

Efektivitas Daun Kelor Terhadap Kadar Kadmium Dan LDL Kolesterol Dalam Darah Sebagai Indikator Penyempitan Pembuluh Darah (Aterosklerosis) Pada Tikus Putih Yang Terpapar Asap Rokok

Christ Kartika Rahayuningsih¹, Riya Agustin²

1,2) Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya

Correspondence to: chrstkartika@gmail.com

ABSTRACT

Tanggal Submit:

9 Juli 2023

Tanggal Review:

6 November 2023

Tanggal Publish

Online:

30 November 2023

Tobacco consumption in Indonesia is a health epidemic that has direct or indirect toxicity due to exposure of cigarette smoke which contains harmful substances, especially cadmium metal. Cadmium's exposure can increase the risk of coronary heart disease due to increased LDL cholesterol. One of the cadmium toxicity treatment by utilizing *Moringa oleifera* leaves as a natural antioxidant considering the flavonoids, saponins, ascorbic acid, carotenoids, phenolics, interquinones as cadmium *chelating agents* and β -sitosterol content. Therefore, it was necessary to determine the effectiveness of *Moringa* leaves extract in lowering blood cadmium and LDL cholesterol levels as indicators of atherosclerosis in white rats exposed to cigarettes smoke. The type of research was an experiment with quantitative analysis, conducted at the nutrition laboratory of the Faculty of Public Health Airlangga University and the clinical chemistry laboratory of Surabaya Health Polytechnic in March-July 2023. The independent variable was the doses of *Moringa* leaf extracts, while the dependent variables were blood cadmium and LDL cholesterol levels of white rats. The analysis of blood cadmium levels used an atomic absorption spectrophotometer and used precipitation methods by a photometer for LDL cholesterol levels. Based on statistical analysis using *one way anova* showed that blood cadmium levels had a significant value of < 0.05 , followed by post hoc tests it was found that treatment group 2 had significant differences from normal groups. *Moringa* leaves extract dose of 1500 mg/kgbw has been effective in lowering cadmium and LDL cholesterol levels against the risk of atherosclerosis for 14 days.

Keywords : *Atomic Absorption Spectrophotometry, Cadmium, LDL Cholesterol, Moringa oleifera, photometer, Rattus norvegicus*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara darurat konsumsi tembakau, dimana mulai dari anak-anak hingga lansia dan tidak mengenal status kelamin. Konsumsi tembakau adalah salah satu wabah kesehatan masyarakat terbesar yang pernah dihadapi dunia dan banyak menewaskan orang setiap tahun di seluruh dunia, baik secara langsung maupun akibat dari paparan asap rokok (WHO, 2019). Asap rokok memiliki banyak kandungan zat berbahaya seperti logam berat, tar, nikotin, senyawa toksik yang sangat karsinogenik, dimana zat tersebut sangat kecil dan mudah menembus pembuluh darah, sehingga akan merusak sel-sel darah merah. Kadmium adalah logam berat yang ada dalam rokok dengan efek toksisitas tinggi, dan memiliki hubungan erat terhadap manusia dalam jangka waktu paparan yang panjang, karena dapat terakumulasi pada tubuh. Kadmium yang berasal dari asap dengan konsentrasi kadmium melebihi 40–50 mg/m³ yang terhirup selama satu jam akan sangat berbahaya (Hartini, 2018).

Kadmium akan terabsorpsi di dalam pembuluh darah mengikat Metallothionein dan akan diangkut ke hati, jantung dan ginjal, sehingga menyebabkan penyakit akibat paparan logam berat (Nafiisah, 2020). Paparan

kadmium dapat menurunkan aktivitas dari enzim lipoprotein lipase (LPL) yang berfungsi pada proses katabolisme trigliserida dan asam lemak bebas, sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida di dalam darah (Anindya, 2016). Pada dasarnya, kadmium yang masuk ke dalam tubuh dapat berpotensi bahaya didalam jaringan dan organ tubuh manusia, seperti penyempitan pembuluh darah (aterosklerosis), gangguan tekanan darah (hipertensi), jantung (Penyakit jantung coroner) (Sylvia, 2017).

Dalam studi (Anindya, 2016) menyatakan bahwa paparan kadmium didalam tubuh dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit jantung koroner melalui peningkatan kolesterol darah. Logam berat kadmium yang masuk ke dalam pembuluh darah, mengalami peningkatan pada kolesterol bebas, sehingga pada plasma dapat meningkatkan produksi ROS (Reactive Oxygen Species) yang dapat menyebabkan stress oksidatif (Dewi, 2018).

