

**PENGARUH LAMA PAJANAN LOGAM BERAT KADMIUM (Cd)
TERHADAP KADAR KALSIUM (Ca) DAN KADAR FOSFAT PADA TULANG
TIKUS PUTIH (*Rattus novvergicus*)**

Emmi Erliyanti¹⁾, Emmy Sri Mahreda²⁾, Triawanti³⁾, Eko Suhartono³⁾

- 1) Program Studi Magister Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan
Program Pascasarjana Universitas Lambung Mangkurat
2) Fakultas Perikanan Universitas Lambung Mangkurat
3) Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat

Keywords: Cadmium, Bones, Ca and Phosphate

Abstract

This study aimed to analyze the long exposure to Cadmium (Cd) on the levels of calcium and phosphate bone white mice. This study uses a white rat bone exposed and unexposed Cd were 24 male rats were divided into 4 groups for 0, 2, 4 and 6 weeks. After the surgery and then measured levels of calcium and phosphate bone white mice. The results showed that there were significant differences in the levels of Ca between control and treatment groups. White rat bone Ca levels decreased respectively 118,067 mg/gram of bone; 87,267 mg/gram of bone; 39,667 mg/gram of bone and 13,067 mg/gram bone at weeks 0, 2, 4 and 6. The results of statistical tests performed by Kruskal-Wallis ($p=0.000$; $p<0.05$), it is stated that long exposure to Cd can significantly reduce levels of Ca in the bones of mice. This happens due to a decrease in absorption in the intestine Cd Cd compete with, so that the levels of Ca in bones decreased. In addition the research also showed levels of phosphate bone consecutive weeks 0, 2, 4 and 6 is equal to 335,583 mg/L; 258,583 mg/L; 251,833 mg/L and 208,667 mg/L. Results of statistical tests performed by Kruskal-Wallis ($p=0.116$; $p>0.05$), which means that exposure to Cd can not lower phosphate levels significantly due to the reciprocal relationship between Ca and P which resulted in secretion of parathyroid hormone so the bone does not release phosphate in the number of great. Thus concluded that exposure to heavy metals cadmium (Cd) for 6 weeks can reduce bone calcium white mice, but have not been able to reduce levels of phosphate bone white mice significantly.

Pendahuluan

Sektor pertanian sampai saat ini merupakan sektor yang strategis dan berperan penting dalam perekonomian nasional. Sektor ini mampu menjaga kelangsungan hidup masyarakat, terutama dalam sumbangan terhadap Produk Domestik Bruto (PDB), penyedia lapangan kerja, dan penyediaan pangan dalam negeri. Industri pertanian bertujuan meningkatkan jumlah dan kualitas produksi yang dapat meningkatkan pendapatan. Hal ini memicu penggunaan pestisida dan pupuk yang tidak terkendali (Purnawati, 2008). Misalnya

penggunaan pupuk fosfat secara terus-menerus akan menyumbang Cd ke dalam tanah sebesar 2,0-7,2 g ha/tahun (Widaningrum *et al*, 2007; Susana *et al*, 2013). Akumulasi Cd yang terjadi di dalam tanah akan mengakibatkan Cd diserap oleh tumbuhan sehingga terjadi bioakumulasi Cd pada tumbuhan tersebut. Cd yang terdapat dalam lahan pertanian juga dapat mencemari air tawar maupun laut. Hal tersebut dikarenakan senyawa-senyawa yang mengandung Cd terlarut dan masuk ke dalam perairan. Selanjutnya, Cd mengalami transformasi menjadi senyawa yang persisten dan sangat toksik.

Cd merupakan logam berat yang lama dimanfaatkan oleh manusia untuk kepentingan berbagai macam bahan industri. Misalnya: senyawa CdS dan CdSeS banyak digunakan sebagai zat warna, CdSO₄ digunakan dalam industri baterai yang berfungsi untuk pembuatan sel Weston, CdBr₂ dan CdI₂ secara terbatas digunakan dalam dunia fotografi, (C₂H₅)₂Cd digunakan dalam proses pembuatan tetraetil-Pb, dan masih banyak lagi. Selain bermanfaat, buangan industri yang mengandung Cd dapat masuk ke dalam perairan dan akan mengalami transformasi menjadi senyawa Cd yang persisten dan sangat toksik.

Kasus keracunan Cd pernah terjadi di beberapa negara di dunia, dan salah satunya terjadi di Jepang pada tahun 1974. Pencemaran tersebut disebabkan oleh pembuangan limbah pertambangan Pb – Zn yang mengandung Cd ke aliran sungai Jintsu. Meluapnya sungai yang tercemar telah menggenangi daerah pesawahan, yang berakibat pada terserapnya Cd oleh tanaman padi. Hal ini berdampak pada kandungan Cd dalam padi mencapai > 3,4 µg Cd/kg.

