

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari pemberian ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap paparan logam kadmium yang menyebabkan hepatotoksik selama 7 hari perlakuan dengan menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebelumnya telah dilakukan adaptasi selama 10 hari pada hewan coba tikus putih untuk penyesuaian pakan dan lingkungan. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan tikus putih yang akan digunakan dalam menentukan pemberian perlakuan terhadap tiap kelompok sesuai dengan dosis. Perlakuan penelitian diberikan kepada hewan coba tikus putih berupa induksi kadmium klorida ( $CdCl_2$ ) dosis 3mg/kgBB dilakukan dengan cara sonde lambung setelah adaptasi selesai. Pemberian logam kadmium pada hewan coba menggunakan metode sonde lambung diberikan sesuai dengan penimbangan berat badan pada tiap tikus. Pemberian perlakuan dosis  $CdCl_2$  pada penelitian ini sejalan dengan penelitian (Abdelaziz, Elhabiby and Ashour, 2013), menunjukkan bahwa keterpaparan  $CdCl_2$  dosis 3 mg/kgBB selama 72 jam pada spesies kelinci menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT sebesar 49,5% dan 73,3% dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa adanya perlakuan. Sehingga, pemberian  $CdCl_2$  pada dosis tersebut dimaksudkan dapat memberikan efek toksik pada organ hati (hepatotoksik) hewan coba selama 10 hari perlakuan.

Logam kadmium memiliki kemampuan untuk dapat terakumulasi dalam tubuh yang dapat menyebabkan anemia, hipertensi, gagal jantung, disfungsi ginjal hingga osteoporosis (Sebastian and Prasad, 2014). Beberapa penelitian telah

menunjukkan kerusakan pada beberapa organ dalam tubuh akibat paparan kadmium, utamanya pada hati. Kadmium menginduksi apoptosis dan atau nekrosis pada pengamatan secara *in vitro* dalam sel maupun secara *in vivo*. Keterpaparan kadmium secara akut meningkatkan akumulasi kadmium di dalam hati (Yazihan *et al.*, 2011).

Peningkatan kadar kadmium terjadi pada kelompok Kontrol Positif setelah dilakukan induksi CdCl<sub>2</sub> dengan kadar kadmium darah 0,10275 µg/dL paling tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan melalui sonde lambung berhasil meningkatkan kadar kadmium darah. Pada kelompok kontrol negatif dengan rerata kadar kadmium darah 0,06725 µg/dL menunjukkan kadar kadmium tubuh yang normal karena tidak diinduksi dengan kadmium. Sedangkan kelompok plasebo dengan rerata kadar kadmium darah 0,068 µg/dL menunjukkan bahwa perlakuan CMC.Na tidak mempengaruhi toksokinetik kadmium dalam tubuh. Hasil pemeriksaan kadmium pada kelompok Kontrol Positif dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif sesuai dengan penelitian (Toppo *et al.*, 2015) dimana terjadi peningkatan kadar kadmium setelah dilakukan induksi CdCl<sub>2</sub> dosis 200 ppm pada tikus putih selama 28 hari.

Induksi kadmium dalam hewan coba secara *in vivo* telah menunjukkan efek hepatotoksik, dimana kadmium memiliki kemampuan untuk berikatan dengan kelompok *sulfhydryl* yang berperan pada molekul mitokondria, menonaktifkan enzim *sulfhydryl* dan menyebabkan stress oksidatif, sehingga mengarah pada kematian sel berkaitan dengan apoptosis dan autofagi (Zou *et al.*, 2021) (Hormozi *et al.*, 2018). Kematian sel (apoptosis, autofagositosis atau nekrosis) pada hati

menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT akibat peningkatan permeabilitas membran sel dalam melepaskan enzim transaminase dalam darah (Toppo *et al.*, 2015). Peningkatan kadar SGOT dan SGPT sebagai enzim aktivitas fungsi hati merupakan penanda utama hepatotoksik dari adanya keracunan kadmium (Alshubaily and Soluman Almotairi, 2020).