Salah satu penanganan terhadap kejadian toksisitas dalam tubuh, yaitu memanfaatkan daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai sumber daya alam tanaman herbal yang memiliki banyak manfaat dan kaya sumber nutrisi, serta kandungan antioksidan tinggi yang

terdiri dari flavonoid, saponin, asam askorbat, karotenoid, fenolat, alkaloid, dan antarquinon, yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas logam berat kadmium dan berperan sebagai pengikat ion logam alami, serta mengurangi level kolesterol yang terdapat di dalam tubuh dan diharapkan dapat menghambat kerusakan sel-sel tubuh akibat radikal bebas dari asap rokok. Daun Kelor mengandung 0,09% β -sitosterol yang dapat menurunkan konsentrasi LDL pada plasma serum (Mustapa, 2020).

Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak daun Kelor dalam menurunkan kadmium dan LDL kolesterol dalam darah sebagai indikator penyempitan pembuluh darah (aterosklerosis) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat paparan asap rokok tanpa perlakuan dan dengan perlakuan yang dipapar asap rokok serta diberikan Vitamin C sebagai kontrol positif, perlakuan dipapar asap rokok dan aquades sebagai kontrol negatif, perlakuan dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak Daun Kelor dengan variasi konsentrasi 1000, 1500, 2000 mg/kgBB.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian yaitu untuk pengambilan darah adalah spuit 3 cc dan 6 cc, sedangkan untuk proses dekstruksi dan analisa kadar kadmium dalam darah adalah *microwave*, SSA (Spektrofotometri Serapan Atom) *Thermo Scientific iCE 3300*, kuvet, alat-alat gelas neraca analitik, kertas saring, *heater*, pengaduk, gunting. Alat untuk analisa kreatinin adalah fotometer, mikropipet 100 μ l dan 1000 μ l, tip kuning dan biru, rak dan tabung reaksi.

Bahan dan reagen yang digunakan dalam penelitian adalah daun Kelor, darah EDTA dan serum tikus putih jantan telah diberi perlakuan, aquades, asam nitrat (HNO_3), asam perklorat (HClO_4), kadmium nitrat, asam pikrat, natrium hidroksida (NaOH) dan larutan standar.

Pengelompokan Hewan Uji

Tikus putih jantan diadaptasikan dengan lingkungan baru selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan. Tikus yang telah diadaptasikan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok :

- Kelompok normal : kelompok tikus yang hanya terpapar udara bebas dan aquades
- Kelompok kontrol negatif : kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi aquades

- c. Kelompok kontrol positif : kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi vitamin C sebagai antioksidan dengan dosis 9 mg/hari
- d. Kelompok perlakuan 1 : kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak daun Kelor dengan dosis 1000 mg/kgBB/hari
- e. Kelompok perlakuan 2 : kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak daun Kelor dengan dosis 1500 mg/kgBB/hari
- f. Kelompok perlakuan 3 : kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak daun Kelor dengan dosis 2000 mg/kgBB/hari

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Daun Kelor yang diperoleh dari daerah Karangpilang kota Surabaya, kemudian dikumpulkan dan dipisahkan dari batangnya lalu dicuci bersih dengan air. Kemudian daun Kelor yang masih segar dan berwarna hijau dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun Kelor yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Bubuk daun Kelor diayak untuk memisahkan bagian yang masih kasar. Sebanyak 500 gram bubuk halus daun Kelor kemudian dimaserasi menggunakan 5000 ml etanol 96% didalam sebuah toples yang tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari dan didiamkan selama 48 jam

(Wardani, 2017). Setiap pagi dan sore, bahan maserasi diaduk selama 15 menit. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas penyaring, dan residunya kembali dimaserasi dengan etanol 96% selama 48 jam selanjutnya hingga didapat maserat yang jernih. Hasil ekstrak cair dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 80-90° C hingga membentuk ekstrak agak kental dan tidak berbau etanol.

Persiapan Sediaan Ekstrak Etanol

Daun Kelor

Dosis daun Kelor yang digunakan adalah 1000 mg/kgBB, 1500 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB dalam volume untuk dosis 1, 2, dan 3 sebanyak 2 mL/hari yang diberikan secara oral menggunakan sonde lambung volume 2 mL yang tidak melebihi volume maksimal lambung tikus yaitu 3 – 5 mL. Pembuatan ekstrak daun Kelor disesuaikan dengan berat badan hewan coba dan telah dilakukan perhitungan dosis pemberian. Pembuatan sediaan ekstrak daun Kelor menggunakan pelarut CMC Na 1% hangat.

Cara Pemaparan Asap Rokok

Kelompok tikus yang akan dipapar asap rokok dimasukkan ke dalam *smoking chamber* dan dipapar asap rokok secara akut dari 3 batang

rokok selama 1 jam/hari. 1 jam setelah paparan, kelompok kontrol negatif diberi aquadest, kelompok kontrol positif diberi vitamin C, dan kelompok perlakuan diberi ekstrak daun Kelor sesuai dosis, pemberian ekstrak dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung selama 14 hari (Puspita, 2020).