Mekanisme pengaruh Cd terhadap tulang pada penyakit tersebut sampai saat ini masih belum jelas. Kerusakan tulang akibat Cd diduga sebagai kerusakan sekunder karena adanya gangguan pada tubulus ginjal. Gangguan pada tubulus mengakibatkan terganggunya proses aktivasi vitamin D. Akibatnya, terjadi ekskresi kalsium dan fosfor yang merupakan komponen utama penyusun tulang (Uchida *et al*, 2010; Miura, 2009).

Logam berat kadmium dapat mengurangi aktivitas vitamin D sehingga menyebabkan terganggunya penyerapan kalsium oleh tulang. Dengan demikian, pada penelitian ini akan mengkaji dampak pajanan Cd terhadap kerusakan tulang melalui pengaruhnya terhadap kadar kalsium dan fosfat pada tulang.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan *posttest only control group design* selama 0, 2, 4 dan 6 minggu untuk mengukur kadar kalsium dan fosfat pada tulang tikus putih yang terpajan dan tidak terpajan Cd. Penelitian ini menggunakan hewan percobaan sebanyak 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok sebanyak 6 ekor. Tikus diaklimasi selama satu minggu sebelum perlakuan. Pemajanan dilakukan dengan memberikan cadmium CdSO₄ 3 mg/L pada air minum dan diberikan dengan cara *ad libitum* setiap hari sebanyak 100 ml/ekor/hari. Setelah dipajan dilakukan pembedahan sesuai jadwal kemudian diukur kadar Ca dan fosfat pada tulang tikus putih.

Preparasi sampel tulang

Tulang dibersihkan dari segala kotoran dengan melakukan pencucian sampai bersih. Kemudian tulang yang sudah bersih dimasukkan dalam oven selama 3 hari pada suhu 120°C kemudian dihaluskan atau digiling. Setelah dihaluskan sampel tulang ditimbang untuk diukur kadar Ca dan fosfat. Sisa sampel dimasukkan dalam botol yang kering dan bersih dengan penutup yang rapat.

Penentuan kadar Ca tulang

Sebanyak 0,1 gram serbuk tulang ditimbang dengan menggunakan neraca analitik kemudian masukkan ke dalam gelas kimia 250 ml. Kemudian ditambahkan aquadest 100 ml dan 3 tetes indikator metil merah ke dalam larutan dan dipanaskan sampai mendidih. Kemudian ditambahkan larutan NH₄-oksalat (0,75 gram dalam aquadest 12,5 ml aquadest) secara perlahan-lahan. Dipanaskan lagi pada temperatur 70-80°C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 3 tetes larutan ammonia (1:1) sambil di aduk secara

perlahan. Dibiarkan larutan dalam keadaan panas selama 1 jam. Kemudian disaring endapan dengan menggunakan kertas saring. Dicuci endapan dengan aquadest hingga bebas dari oksalat. Dilubangi kertas saring dengan menggunakan pengaduk. Kemudian dibilas endapan dengan larutan asam sulfat (1:8) ke dalam erlenmeyer yang lain. Dicuci kertas saring dengan aquadest panas sampai volume 50 ml. Kemudian larutan dititrasi dengan KMnO_4 0,1 N sampai warnanya berubah merah jambu. Perhitungan Berat Ca = $0,7056 \times \text{vol. KMnO}_4 \times 2,8 \text{ mg CaO}$

Pembuatan kurva standar fosfat

Sebanyak 0,01 gr $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ dilarutkan dengan sedikit aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 ml dan diencerkan sampai tanda batas (didapatkan larutan standar $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1000 ppm). Kemudian diambil 50 ml larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1000 ppm dan diencerkan menggunakan labu ukur 100 ml sampai tanda batas (didapatkan larutan standar $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 500 ppm. Demikian seterusnya sampai didapatkan larutan standart 400, 300, 200, dan 100 ppm. Masukkan ke dalam 5 tabung reaksi yang berbeda 50 ml dari larutan standart $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (500, 400, 300, 200 dan 100 ppm) kemudian ditambahkan 2 ml ammonium molibdat dan 5 tetes SnCl_2 . Lalu diaduk sempurna kemudian masukkan dalam kuvet dan ukur serapan pada panjang gelombang 590 nm. Hasil pembacaan masing-masing larutan standar dicatat kemudian gunakan untuk membuat kurva larutan standar fosfat dengan absorbansi sebagai sumbu Y dan konsentrasi standart sebagai sumbu X.

