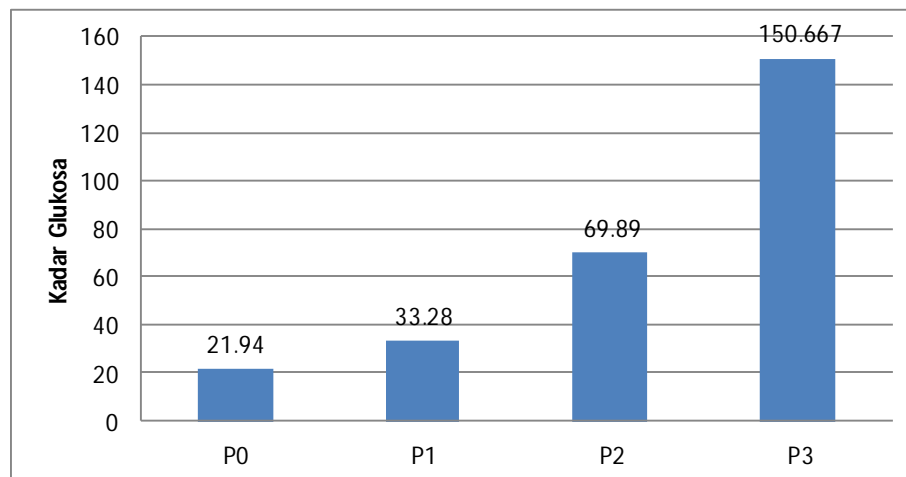
mendapatkan supernatan. Supernatan kemudian diambil untuk diperiksa kadar glukosa.

Pengukuran Glukosa (metode hidrolitik Dubois)

Untuk mengukur glukosa homogenat dilakukan dengan mencampurkan 0,5 mL homogenat hepar dengan 0,7 mL fenol 3% dan 2 mL H₂SO₄ pekat. Kemudian larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Iskandar dkk, 2017).

HASIL

Hepar berperan penting dalam mempertahankan konsentrasi glukosa normal. Dalam metabolisme karbohidrat, hepar berfungsi sebagai tempat untuk menyimpan glikogen dalam jumlah besar. Selain itu, juga untuk memecah galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, tempat glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia dari produk antara metabolisme karbohidrat (Suhartono dkk, 2015). Hasil pengukuran glukosa disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar glukosa hepar (μM) pada berbagai konsentrasi Cd

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis diperoleh $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap semua kelompok. Hal ini berarti pemberian Cd berbagai konsentrasi dapat meningkatkan kadar glukosa di hepar.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini glukosa hepar diperoleh dari pemecahan ikatan oligoglukosida dari glikogen oleh enzim amilase. Oligoglukosida kemudian dikatalisis oleh enzim oligoglukosidase menjadi glukosa sehingga hasil akhirnya akan ditemukan glukosa pada hepar normal

(Koyama, 2001; Suhartono, 2015). Penelitian ini juga mengungkapkan bahwa peningkatan konsentrasi Cd dapat menginduksi peningkatan kadar glukosa di hepar. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Sohba (2007) yang menyatakan bahwa kadar glukosa dapat meningkat pada organ hepar, otot, ginjal, dan jantung yang diinduksi Cd. Penelitian lain yang dilakukan oleh Al Rikabi dan Jawad (2013) juga menyatakan bahwa induksi kadmium dapat meningkatkan kadar glukosa pada darah.

Gangguan metabolisme glukosa pada hepar akibat induksi Cd dapat diakibatkan oleh beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut antara lain:

- (a) Kadmium dapat menghambat aktivitas enzim fosfofruktokinase (PFK) pada jalur glikolisis sehingga terjadi penurunan glikolisis yang mengakibatkan glukosa menumpuk di dalam sel karena tidak bisa diubah menjadi piruvat dan laktat (Almeida, 2001).
- (b) Cd dapat meningkatkan kadar kortisol plasma secara signifikan, yang akan meningkatkan kadar glukosa. Peningkatan kadar glukosa ini, kemudian akan meningkatkan aktivitas glikogenolisis dan glikogen yang tersimpan di dalam hepar akan dipecah menjadi glukosa-6-fosfat, kemudian menjadi glukosa. Pemecahan glikogen secara terus-menerus mengakibatkan

terjadinya penurunan pembentukan glikogen oleh glukosa sehingga kadar glukosa meningkat (Zahedi, 2012).