Perlakuan Hewan Coba

Adaptasi dilakukan selama 8 hari dengan pemberian pakan dan minum. Pada hari ke-9, masing-masing kelompok dimasukkan ke dalam *smoking chamber*, kecuali pada kelompok normal. Kemudian tikus dipapar asap rokok sebanyak 3 batang selama 1 jam per hari. Setelah dilakukan pemaparan, kelompok kontrol negatif diberikan aquades, kelompok kontrol positif diberikan vitamin C dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun Kelor secara oral dengan sonde lambung sesuai dengan dosis yang ditentukan selama 14 hari.

Pengambilan Sampel Darah

Setelah dilakukan intervensi, pada hari ke 22 tikus dipuasakan selama minimal 8 jam sebelum pembedahan. Pada hari ke 23, dilakukan anestesi secara inhalasi menggunakan *drop jar* (Konno *et al.*, 2014) atau dilakukan injeksi dengan ketamin. Selanjutnya tikus diposisikan terlentang diatas papan datar dengan alat gerak difiksasi

menggunakan jarum pentul untuk kemudian dilakukan pembedahan. Darah tikus diambil dari jantung dan ditampung dalam tabung EDTA dan plain untuk dibawa ke laboratorium guna mengetahui kadar Kadmium darah dan LDL Kolesterol tikus setelah diberi perlakuan. Pengukuran kadar Kadmium menggunakan AAS dan LDL kolesterol menggunakan fotometer.

Pemeriksaan Kadar Kadmium dalam Darah

Persiapan sampel dilakukan dekstruksi basah dengan zat pengoksidan HNO_3 dengan perbandingan sampel dan zat pengoksidan (1:10). Sampel dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan HNO_3 pekat sebanyak 10 mL. Bahan dimasukkan *microwave* agar proses dekstruksi sempurna, kemudian diencerkan dengan aquades bebas logam. Pembuatan larutan baku standart Kadmium dengan $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ konsentrasi 0,2; 1,0; 2;5 ppm. Kemudian dilakukan analisa kadar kadmium dengan AAS sesuai SNI 06-6989.38-2005.

Pemeriksaan Kadar LDL Kolesterol Darah

Analisa menggunakan metode presipitasi. Prinsip pemeriksaan kolesterol LDL dengan LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam serum dilakukan presipitasi dengan

Polyethylene sulphate (PVS) dan perbedaan konsentrasi disebabkan oleh kolesterol yang tersubstraksi dari kolesterol total dalam suatu supernatan. Reaksi dimulai dari ester kolesterol dengan H₂O dikatalis oleh enzim kolesterol esterase akan membentuk kolesterol dan asam lemak. Kolesterol dan oksigen dibantu oleh kolesterol oksidase akan membentuk *cholestenone* dan hidrogen peroksida. 2 molekul hidrogen peroksida + 4-*aminoantipyrine* + phenol dibantu oleh peroksidase akan membentuk *quinoneimine* dan 4 molekul air. Pemeriksaan nilai LDL Kolesterol menggunakan fotometer.

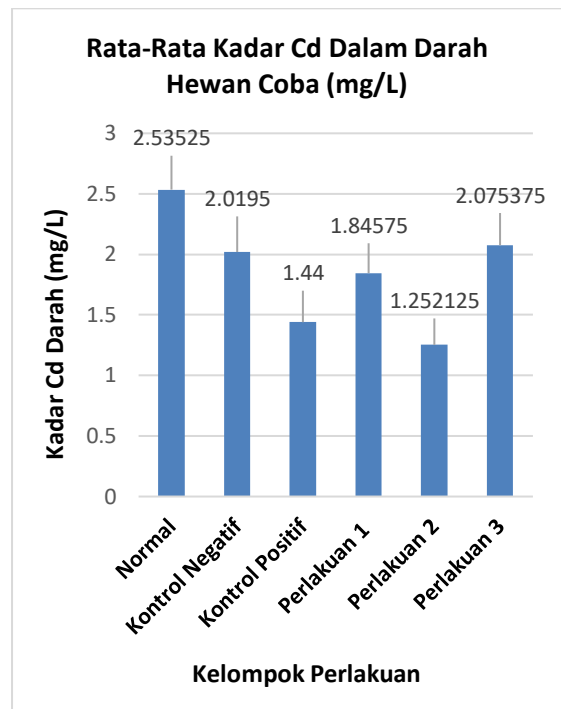
Analisa Data

Untuk mengetahui potensi daun Kelor terhadap kadar kadmium dan kreatinin dalam darah pada tikus putih, data dianalisis dengan pengujian normalitas metode *Shapiro Wilk* dan homogenitas metode *Levene*. Bila data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan *One Way Anova*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka dapat menggunakan uji *Kruskal wallis*. Pengujian statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% (p,0,05).