Penentuan kadar fosfat

Sebanyak 0,1 gr sampel dilarutkan dengan 50 ml aquadest kemudian ditambahkan 2 ml ammonium molybdate dan + 5 tetes $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Larutan di campur kemudian dimasukkan kedalam

kuvet dan di ukur absorbansi pada panjang gelombang 590 nm. Data dimasukkan ke dalam kurva standar fosfat untuk menghitung kadar fosfatnya.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa lama pajanan Cd selama 6 minggu dapat menurunkan kadar Ca tulang tikus putih. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran Ca pada tulang tikus putih yang dipajan Cd

No	Kadar Ca (mg/gram tulang)			
	minggu Ke-			
	0	2	4	6
1	114,80	89,60	42,00	14,00
2	126,00	89,60	39,20	14,00
3	120,40	84,00	39,20	16,80
4	117,60	86,80	39,20	14,00
5	112,00	86,80	42,00	11,20
6	117,60	86,80	36,00	8,40
Rata	118,067	87,267	39,667	13,067
Stdev	4,823	2,108	2,108	2,892

Hasil analisis menunjukkan bahwa lama pajanan Cd menyebabkan perbedaan bermakna pada kadar Ca antar kelompok perlakuan ($p=0,000$; $p<0,05$). Hasil uji lanjut dengan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar Ca antar kelompok P0, P1, P2, dan P3.

Kalsium (Ca) merupakan komponen mineral utama penyusun tulang. Ca di dalam tulang ditemukan dalam bentuk kristal tulang yang dinamakan hidroksiapatit (HA) (Ginayah dan Sanusi, 2011). Efektivitas absorpsi Ca di usus sangat dipengaruhi oleh nutrisi sehari-hari. Semakin rendah kadar Ca di dalam makanan yang dikonsumsi, semakin aktif pula usus melakukan absorpsi (Caroli *et al*, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian ini, terlihat bahwa pajanan Cd dapat menurunkan kadar Ca secara bermakna

pada tulang tikus putih. Hal ini diduga akibat menurunnya absorpsi Ca pada usus akibat pajanan Cd. Cd dan Ca diabsorpsi oleh usus melalui enterosit dengan cara berikatan dengan DMT-1. Cd merupakan logam yang mempunyai bilangan valensi yang sama dengan Ca, namun mempunyai afinitas yang lebih tinggi dibandingkan Ca. Perbedaan afinitas tersebut mengakibatkan Cd lebih efektif dalam mengikat DMT-1 dibandingkan Ca, sehingga akan terjadi penurunan absorpsi Ca pada usus (Asagba, 2009).

Penurunan absorpsi Ca selanjutnya akan menurunkan kadar Ca dalam serum, sehingga memicu sekresi hormon paratiroid. Sekresi tersebut akan meningkatkan proses resorpsi tulang, sehingga kadar Ca pada tulang akan semakin menurun (Uchida *et al*, 2010). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Kurata *et al* (2001) yang menyebutkan bahwa pemberian CdCl₂ secara intravena selama delapan minggu dapat meningkatkan kadar hormon paratiroid secara bermakna di dalam darah. Penelitian lain juga telah menemukan bahwa kadar Cd di dalam darah berkorelasi positif dengan kadar hormon paratiroid (Schutte *et al*, 2008).

Selain berpengaruh pada resorpsi tulang, sekresi hormon paratiroid juga akan memicu reabsorpsi Ca dengan mempermudah pembukaan pori Ca di tubulus distal ginjal. Selain itu, Ca juga menstimulasi hidrosilasi 25-OH-vitamin D3 menjadi bentuk aktifnya (kalsitriol) pada tubulus ginjal (Gonick, 2008), sehingga akan meningkatkan proses absorpsi Ca di usus, meningkatkan penyimpanan dan menurunkan pelepasan Ca pada tulang (Caroli *et al*, 2011).

Cd merupakan logam berat yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubulus ginjal. Kerusakan tersebut akan berdampak menurunnya aktivasi vitamin D, sehingga akan menurunkan absorpsi Ca pada usus, meningkatkan pelepasan dan menurunkan penyimpanan Ca pada tulang (Wallin *et al*, 2013). Mekanisme ini diduga juga berperan dalam penurunan jumlah Ca pada tulang

selama terjadinya pajanan Cd (Rani *et al*, 2014).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pajanan Cd selama 6 minggu belum menurunkan kadar fosfat tulang tikus putih secara bermakna. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran Ca pada tulang tikus putih yang dipajanan Cd