Pada pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT, setelah dilakukan pemberian  $\text{CdCl}_2$  3 mg/kgBB pada kelompok Kontrol Positif memiliki kadar SGOT 235,85 U/L dan kadar SGPT 60,4 U/L, dimana menunjukkan kadar SGOT dan kadar SGPT terendah jika dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif dan kelompok Plasebo. Namun, perbedaan pada hasil pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT pada ketiga kelompok tersebut tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan setelah dilakukan analisa secara statistik menggunakan uji *One-way Anova*. Penelitian ini sesuai dengan penelitian (Zou *et al.*, 2021) bahwa setelah dilakukan pemeriksaan kadar SGPT tidak ditemukan perbedaan secara signifikan pada kelompok tanpa diberi perlakuan dengan kelompok perlakuan induksi kadmium dosis 50 mg/L pada tikus selama 90 hari. Namun, tetap terdapat perbedaan secara signifikan pada kadar SGOT dari kelompok penelitian tersebut. Terdapat ketidaksesuaian pada penelitian (Toppo *et al.*, 2015) bahwa pada kelompok mencit dengan perlakuan  $\text{CdCl}_2$  200 ppm setiap hari memiliki nilai kadar SGOT dan SGPT lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok mencit sebagai kelompok kontrol. Ketidaksesuaian hasil pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh lama perlakuan induksi kadmium dimana penelitian tersebut adalah 28 hari. Penelitian (Juliati *et al.*, 2016) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada lama keterpaparan logam  $\text{CdSO}_4$  dosis 3 mg/L terhadap kadar malodialdehid

(MDA) sebagai penanda biologis adanya kerusakan jaringan hati tikus putih akibat stress oksidatif pada keterpaparan 2 minggu, 4 minggu dan 6 minggu. Maka waktu penelitian dapat mempengaruhi kadar penanda biologis adanya kerusakan hati.

Dalam mengatasi terjadinya hepatotoksik akibat induksi kadmium yang menyebabkan kerusakan pada sel-selnya, maka diberikan perlakuan berupa ekstrak daun kelor pada kelompok perlakuan dengan 3 variasi dosis (mg/kgBB). Ekstrak daun kelor didapatkan dengan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 2 hari dengan melakukan perendaman simplisia daun kelor sebanyak 300 g dalam pelarut yang sesuai untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dalam daun kelor, kemudian dilakukan remaserasi kembali selama 2 hari. Prosedur tersebut sesuai dengan penelitian (Bennour *et al.*, 2021) yang menggunakan metode remaserasi dengan pelarut yang sesuai dengan menunjukkan kandungan quercetin tertinggi. Kemudian untuk mendapat ekstrak daun kelor yang murni tanpa adanya sisa pelarut dalam ekstrak maka dilakukan evaporasi dengan alat IKA RV 10 *Rotary Evaporator* dengan kecepatan rotasi 55 rpm, selama 3x6 jam. Pada proses ekstraksi didapatkan berat ekstrak daun kelor kental sebesar 50,504 gram.

Pada kelompok perlakuan lain sebagai upaya intoksikasi setelah diinduksi CdCl<sub>2</sub> kemudian tikus putih diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 400 mg/kg BB pada kelompok Perlakuan 1, 500 mg/kgBB pada kelompok Perlakuan 2, dan 600 mg/kgBB pada kelompok Perlakuan 3 secara sonde lambung. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak daun kelor menggunakan CMC. Na 0,5%. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Irawan, 2019) terkait dengan penambahan CMC.Na 0,5% sebagai *suspending agent* pada kelompok perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh.

Dari hasil pemeriksaan kadmium, dapat dilihat bahwa rerata kadmium darah seluruh kelompok perlakuan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) lebih rendah dibandingkan dengan rerata kadar kadmium pada kelompok Kontrol Positif yang hanya diberikan perlakuan CdCl<sub>2</sub>. Kadar kadmium darah setelah diberi ekstrak daun kelor pada Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 (0,0605 µg/dL; 0,075 µg/dL; 0,08125 µg/dL) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Gold Standar (0,0925 µg/dL). Hal tersebut menunjukkan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berperan sebagai *chelating agent* lebih baik dibandingkan dengan vitamin C. Dalam studi (Kerdsomboon *et al.*, 2016), melaporkan bahwa Quercetin memiliki aktivitas pemungutan radikal bebas yang kuat dan kapasitas *chelating* logam, terutama untuk logam kadmium. Penelitian (Kerdsomboon, Chumsawat and Auesukaree, 2021) menunjukkan penghambatan akumulasi logam kadmium dalam jaringan akibat adanya gugus karboksil dan hidroksil sebagai *chelating agent* yang baik pada ekstrak daun *Moringa oleifera*.