HASIL PENELITIAN

Kadar Kamium Dalam Darah Tikus Putih

Kadar kadmium dalam darah tikus putih didapatkan dari hasil pemeriksaan menggunakan AAS (Spektrofotometer Serapan Atom) pada panjang gelombang 228,8 nm di Laboratorium Kimia Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga. Hasil kadar kadmium dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Rata-Rata Kadar Kadmium Dalam Darah Tikus Putih pada Setiap Kelompok Perlakuan

Gambar 1 menunjukkan bahwa rerata kadar kadmium darah pada tikus putih terendah didapatkan pada kelompok Perlakuan 2 sebesar 1,2521 mg/L dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 1500 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar kadmium darah tertinggi didapatkan kelompok Normal sebesar 2,5352 mg/L tanpa adanya perlakuan. Rerata kadar

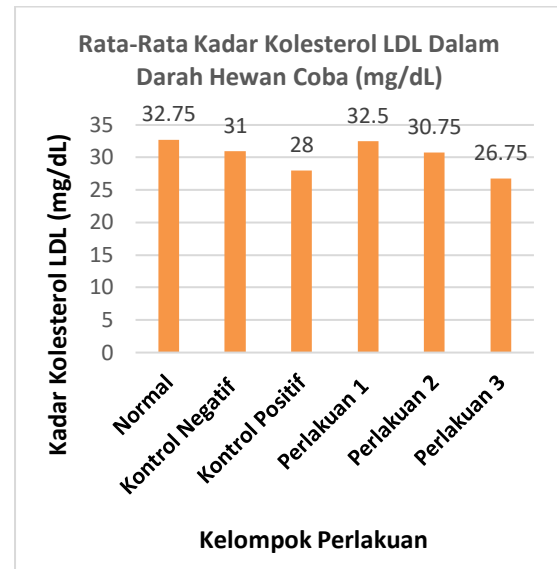
kadmium dalam darah tikus putih pada kelompok Kontrol Negatif sebesar 2,0195 mg/L, yang hanya dipapar asap rokok pada penelitian ini. Rerata kadar kadmium dalam darah tikus putih pada kelompok Kontrol Positif adalah 1,44 mg/L setelah dipapar asap rokok dan diberi vitamin C. Rerata kadar kadmium pada kelompok Perlakuan 1 sebesar 1,84575 mg/L, dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 1000 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar kadmium pada kelompok Perlakuan 3 sebesar 2,075375 mg/L, dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 2000 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok.

Berdasarkan **Gambar 1**, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan rerata kadar kadmium dalam darah tikus putih pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 jika dibandingkan dengan Kelompok Normal. Kelompok Perlakuan 3 memiliki rerata kadar kadmium darah lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif. Sedangkan rerata kadar kadmium darah kelompok Perlakuan 1 dan Perlakuan 2 telah mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif.

Kadar LDL Kolesterol Tikus Putih

Kadar LDL Kolesterol dalam darah tikus putih didapatkan dari hasil pemeriksaan dengan metode presipitasi menggunakan fotometer yang dilakukan

di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya. Hasil rerata kadar kolesterol LDL dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Rata-Rata Kadar LDL Kolesterol Dalam Darah Tikus Putih pada Setiap Kelompok Perlakuan

Gambar 2 menunjukkan terdapat beberapa perbedaan rerata kadar LDL kolesterol pada setiap kelompok perlakuan. Rerata kadar LDL kolesterol dalam darah terendah didapatkan pada kelompok Perlakuan 3 sebesar 26,75 mg/dL dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 2000 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar LDL kolesterol dalam darah tertinggi didapatkan pada kelompok Normal sebesar 32,75 mg/dL, dimana pada tikus putih tidak diberi perlakuan. Rerata kadar LDL kolesterol pada kelompok Kontrol Negatif sebesar 31,0 mg/dL,

setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar LDL Kolesterol pada kelompok Kontrol Positif sebesar 28,0 mg/dL dengan pemberian vitamin C setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar LDL Kolesterol pada kelompok Perlakuan 1 sebesar 32,5 mg/dL dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 1000 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok. Rerata kadar kreatinin pada kelompok Perlakuan 2 sebesar 30,75 mg/dL dengan perlakuan ekstrak daun Kelor dosis 1500 mg/kgBB setelah dipapar asap rokok.

Pada **Gambar 2** menunjukkan telah terjadi penurunan pada rerata kadar kolesterol LDL kelompok Perlakuan 1, 2 dan 3 jika dibandingkan dengan kelompok Normal. Rerata kelompok Perlakuan 3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Kontrol Positif.

Analisa Data Hasil Penelitian

Uji Normalitas

Uji Normalitas

Hasil uji normalitas metode *Shapiro-wilk* dengan program SPSS 16.0 didapatkan sebagai berikut.

