

**EFEK EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) TERHADAP KADAR METIL MERKURI
DARAH DAN KARAKTERISTIK ERITROSIT TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus* L.) PASKA PEMAPARAN METIL MERKURI KLORIDA**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh :

**Wiwik Widyawati
M0400052**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2007**

PENGESAHAN

SKRIPSI

EFEK EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA

(*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) TERHADAP KADAR METIL MERKURI

DARAH DAN KARAKTERISTIK ERITROSIT TIKUS PUTIH

(*Rattus norvegicus* L.) PASKA PEMAPARAN METIL MERKURI KLORIDA

Oleh :

Wiwik Widyawati

NIM. M0400052

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal 9 februari 2007

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta,

Penguji III/Pembimbing I

Penguji I

Drs. Wiryanto, M. Si.
NIP. 131 124 613

Dr. Dra. Okid Parama Astirin, M. Si.
NIP. 131 569 270

Penguji IV/Pembimbing II

Penguji II

Shanti Listyawati, M.Si.
NIP. 132 169 256

Tetri Widiyani, M. Si.
NIP. 132 262 263

Dekan F MIPA

Mengesahkan :

Ketua Jurusan Biologi

Drs. Marsusi, M. S.
NIP. 130 906 776

Drs. Wiryanto, M. Si.
NIP. 131 124 613

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan, maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan dicabut.

Surakarta, 9 Februari 2007

Wiwik Widyawati

M0400052

PERSEMBAHAN

Allah 'Azza wa Jalla, Maha Segalanya, setinggi-tinggi cintaku, tempatku berpulang di ujung usiaku nanti.

Bapak Drs. Sukadma Hadi dan ibu Bandiyah S. Pd, doamu selalu menemani setiap jejak langkahku.

Amarhum suamiku Serda Sahrir daeng Bombong, ketiadaanmu membuatku selalu bertafakkur menyelami arti hidup, kepergianmu menjadikanku manusia tegar, semoga engkau diterima dalam jannah-Nya, amiin.

Embun kehidupanku, bintang kecilku, Siti Auliyaa' Widyasahri...jadilah muslimah sejati yang selalu istiqomah di jalan-Nya, semoga kamu nantinya bisa lebih baik dari mama, amiin.

Almamaterku.

MOTTO

Dalam hidup pasti ada ujian, setiap ujian pasti ada jawabnya, dan...jawabnya ada dalam ujian tersebut (WW).

Setelah kesulitan pasti ada kemudahan (Q. S. A I-I nsyirah : 5).

Tidak pernah ada kata terlambat untuk bangkit, kesempatan hidup di dunia hanya sekali, cita-cita kita adalah mempersembahkan yang terbaik, yaitu bermakna bagi dunia dan berarti bagi akhirat (A A Gym).

Jagalah 5 sebelum datang yang 5:

muda sebelum tua,

sehat sebelum sakit,

kaya sebelum miskin,

lapang sebelum sempit, dan

hidup sebelum mati (H. R. Bukhori dan Hakim).

ABSTRAK

Wiwik Widyawati. 2007. EFEK EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) TERHADAP KADAR METIL MERKURI DARAH DAN KARAKTERISTIK ERITROSIT TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) PASKA PEMAPARAN METIL MERKURI KLORIDA. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Metil merkuri merupakan jenis merkuri paling toksik yang sudah sejak lama digunakan masyarakat dalam berbagai bidang. Secara alami, metil merkuri dihasilkan dari proses metilasi senyawa merkuri anorganik oleh bakteri metanogenik dalam sedimen akuatik. Keberadaan metil merkuri yang berlebihan di lingkungan akan berbahaya jika masuk ke tubuh makhluk hidup.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) terhadap kadar metil merkuri darah dan karakteristik eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) paska pemaparan metil merkuri klorida serta mengetahui dosis efektif ekstrak daun sambung nyawa untuk menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang terpapar metil merkuri klorida.

Penelitian percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 6 kelompok perlakuan, masing-masing 4 kali ulangan. Perlakuan diberikan sebagai berikut : aquades 2,5 ml (plasebo), metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB (kontrol negatif), L-sistein 5,4 mg/kg BB (kontrol positif), serta ekstrak daun sambung nyawa 1,945; 3,889; dan 5,834 g/kg BB. Parameter yang diamati adalah kadar metil merkuri dalam darah, kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan hematokrit/ *Packed Cell Volume* (PCV) yang dianalisis dengan Analisis Varian (Anava) dan dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5 %. Pengamatan morfologi eritrosit dianalisis secara kualitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sambung nyawa pada dosis 1,945; 3,889; dan 5,834 g/kg BB berpengaruh nyata menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit. Dosis yang memiliki efektivitas tertinggi dalam menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) adalah dosis 5,834 mg/kg BB.