- (c) Kadmium menghambat aktivitas glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) sehingga oksidasi glukosa dan kadar laktat akan meningkat. Peningkatan kadar laktat ini juga terjadi karena terjadi karena kadmium menghambat aktivitas enzim laktat dehidrogenase (LDH) sehingga pemecahan glukosa menjadi piruvat menurun. Hasil akhirnya didapatkan glukosa yang meningkat (Carattino, 2004).
- (d) Cd dapat berikatan dengan gugus sulfihidril (-SH) yang terdapat dalam Na⁺-glukosa kotransporter 1, yakni protein pembawa glukosa sehingga terjadi perubahan pada struktur protein tersebut. Perubahan struktur ini berakibat pada berkurangnya aktivitas protein pembawa glukosa sehingga glukosa akan meningkat dan tertumpuk pada ekstrasel (Xiaobing, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan uji Kruskal Wallis terdapat perbedaan antar kelompok yang signifikan ($p= 0,000$) terhadap peningkatan kadar glukosa hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) in vitro yang diinduksi oleh Cd pada konsentrasi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikwu E, Deo O, Geoffrey OBP, 2013. Hepatotoxicity of cadmium and roles of mitigating agents. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4(6): 222-231
- Al Rikabi AA, Jawad AADH, 2013. Protective effect of ethanolic ginger extract against cadmium toxicity in male rabbits. *Bas J Vet Res*. 12(1): 13-29
- Almeida JA, Novelli ELB, SilvaMDP, Junior RA, 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental Pollution*. 114: 169-175
- Anindya, Muhyi R, Suhartono E, 2016. Risiko penyakit jantung koroner akibat pajanan kadmium melalui pengukuran kadar kolesterol dan circulating endothelial cells darah tikus putih. *Berkala Kedokteran*. 12(2): 153-163
- Bernard A. 2008. Cadmium and its adverse effect on human health. *Indian Journal of Medicine Research*. 128: 557-564
- Borne Y, Fagerberg B, Persson M, Sallsten G, Forsgard N, Hedblad B, et al. 2014. Cadmium exposure and incidence of diabetes mellitus-results from the malmo diet and cancer study. *Plos One*.9(11): 1-5.
- Carattino MD, Peralta S, Coll CP, Naab F, Burlon A, Kreiner AJ, et al, 2004. Effects of long-term exposure to Cu^{2+} and Cd^{2+} on the pentose phosphate pathway dehydrogenase activities in the ovary of adult *Bufo arenarum*: possible role as biomarker for Cu^{2+} toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 57: 311-318
- Cicik B, Engin K, 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). *Turk J Vet Anim Sci*. 29: 113-11
- Cotuk Y, Belivermis M, Kilic O, 2010. Environmental biology and pathophysiology of cadmium. *IUFES Journal of Biology*. 69(1): 1-5
- Gill M. 2014. Heavy metal stress in plants: a review. *International Journal*. 2(6): 1043-55
- Iskandar, Budianto WY, Suhartono E, 2017. Effect of cadmium exposure on increasing risk of diabetes melitus through the measurement of blood glucose level and liver glucokinase activity in rats. *Berkala Kedokteran*.13(2): 137-145
- Kania N, Iskandar Thalib, Suhartono E, 2016. Chlorinative Index in Liver Toxicity Induced by Iron. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 8(9): 1300-1304
- Komari N, Irawati U, Novita E., 2013. Kandungan kadmium dan seng pada ikan baung (*Hemibagrus nemurus*) di perairan Trisakti Banjarmasin Kalimantan Selatan. *Sains dan Terapan Kimia*. 7(1): 42-49
- Koyama I, Komine S, Iino N, Hokari S, Igarashi S, Alpers DA, Komoda T, 2001. α -Amylase expressed in human liver is encoded by the AMY-2B gene identified in tumorous tissues. *Clinica Chimica Acta*. 309: 73-83

Lestaris T, Alexandra FD, Jelita H, Suhartono E, 2016. Myeloperoxidase as an Indicator of Liver Cells Inflammation Induced by Mercury. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 8(11): 1516-1521

Sobha K, Poornima A, Harini P, Veeraiah K, 2007. A study on biochemical changes in the fresh waterfish, *Catla catla* (Hamilton) exposed to the heavymetal toxicant cadmium chloride. *Kathmandu University Journal of Science Engineering and Technology*. 1(4): 1-11

Suhartono E, Iskandar, Santosa PB, 2015. Ameliorative effects of different parts of gemor (*Nothaphoebe coriacea*) on cadmium induced glucose metabolism alteration in vitro. *Int J Pharm Pharm Sci*. 7(11): 17-20

Xiaobing X, Gang W, Yanchun P, Ming-Gene T, Jimmy J, Hongqing F, 2005. The endogenous CXXC motif governs the cadmium sensitivity of the renal Na^+ /glucose co-transporter. *Journal of the American Society of Nephrology*. 16: 1257–1265

Zahedi S, Mirvaghefi A, Rafati M, Mehrpoosh M, 2012. Cadmium accumulation and biochemical parameters in juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, upon sublethal cadmium exposure. 12(3): 1-9