- a. Uji normalitas pada kadar kadmium dalam darah tikus memiliki nilai signifikan pada seluruh kelompok perlakuan dengan nilai $p \text{ value} > 0,05$ (H_0

diterima dan H_1 ditolak). Maka kadar kadmium dalam darah tikus putih pada seluruh kelompok perlakuan berdistribusi normal.

- b. Uji normalitas pada kadar LDL Kolesterol darah tikus memiliki nilai signifikan pada kelompok Normal didapatkan nilai $p \text{ value} < 0,05$ (H_0 ditolak dan H_1 diterima). Maka kadar LDL kolesterol dalam darah tikus putih pada kelompok Normal tidak berdistribusi normal.

Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan program SPSS 16.0 didapatkan hasil sebagai berikut.

- A. Uji homogenitas kadar kadmium dalam darah tikus putih memiliki nilai signifikan $p \text{ value} 0,138 > 0,05$ (H_0 diterima dan H_1 ditolak). Maka varian data hasil kadar kadmium dalam darah tikus putih homogen pada setiap perlakuan.
- B. Uji homogenitas kadar kreatinin dalam darah tikus putih memiliki nilai signifikan $p \text{ value} 0,057 > 0,05$ (H_0 diterima dan H_1 ditolak). Maka varian data hasil kadar LDL Kolesterol darah tikus putih homogen pada setiap perlakuan.

Uji Anova

Uji Anova hanya dapat dilakukan pada data hasil pemeriksaan kadmium darah tikus putih dengan program SPSS 16.0 didapatkan hasil nilai signifikansi (*p value*) $0,004 < 0,05$ (H_0 ditolak dan H_1 diterima). Kesimpulan adalah terdapat perbedaan secara signifikan terhadap kadar kadmium darah tikus putih pada kelompok perlakuan. Maka hasil uji Anova kadar kadmium darah dapat dilanjutkan dengan Uji Post Hoc.

Uji Kruskal Wallis

Berdasarkan uji *Kruskal wallis* pada program SPSS 16.0 didapatkan hasil data kadar kolesterol LDL memiliki nilai signifikansi (*p value*) $0,249 > 0,05$ (H_0 diterima dan H_1 ditolak). Kesimpulan adalah tidak terdapat perbedaan secara signifikan terhadap kadar kolesterol LDL tikus putih pada kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc

Berdasarkan hasil SPSS Uji Post Hoc Kadar Kadmium darah didapatkan nilai *mean difference* sebagai berikut.

- Pada kelompok Perlakuan 1 tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap seluruh kelompok perlakuan (*p value* $> 0,05$).
- Pada kelompok Perlakuan 2 memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok Normal ($p 0,003$). Namun tidak memiliki

perbedaan terhadap kelompok Kontrol Negatif ($p 0,123$), kelompok Kontrol Positif ($p 0,984$), kelompok Perlakuan 1 ($p 0,335$), kelompok Perlakuan 3 ($p 0,086$)

- Pada kelompok Perlakuan 3 tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap seluruh kelompok perlakuan (*p value* $> 0,05$).

PEMBAHASAN

Penelitian dengan hewan coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) diawali dengan adaptasi kandang selama 8 hari. Kemudian dilanjutkan pemberian perlakuan dengan paparan asap rokok 3 batang setiap hari menggunakan *smoking chamber* pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok Perlakuan 1, kelompok Perlakuan 2, dan kelompok Perlakuan 3. Perlakuan tersebut dilakukan sebagai bentuk paparan asap rokok secara pasif untuk mengetahui efek toksik dari kandungan kadmium dalam rokok tembakau terhadap kolesterol LDL sebagai salah satu parameter penyempitan pembuluh darah. Selanjutnya, beberapa kelompok tertentu diberikan ekstrak Daun Kelor dan vitamin C selama 14 hari.

Kadmium yang berasal dari asap rokok berhubungan erat dengan kejadian aterosklerosis hingga 60-65%, akibat

terbentuknya plak aterosklerosis pada arteri karotid ditinjau dari peningkatan kadar kadmium darah pada Penduduk Swedia (Maurovich-Horvat *et al.*, 2014). Paparan kadmium secara akut dapat menginduksi disfungsi endotel, meningkatkan inflamasi vaskuler dan aterosklerosis, khususnya di dalam aorta akibat peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara berulang (Keli *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kadmium darah tikus putih, dapat diketahui bahwa terjadi penurunan rerata kadar kadmium darah seluruh kelompok perlakuan dan kontrol negatif terhadap kelompok normal, walaupun tidak didapatkan perbedaan signifikan. Kelompok kontrol negatif memiliki rerata kadar kadmium darah lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif, kelompok Perlakuan 1 dan kelompok Perlakuan 2. Sehingga paparan asap rokok selama 1 jam setiap harinya telah meningkatkan kadar kadmium darah.