Kata kunci: metil merkuri klorida, sambung nyawa, eritrosit.

ABSTRACT

Wiwik Widyawati. 2007. THE EFFECTS OF LEAVES *SAMBUNG NYAWA* (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) EXTRACT TO METHYL MERCURY CONCENTRATION IN BLOOD AND THE CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTE AFTER EXPOSED BY METHYL MERCURY CHLORIDE OF RAT (*Rattus norvegicus* L.). Biologi. Faculty of Mathematics and Natural Sciences. Sebelas Maret University. Surakarta.

Methyl mercury is the most toxic of the kind of mercury which is used in society in various levels since long ago. Naturally, methyl mercury is produced from the methylation process of inorganic mercury by methanogenic bacteria on aquatic sediment. The over-existence of methyl mercury in a district area will be toxic if it enters the organism's body.

The aim of the research was to study the effects of leaves *sambung nyawa* (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) extract on methyl mercury concentration in blood and the characteristics of erythrocytes after exposure to methyl mercury chloride of rats (*Rattus norvegicus* L.) and to study the effectiveness of the dose of leaves *sambung nyawa* (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) to reduce the concentration of methyl mercury in blood and to repair the characteristics of erythrocytes after exposure to methyl mercury chloride.

The research used a Completed Random Design with 6 groups, each group having 4 repetitions. The treatments for each group were aquadest 2.5 ml (placebo), methyl mercury chloride 2.99 mg/kg BW (negative control), L-Cysteine 5.4 mg/kg BW (positive control), and the extract of *sambung nyawa* leaves at 1.945; 3.889; and 5.834 g/kg BW. The observations included the concentration of methyl mercury in blood, hemoglobin concentration, erythrocyte number, and Packed Cell Volume (PCV), which were analyzed by Analysis of Variance (Anova) and continued with Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at a significance level of 5%. Morphological observations of erythrocytes were analyzed qualitatively.

The results of the research showed that the extract of *sambung nyawa* leaves at doses of 1.945; 3.889; and 5.834 g/kg BW were effective in reducing the concentration of methyl mercury in blood and in repairing the characteristics of erythrocytes. The extract of *sambung nyawa* leaves with the highest effectiveness to reduce methyl mercury concentration in blood and to repair erythrocyte characteristics was at a dose of 5.834 mg/kg BW.

Key words: methyl mercury chloride, *sambung nyawa*, erythrocyte.

KATA PENGANTAR

Salah satu tanaman obat yang secara empiris telah digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit adalah sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.). Khasiat tanaman sambung nyawa diduga karena kandungan senyawa kimia di dalam tanaman tersebut.

Secara tradisional, sambung nyawa digunakan sebagai obat penyakit ginjal, infeksi kerongkongan, menghentikan pendarahan, dan penawar racun akibat gigitan binatang berbisa. Skrining fitokimia daun sambung nyawa diduga berkhasiat sebagai anti kanker.

Penelitian obat tradisional secara eksperimental sangat diperlukan agar dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dari segi khasiat maupun keamanannya. Penelitian ini mengambil judul "Efek Ekstrak Daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) terhadap Kadar Metil Merkuri Darah dan Karakteristik Eritrosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Paska Pemaparan Metil Merkuri Klorida". Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi penggalan potensi tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) sebagai bahan obat tradisional dan membuktikan secara ilmiah penggunaan daun sambung nyawa sebagai obat untuk menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit.