Terjadi peningkatan rerata kadar kadmium darah pada kelompok perlakuan ekstrak daun kelor secara berurutan walaupun tidak signifikan. Hal tersebut menunjukkan pemberian ekstrak daun kelor belum maksimal ditinjau dari lama waktu perlakuan. Penelitian ini merupakan penelitian pertama untuk pemeriksaan kadar kadmium darah yang dibandingkan dengan tiap kelompok perlakuan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada dosis 400 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 600 mg/kg BB dengan lama waktu perlakuan selama 7 hari.

Pemeriksaan kadmium darah pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui derajat keterpaparan kadmium secara akut akibat dari waktu perlakuan yang diberikan kepada hewan coba setelah diinduksi kadmium. Kadar kadmium

darah tidak disarankan untuk dijadikan sebagai penunjang proses evaluasi keparahan penyakit karena kadmium memiliki paruh waktu yang relatif panjang dalam darah (Hong, Min and Min, 2021). Sehingga, tidak terdapat keterkaitan antara kadar kadmium darah hewan coba dengan kadar SGOT dan SGPT sebagai evaluasi keparahan hepatotoksik.

Berdasarkan hasil pemeriksaan didapatkan rerata kadar SGOT dan SGPT pada tiap kelompok perlakuan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan dosis 400 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB menurun secara berurutan. Nilai rerata kadar SGOT dan SGPT kelompok Perlakuan 1 adalah 260,175 U/L dan 143,85 U/L, pada kelompok Perlakuan 2 adalah 250,925 U/L dan 77,575 U/L, pada kelompok Perlakuan 3 171,475 U/L dan 66,075 U/L. Nilai rerata SGOT dan SGPT pada kelompok Gold Standar adalah 186,55 U/L dan 74,85 U/L, sedangkan pada kelompok Kontrol Positif adalah 235,85 U/L dan 60,4 U/L. Dari data rerata kadar SGOT dan SGPT menunjukkan kelompok Perlakuan 3 memiliki kadar SGOT dan SGPT lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Gold Standar, Perlakuan 1 dan Perlakuan 2. Kelompok Perlakuan 3 memiliki rerata kadar SGOT lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Kontrol Positif.

Penurunan kadar SGOT dan SGPT pada hewan coba tikus putih disebabkan oleh kemampuan hepatoprotektif oleh daun kelor (*Moringa oleifera*) Daun kelor dikenal memiliki kandungan flavonoid, vitamin A, vitamin C dan beberapa komponen fenol yang tinggi sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif pada membran sel (Alshubaily and Soluman Almotairi, 2020). Penelitian (Singh *et al.*, 2014) menyatakan bahwa daun kelor (*Moringa oleifera*) juga memiliki senyawa flavonoid berupa *quercetin* dan *kaempferol* yang berkaitan dengan potensi

hepatoprotektif, dimana pada kelompok tersebut dapat menetralkan radikal bebas akibat induksi kadmium, selain itu gugus hidroksil juga meningkatkan perbaikan sistem antioksidan terhadap stress oksidatif pada jaringan hati mamalia, didukung dengan penelitian oleh (Ulusoy and Sanlier, 2020) dan (Kerdsomboon *et al.*, 2016). Penelitian (Kou *et al.*, 2018) juga menyatakan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat mengembalikan tingkat *glutathione* dan mencegah adanya peroksidasi lipid di hati, khususnya pada pemberian secara oral yang signifikan terhadap kemampuan hepatoprotektif terhadap kerusakan hati.