Kadar kadmium darah menunjukkan indikasi derajat keterpaparan dengan waktu paruh antara 3-5 bulan, dimana akumulasi kadmium dalam darah dipengaruhi oleh waktu dan konsentrasi paparan (Young *et al.*, 2019). Sehingga lama waktu perlakuan serta konsentrasi paparan asap rokok, melalui jumlah rokok yang dipaparkan

berpengaruh terhadap kadar kadmium darah.

Penelitian (Ismail *et al.*, 2022) menunjukkan pemberian pola makan lemak tinggi dan asap rokok tembakau meningkatkan kadar kolesterol LDL secara signifikan dibandingkan kelompok dengan rokok elektrik selama 6 minggu. Paparan asap rokok dapat mengurangi ekspresi gen LDLR pada sel HepG2 dalam hati dan meningkatkan inflamasi endotel. Defisiensi LDLR pada tikus putih menyebabkan peningkatan kolesterol LDL dan menurunkan kadar kolesterol HDL, perubahan terhadap metabolisme lipoprotein plasma dan membentuk lesi aterosklerosis walaupun peningkatan tersebut tidak terlalu tinggi dibandingkan dengan mencit selama 52 minggu (Sithu *et al.*, 2017).

Kadmium menjadi faktor risiko penyakit kardiovaskular akibat toksisitasnya terhadap vaskular endotelium, salah satunya peningkatan stress oksidatif. (Keli *et al.*, 2013). Keterpaparan kadmium dapat memicu terjadinya dilatasi kapiler, kongesti vaskular dan nekrosis pada pembuluh myokardial melalui peningkatan spesies oksigen reaktif dan menghambat ekspresi gen enzim antioksidan (Das and Al-Naemi, 2019). Radikal peroksidan dan spesies nitrogen reaktif menyebabkan

kerusakan secara direk pada reaksi peroksidasi lipid dan oksidasi protein dan DNA (Kamceva *et al.*, 2016). Stress oksidatif mempengaruhi perubahan susunan lemak dan lipoprotein yang berhubungan dengan produksi oksigen radikal bebas yang menyebabkan penurunan mutu oksidasi lemak dan protein, secara tidak langsung memengaruhi profil lipid dan lipoprotein melalui peroksidasi lipid (Samarghandian *et al.*, 2015). Sehingga kadmium dalam asap rokok dapat memicu oksidasi lipid dan disfungsi endotelial serta menjadi kunci utama aterogenesis.

Dalam mengatasi toksisitas kadmium terhadap kejadian aterosklerosis yang berawal dari disfungsi endotel dan peningkatan inflamasi vaskuler, maka perlu memberikan sediaan dengan antioksidan yang tinggi, salah satunya dengan ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk.*). Daun Kelor mengandung β -karoten berperan dalam melindungi membran dari peroksidasi dan mencegah pembentukan radikal bebas (Kurutas, 2016), dan β -sitosterol menurunkan kolesterol dengan mengurangi pembentukan LDL plasma dan mencegah reabsorpsi kolesterol dari sumber endogen. Sedangkan kandungan flavonoid dan polifenol daun Kelor

berperan meningkatkan peroksida dismutase dan katalase sehingga kadar peroksidase dan kolesterol menurun (Vergara-Jimenez, Almatrafi and Fernandez, 2017).

Penelitian ini memanfaatkan ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) yang berasal dari proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 2 hari dan dilanjutkan remaserasi. Ekstrak daun Kelor didapatkan melalui tahapan evaporasi menggunakan *rotatory evaporator* kecepatan 55 rpm suhu 90°C hingga didapatkan ekstrak daun Kelor murni tanpa adanya pelarut. Tujuan penggunaan etanol pada proses maserasi untuk mendapatkan kandungan flavonoid daun Kelor secara optimal yang sejalan dengan penelitian (Wang *et al.*, 2017).

Pembuatan sediaan ekstrak daun Kelor menggunakan pelarut CMC.Na 1% sebagai *suspending agent*. Perlakuan ekstrak daun Kelor diberikan pada kelompok Perlakuan 1 dengan dosis 1000 mg/kgBB/hari, kelompok Perlakuan 2 dengan dosis 1500 mg/kgBB/hari dan kelompok Perlakuan 3 dengan dosis 2000 mg/kgBB/hari. Ketiga dosis perlakuan yang digunakan telah berada pada dosis aman pemberian ekstrak daun Kelor, sejalan dengan penelitian (Temitayo Olayemi, Jones

Olanrewaju and Christopher Oloruntoba, 2016), bahwa pemberian dosis ekstrak daun Kelor dosis 100 mg/kgBB hingga 1000 mg/kgBB selama 28 hari adalah batas dosis yang aman untuk diberikan. Penelitian menunjukkan bahwa LD50 dari pemberian ekstrak metanol daun Kelor adalah 5477 mg/kgBB selama 21 hari. Perlakuan kontrol positif diberikan vitamin C sebagai *gold standar* antioksidan.