No	Kadar Fosfat mg/L, minggu ke-			
	0	2	4	6
1	270,00	208,50	147,50	155,00
2	401,50	315,00	244,00	249,50
3	444,00	262,50	220,00	246,50
4	279,50	264,50	446,00	248,50
5	199,50	339,00	289,00	199,50
6	419,00	162,00	164,50	153,00
Rerata	335,583	258,583	251,833	208,667
Stdev	99,018	65,630	108,323	46,364

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa lama pajanan Cd selama 6 minggu tidak menurunkan kadar Fosfat secara bermakna antar kelompok perlakuan ($p=0,116$; $p>0,05$). Hal ini diduga akibat hubungan resiprokal yang terjadi antara Ca dan P. Peningkatan pelepasan Ca tulang akibat sekresi hormon paratiroid selama pajanan Cd akan meningkatkan kadar Ca dalam darah (Othman *et al*, 2010). Pada sisi lain, sekresi hormon paratiroid akan menurunkan kadar serum fosfat, yang disebabkan oleh peningkatan ekskresi P pada ginjal. Hal ini penting untuk mempertahankan rasio Ca dan P di dalam darah. Penurunan kadar P ini selanjutnya akan membuat tulang memiliki kecenderungan untuk tidak melepaskan fosfat dalam jumlah besar ke dalam darah (Naghbi *et al*, 2006). Hal ini yang mendasari penurunan fosfat selama pajanan Cd tidak mengalami penurunan yang bermakna.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pajanan Cd selama 6

minggu dapat menurunkan kadar Ca tulang tikus putih tetapi belum dapat menurunkan kadar Fosfat tulang tikus putih.

Daftar Pustaka

- Asagba SO. December 2009. Role of diet in absorption and toxicity of oral cadmium- A review of literature. *African Journal of Biotechnology*. 8 (25): 7428-7436.
- Caroli A, Poli A, Ricotta D, Banfu G, Cocchi D. 2011. Invited review: dairy intake and bone health: a viewpoint from the state of the art. *Journal of Dairy Science*. 94: 5249-5262.
- Gonick HC. 2008. Nephrotoxicity of cadmium and lead. *Indian Journal of Medical Research*. 128: 335-352.
- Kurata Y, Katsuta O, Hiratsuka H, Tsuchitani M, Umemura T. 2001. Intravenous $1\alpha, 25$ [OH]₂ vitamin D₃ (calcitriol) pulse therapy for bone lesions in a murine model of chronic cadmium toxicosis. *International Journal of Experimental Pathology*. 82: 43-53.
- Miura N. 2009. Individual Susceptibility to Cadmium Toxicity and Metallothionein Gene Polymorphisms: with References to Current Status of Occupational Cadmium Exposure. *Industrial Health*. 47: 487-494.
- Naghbi M, Nazemian F, Rajabi O, Hami M. 2006. Comparison of phosphate lowering properties of calcium acetate and calcium carbonate in hemodialysis patients. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 5 (1): 73-76.
- Othman MA, Ali SS, Balto KA. 2010. Effect of low phosphate diet on the structure of the rat parathyroid and thyroid glands. *Egyptian Journal of Histology*. 33 (1): 81-91.
- Purnawati S. Agustus 2008. Pendekatan ergonomi total untuk mengantisipasi risiko keracunan pestisida pada petani-petani Bali. *Jurnal Bumi Lestari*. 8 (2): 154-161.
- Rani A, Kumar A, Lala A, Panta M. 2014. Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International Journal of Environmental Health Research*. 24 (4): 378-399.
- Schutte R, Nawrot TS, Richart T, Thijs L, Vanderschueren D, Kuznetsova T, Hecke EV, Roels HA, Staessen JA. 2008. Bone Resorption and Environmental Exposure to Cadmium in Women: A Population Study. *Environmental Health Perspectives*.
- Susana R dan Suswati D. 2013. Bioakumulasi dan Distribusi Cd pada Akar dan Pucuk tiga Jenis Tanaman Famili Brassicaceae: Implementasinya untuk Fitoremediasi. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 20(2): 221-228.
- Uchida H, Kurata Y, Hiratsuka H, and Umemura T. 2010. The Effects of a Vitamin D-deficient Diet on Chronic Cadmium Exposure in Rats. *Toxicology Pathology*. 38: 730.
- Wallin M, Sallsten G, Fabricius-Lagging E, Öhrn C, Lundh T, and Barregard L. 2013. Kidney cadmium levels and associations with urinary calcium and bone mineral density: a cross-sectional study in Sweden. *Environmental Health*. 12 (22): 1-9.
- Widaningrum, Miskiyah, dan Suksmono. 2007. Bahaya Kontaminasi Logam Berat dalam Sayuran dan Alternatif Pencegahan Cemarannya. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 3: 16-27.