Hasil analisa statistika menggunakan Uji *One-way Anova* pada kadar kadmium dan SGOT didapatkan tidak adanya perbedaan secara signifikan pada seluruh kelompok perlakuan. Hasil analisa statistika menggunakan Uji *Kruskal wallis* pada kadar SGPT seluruh kelompok perlakuan juga ditemukan tidak adanya perbedaan secara signifikan. Hasil pemeriksaan kadar SGOT dan kadar SGPT pada penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian (Alshubaily and Soluman Almotairi, 2020), yang ditunjukkan pada terjadinya penurunan kadar SGOT dan SGPT secara signifikan setelah dilakukan induksi  $CdCl_2$  sebanyak 11 mg/kgBB pada kelompok perlakuan ekstrak aquades-daun kelor dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB selama 4 minggu.

Dalam penelitian ini, terdapat keterbatasan yakni lama perlakuan pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). Perbedaan lama pemberian ekstrak daun kelor dapat mempengaruhi kemampuan dalam menurunkan SGOT dan SGPT pada hewan coba yang ditunjukkan pada penelitian (Toppo *et al.*, 2015) selama 28 hari didapatkan penurunan kadar SGOT 14,86% dan kadar SGPT 26,032% dengan ekstrak daun kelor 200 mg/kgBB. Pada penelitian (Alshubaily and Soluman

Almotairi, 2020) selama 4 minggu didapatkan penurunan kadar SGOT dan SGPT kelompok ekstrak daun kelor dosis 250 mg/kgBB sebesar 28,93% dan 21,18%, kemudian pada kelompok dosis 500 mg/kgBB sebesar 36,38% dan 27,673%. Sedangkan pada penelitian ini dengan lama perlakuan 1 minggu ekstrak daun kelor dosis 400 mg/kgBB didapatkan peningkatan kadar SGOT dan kadar SGPT 10,31% dan 138,1 %, pada dosis 500 mg/kgBB didapatkan peningkatan 6,39% dan 28,42%, pada dosis 600 mg/kgBB didapatkan penurunan kadar SGOT 27,29 % dan peningkatan kadar SGPT 9,39% dibandingkan dengan kelompok Kontrol Positif. Maka lama perlakuan dapat mempengaruhi kemampuan ekstrak daun kelor dalam mengatasi hepatotoksik pada organ hati. Stress yang dialami hewan coba dapat berpotensi mempengaruhi stress oksidatif yang merusak integritas sel (Chukwuebuka *et al.*, 2021), dimana stress terjadi pada kelompok perlakuan akibat kurang adaptasi perlakuan sonde dan hewan coba yang berkelahi akibat proses *breeding* yang tidak sama.

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dosis 600 mg/kgBB memberikan efek hepatoprotektif lebih baik dibandingkan dengan dosis ekstrak daun kelor 400 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan vitamin C ditinjau dari kadar SGOT dan SGPT sebagai penanda kerusakan hati. Penelitian ini menunjukkan bahwa daun kelor berpotensi memiliki kemampuan *chelating agent* dan hepatoprotektif pada keterpaparan kadmium selama 10 hari dengan penurunan yang tidak signifikan pada seluruh kelompok.

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini membutuhkan daun kelor segar sebanyak 500 g, yang kemudian diubah menjadi serbuk untuk dilakukan maserasi dan evaporasi hingga didapatkan 50,504 g ekstrak daun kelor kental. Pada kelompok

perlakuan 3 dengan ekstrak daun kelor dosis 600 mg/kgBB membutuhkan 2,961 g ekstrak daun kelor kental untuk 4 ekor tikus selama 7 hari. Sehingga ekstrak daun kelor yang dibutuhkan pada 1 tikus adalah sebesar 0,10575 g/hari. Pemanfaatan hasil penelitian ini untuk manusia dapat menggunakan daun kelor segar, dimana daun kelor segar yang setara dengan 0,10575 g/hari ekstrak kental daun kelor pada tikus dengan berat badan 176,25 g adalah 1,0469 g/hari. Pada perhitungan dari daun kelor segar yang telah disesuaikan dengan berat badan manusia (70 kg) untuk setara dengan ekstrak daun kelor dosis 600 mg/kg dari tikus putih adalah 66,522 g/hari. Sehingga daun kelor (*Moringa oleifera*) segar sebanyak 66,522 gram dapat diberikan pada manusia setiap hari untuk mengatasi kerusakan organ hati akibat keterpaparan kadmium secara akut.