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kadmium darah setelah dipapar asap rokok selama 1 jam pada setiap kelompok perlakuan, terdapat penurunan rerata kadar kadmium kelompok kontrol negatif terhadap beberapa kelompok, yakni kelompok kontrol positif, kelompok Perlakuan 1 dan Perlakuan 2. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian paparan asap rokok pada kelompok kontrol negatif telah berhasil.

Penurunan rerata kadar kadmium darah pada kelompok Perlakuan 1 dan kelompok Perlakuan 2 menunjukkan bahwa ekstrak Daun Kelor pada dosis 1000 mg/kgBB/hari dan 1500 mg/kgBB/hari dapat mengatasi keterpaparan kadmium yang berasal dari asap rokok secara akut. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (ZN, 2018) menunjukkan penurunan signifikan kadar kadmium darah dengan perlakuan 10% ekstrak daun Kelor dibandingkan

dengan perlakuan 5% ekstrak daun Kelor setelah dipapar kadmium nitrat selama 21 hari. Ekstrak daun Kelor dapat berperan sebagai *chelating agent* dengan mengurangi akumulasi kadmium dalam sel melalui pembentukan senyawa kelasi oleh kelompok hidroksil, karboksil, fosfat, amino dan kandungan asam galat (Kerdsomboon, Chumsawat and Auesukaree, 2021).

Ekstrak daun Kelor terhadap kelompok Perlakuan menunjukkan kemampuan sebagai antihiperlipidemia yang ditunjukkan oleh penurunan rerata kadar kolesterol LDL pada kelompok Perlakuan 2 dan kelompok Perlakuan 3 terhadap kelompok kontrol negatif setelah terpapar asap rokok selama 14 hari. Penelitian ini sesuai dengan penelitian (Bais, Singh and Sharma, 2014) menunjukkan terjadi penurunan kadar kolesterol LDL pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB terhadap kelompok hewan coba dengan pola makan tinggi lemak.

Berdasarkan analisis secara statistika, terjadi penurunan yang signifikan pada kadar kadmium darah kelompok Perlakuan 2 dibandingkan dengan kelompok Normal. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun Kelor dosis 1500 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar kadmium darah tikus setelah 14 hari.

Sedangkan hasil analisis statistika menunjukkan tidak adanya perbedaan kadar kolesterol LDL secara signifikan terhadap seluruh kelompok penelitian. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Nabilla *et al.*, 2022) menunjukkan pemberian ekstrak daun Kelor pada dosis 400, 500 dan 600 mg/kgBB selama 10 hari tidak memberikan perbedaan secara signifikan terhadap kadar kolesterol LDL.

Berdasarkan hasil penelitian ini, simplisia daun Kelor dapat dimanfaatkan sebagai *chelating agent* dan anti-hiperlipidemia terhadap manusia setelah dilakukan perhitungan konversi. Penelitian ini menggunakan 53,9303 gram ekstrak daun Kelor yang diperoleh dari proses maserasi dan evaporasi. Konversi pemanfaatan ekstrak daun Kelor ini dilakukan pada kelompok Perlakuan 2, sehingga setiap ekor hewan diberi ekstrak daun Kelor sebanyak 0,267 gram yang setara dengan 3,4655 gram simplisia dengan rerata berat badan kelompok hewan coba 178 gram. Dalam implementasi pemanfaatan daun Kelor pada manusia, maka dilakukan konversi terhadap berat badan manusia (70 kg) yang didapatkan massa simplisia daun Kelor yang setara dengan ekstrak daun Kelor dosis 1500 mg/kgBB adalah 500,528 gram. Diharapkan simplisia daun Kelor tersebut

dapat mengurangi risiko terjadinya aterosklerosis akibat keterpaparan kadmium melalui asap rokok selama 14 hari.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kadar kadmium darah dan kadar kolesterol LDL tikus putih setelah diberi ekstrak daun Kelor dosis 1000 mg/kgBB adalah 1,8457 mg/L dan 32,5 mg/dL. Kadar kadmium darah dan kadar kolesterol LDL tikus putih setelah diberi ekstrak daun Kelor dosis 1500 mg/kgBB adalah 1,2521 mg/L dan 30,75 mg/dL. Kadar kadmium darah dan kadar kolesterol LDL tikus putih setelah diberi ekstrak daun Kelor dosis 2000 mg/kgBB adalah 2,0753 mg/L dan 26,75 mg/dL. Ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) dosis 1500 mg/kgBB bekerja efektif sebagai *chelating agent* dan anti-hiperlipidemik dalam mengatasi toksisitas kadmium dari asap rokok selama 14 hari akibat kandungan flavonoid, saponin, asam askorbat, karotenoid, fenolat, alkaloid, dan antarquinon serta β -sitosterol.