Surakarta, 9 Februari 2007

Wiwik Widyawati

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kelompok Perlakuan pada Hewan Uji	30
Tabel 2. Rata-rata Kadar Metil Merkuri (ppm) dalam Darah Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Perlakuan.....	36
Tabel 3. Rata-rata Nilai Hematokrit (%) Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Perlakuan.....	44
Tabel 4. Rata-rata Kadar Hemoglobin (g/dL) Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Perlakuan.....	47
Tabel 5. Rata-rata Jumlah Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Perlakuan.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kemobiokinetik Metil Merkuri Klorida.....	9
Gambar 2. Tumbuhan <i>Gynura procumbens</i> (Lour) Merr.	14
Gambar 3. Struktur Kimia L-sistein.....	16
Gambar 4. Kerangka Pemikiran.....	22
Gambar 5. Reaksi L-sistein dengan Ion Hg^{2+}	38
Gambar 6. Reaksi Kaemferol dengan Ion Hg^{2+}	40
Gambar 7. Reaksi Flavonol dengan Ion Hg^{2+}	40
Gambar 8. Reaksi Auran dengan Ion Hg^{2+}	41
Gambar 9. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) kontrol	54
Gambar 10. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Metil Merkuri Klorida 2,99 mg/kg BB/hari.....	54
Gambar 11. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Metil Merkuri Klorida 2,99 mg/kg BB/hari Dilanjutkan Pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB/hari.....	55
Gambar 12. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Metil Merkuri Klorida 2,99 mg/kg BB/hari Dilanjutkan Pemberian Ekstrak Daun Sambung Nyawa 1,945 g/kg BB/hari.....	56
Gambar 13. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Metil Merkuri Klorida 2,99 mg/kg BB/hari Dilanjutkan Pemberian Ekstrak Daun Sambung Nyawa 3,889 g/kg BB/hari.....	57
Gambar 14. Morfologi Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) setelah Pemberian Metil Merkuri Klorida 2,99 mg/kg BB/hari Dilanjutkan Pemberian Ekstrak Daun Sambung Nyawa 5,834 g/kg BB/hari.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tabulasi Kadar Metil Merkuri Tikus Putih pada Hari Terakhir Perlakuan.....	67
Lampiran 2. Tabulasi Nilai Hematokrit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) pada Hari Terakhir Perlakuan.....	68
Lampiran 3. Tabulasi Kadar Hb Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) pada Hari Terakhir Perlakuan.....	69
Lampiran 4. Tabulasi Jumlah Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.) pada Hari Terakhir Perlakuan.....	70
Lampiran 5. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Merkuri.....	71
Lampiran 6. Uji Anava dan DMRT Kadar Metil Merkuri Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.).....	72
Lampiran 7. Uji Anava dan DMRT Nilai Hematokrit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.).....	73
Lampiran 8. Uji Anava dan DMRT Kadar Hemoglobin Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.).....	74
Lampiran 9. Uji Anava dan DMRT Jumlah Eritrosit Tikus Putih (<i>R. norvegicus</i> L.).....	75

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. LANDASAN TEORI.....	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Merkuri.....	5
2. Metil Merkuri.....	6
a. Gambaran Umum Metil Merkuri.....	6
b. Pembentukan Metil Merkuri.....	6
c. Pemanfaatan Metil Merkuri.....	7
d. Toksisitas Metil Merkuri.....	7
e. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi Metil Merkuri.....	8
f. Nilai Ambang Batas Metil Merkuri.....	12
3. Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i> (Lour) Merr.).....	12
a. Klasifikasi, Deskripsi, dan Distribusi.....	12
b. Khasiat dan Kandungan Kimia.....	14
4. Sistein/L(+)-Sistein/ N-Asetilhomosistein/Dimerkaptopropansulfonat/ Asam- α -Amino- β -Merkapto Propionat.....	15
5. Darah.....	16
a. Gambaran Umum.....	16
b. Eritrosit.....	17
c. Hemoglobin.....	19
B. Kerangka Pemikiran.....	20
C. Hipotesis.....	22
BAB III. METODE PENELITIAN.....	23
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	23

B. Alat dan Bahan Penelitian.....	24
C. Cara Kerja.....	26
D. Analisis Data.....	34
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	35
A. Kadar Metil Merkuri dalam Darah.....	36
B. Nilai Hematokrit atau <i>Packed Cell Volume</i> (PCV).....	43
C. Kadar Hemoglobin (Hb).....	46
D. Jumlah Eritrosit.....	49
E. Perubahan Morfologi Eritrosit.....	53
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
A. Kesimpulan.....	59
B. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	67
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH.....	76

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dalam kehidupan sehari-hari, manusia terancam oleh zat kimia berbahaya yang terpapar secara langsung maupun tidak langsung. Sedikitnya 50.000 zat kimia sekarang digunakan oleh manusia dan karena tidak terhindarkan, maka manusia harus menyadari bahaya yang ditimbulkannya (Darmansjah, 1995).

Merkuri (Hg) merupakan logam berat yang umumnya bersifat toksik dan cukup berperan pada polusi lingkungan. Toksisitas merkuri tergantung dari bentuk senyawa kimia dan tempat pemaparannya (Beim *and* Groshva, 1991). Hasil pengujian toksisitas diketahui bahwa merkuri organik, khususnya metil merkuri lebih toksik dibanding jenis merkuri yang lain (Oda *and* Ingle, 1981; Beayens, 1992). Metil merkuri bersifat lipofilik sehingga dapat dengan mudah melintasi sawar darah-otak dan menyebabkan kerusakan pada sistem saraf pusat (Athena dkk., 1992; Darmono, 1995; Lu, 1995; Katzung, 1997; Hodgson *and* Levi, 2000). Gejala-gejala saraf akan terjadi pada tikus yang diberi metil merkuri selama 10-90 hari dengan dosis kumulatif 100 mg/kg BB (Buck *and* Osweiler, 1976).