Saran dalam penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan parameter aktivitas antioksidan ekstrak daun Kelor dan dampak toksisitas kadmium terhadap organ

tertentu. Masyarakat disarankan untuk mengkonsumsi 500,528 gram simplisia daun Kelor sebagai antioksidan tambahan dalam mencegah aterosklerosis akibat keterpaparan kadmium melalui asap rokok.

induces vascular injury due to endothelial oxidative stress: The role of local angiotensin II and COX-2', *Free Radical Biology and Medicine*, 65, pp. 838-848. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.167.

DAFTAR PUSTAKA

- Bais, S., Singh, G. S. and Sharma, R. (2014) 'Antiobesity and Hypolipidemic Activity of Moringa oleifera Leaves against High Fat Diet-Induced Obesity in Rats', *Advances in Biology*, 2014. doi: 10.1155/2014/162914.
- Das, S. C. and Al-Naemi, H. A. (2019) 'Cadmium Toxicity: Oxidative Stress, Inflammation and Tissue Injury', *Occupational Diseases and Environmental Medicine*, 07(04). doi: 10.4236/odem.2019.74012.
- Ismail, N. A. *et al.* (2022) 'Electronic and Conventional Cigarette Exposure Aggravate Metabolic Parameters in High-Fat Diet-Induced Rats', *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A). doi: 10.3889/oamjms.2022.9723.
- Kamceva, G. *et al.* (2016) 'Cigarette smoking and oxidative stress in patients with coronary artery disease', *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 4(4). doi: 10.3889/oamjms.2016.117.
- Keli, J. *et al.* (2013) 'Cadmium exposure induces vascular injury due to endothelial oxidative stress: The role of local angiotensin II and COX-2', *Free Radical Biology and Medicine*, 65, pp. 838-848. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.167.
- Kerdsomboon, K., Chumsawat, W. and Auesukaree, C. (2021) 'Effects of Moringa oleifera leaf extracts and its bioactive compound gallic acid on reducing toxicities of heavy metals and metalloids in *Saccharomyces cerevisiae*', *Chemosphere*, 270. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128659.
- Konno, K. *et al.* (2014) 'Visible, Safe and certain endotracheal intubation using endoscope system and inhalation anesthesia for rats', *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(10). doi: 10.1292/jvms.14-0146.
- Kurutas, E. B. (2016) 'The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state', *Nutrition Journal*. doi: 10.1186/s12937-016-0186-5.
- Maurovich-Horvat, P. *et al.* (2014) 'Comprehensive plaque assessment by coronary CT angiography', *Nature Reviews Cardiology*. doi: 10.1038/nrcardio.2014.60.
- Nabilla, V. A. *et al.* (2022) 'The Effectiveness Of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera*) on Cadmium and LDL Cholesterol Levels in Blood as Indicators of

- Atherosclerosis in Cadmium (Cd) Induced White Rats (*Rattus norvegicus*)', *Jurnal Teknokes*, 15(3). doi: 10.35882/teknokes.v15i3.268.
- Samarghandian, S. *et al.* (2015) 'Effect of chronic exposure to cadmium on serum lipid, lipoprotein and oxidative stress indices in male rats', *Interdisciplinary Toxicology*, 8(3). doi: 10.1515/intox-2015-0023.
- Sithu, S. D. *et al.* (2017) 'Atherogenesis and metabolic dysregulation in LDL receptor-knockout rats', *JCI Insight*, 2(9). doi: 10.1172/jci.insight.86442.
- Temitayo Olayemi, A., Jones Olanrewaju, M. and Christopher Oloruntoba, A. (2016) 'Toxicological evaluation of Moringa oleifera Lam seeds and leaves in Wistar rats', *Pharmacognosy Communications*, 6(2). doi: 10.5530/pc.2016.2.8.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M. and Fernandez, M. L. (2017) 'Bioactive components in Moringa oleifera leaves protect against chronic disease', *Antioxidants*. doi: 10.3390/antiox6040091.
- Wang, Y. *et al.* (2017) 'Subcritical ethanol extraction of flavonoids from Moringa oleifera leaf and evaluation of antioxidant activity', *Food Chemistry*, 218. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.058.
- Wardani, D. N. K. (2017) 'Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Terhadap Jumlah Sel Mast Pada Mencit (*Mus Musculus*) Model Endometriosis', *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 19(3), p. 260. doi: 10.20473/jbp.v19i3.2017.260-267.
- Young, J. L. *et al.* (2019) 'Cadmium and High-Fat Diet Disrupt Renal, Cardiac and Hepatic Essential Metals', *Scientific Reports*, 9(1). doi: 10.1038/s41598-019-50771-3.
- ZN, J. (2018) 'Detoxifying effects of moringa oleifera leaf and zingiber officinale root powder on cadmium toxicity in blood and fur of wistar rats', *Open Access Journal of Translational Medicine & Research*, 2(1). doi: 10.15406/oajtmr.2018.02.00030.