Metil merkuri merupakan salah satu pencemar makanan utama. *Intake* harian metil merkuri diperkirakan 4 µg/hari, terutama lewat konsumsi ikan (US. *Public Health Service*, 1988). Merkuri yang diserap di dalam tubuh akan didistribusi dan ditimbun di jaringan tubuh (Fujiki, 1973). Metil merkuri akan berikatan dengan eritrosit, dalam bentuk Hg²⁺ (Buck *and* Osweiler, 1976). Di dalam eritrosit, Hg²⁺

dengan cepat membentuk senyawa kompleks bersama senyawa organik (Taras *et al.*, 1971).

Berbagai zat toksik menyebabkan perubahan pada eritrosit, *Packed Cell Volume*, dan hemoglobin (Hariono, 1994). *Lethal Dose₅₀* (LD₅₀) metil merkuri yang diberikan pada tikus per oral adalah 29,9 mg/kg BB dan toksisitas akutnya meliputi efek neurologi, yaitu perubahan tingkah laku dan kematian sel otak (*Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*, 1986; *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1989 dalam http://risk.lsd.ornl.gov/tox/profiles/methyl_mercury_f_v1.shtml).

Sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) merupakan salah satu tumbuhan yang daunnya banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional (Sudarto, 1991). Hasil isolasi flavonoid daun sambung nyawa didapatkan 2 macam senyawa flavonoid, yaitu kaemferol (suatu flavonol), flavonol, dan auron (Sugiyanto dkk., 1994). Kemampuan daun sambung nyawa dalam mengkelat/mengikat ion logam berat merkuri diduga karena keberadaan flavonoid (Afana's *ev et al.*, 1989; Bors *et al.*, 2000; Szymusiak *and Zielinski*, 2000).

Daun sambung nyawa sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, namun penelitian lebih lanjut mengenai khasiat tanaman ini masih harus dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara eksperimental tentang khasiat ekstrak daun sambung nyawa terhadap kadar metil merkuri dalam darah dan karakteristik eritrosit tikus putih paska pemaparan metil merkuri klorida per oral, meliputi jumlah dan morfologi eritrosit, hematokrit/*Packed Cell Volume*, serta kadar hemoglobin.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) terhadap kadar metil merkuri dalam darah dan karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L. strain Wistar) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral ?
2. Berapa dosis ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) yang efektif untuk menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L. strain Wistar) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) terhadap kadar metil merkuri dalam darah dan karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L. strain Wistar) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral.
2. Mengetahui dosis ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) yang efektif untuk menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L. strain Wistar) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini ditujukan untuk pengembangan di bidang toksikologi-farmakologi khususnya untuk :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) sebagai antidotum alami yang mampu mengkelat metil merkuri dalam tubuh paska pemaparan metil merkuri klorida per oral, sehingga dapat menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit.
2. Memberi perbandingan penggunaan antidotum kimia (L-sistein) dengan antidotum alami (ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.)) dalam upaya menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit paska pemaparan metil merkuri klorida per oral.
3. Memberi sumbangan kepada ilmu pengetahuan dan masyarakat tentang alternatif antidotum alami untuk memperbaiki efek negatif yang ditimbulkan metil merkuri

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Merkuri

Merkuri atau *hidragyrum* (Hg) adalah unsur logam penting yang telah digunakan sejak zaman dahulu. Bentuk fisika dan kimianya sangat menguntungkan untuk digunakan dalam industri dan penelitian. Merkuri berbentuk logam cair berwarna putih keperakan, dalam tabel periodik termasuk golongan IIB, menempati nomor atom 80, bobot atom 200,59, titik beku $-38,87\text{ }^{\circ}\text{C}$, dan rapatan $13,534\text{ gram mL}^{-1}$. Merkuri merupakan satu-satunya *trace element* yang mempunyai sifat cair pada temperatur ruang, mempunyai tekanan permukaan relatif tinggi $480,3\text{ dyn/cm}$, dan mempunyai miniskus cembung pada tabung gelas. Logam murninya tidak berbau, mengkilat, dan akan menguap jika dipanaskan pada suhu $356,9^{\circ}\text{C}$ (Clayton, 1978; Vogel, 1990; Darmono, 1995).

Toksistas merkuri tergantung pada bentuk kimianya (Fahy, 1987). Di bidang toksikologi, merkuri dan senyawa-senyawanya dapat dibagi, sebagai berikut :

1) Garam merkuri anorganik

Senyawa ini tidak mudah menembus membran sel, sehingga sedikit yang diserap usus, transfer ke plasenta rendah, dan biasanya masuk ke ginjal. Bentuk toksik dari merkuri anorganik ini hanya dalam jumlah kecil yang didistribusikan ke otak.

2) Garam merkuri elemental

Senyawa ini dapat teroksidasi dengan cepat menjadi ion Hg, sebelum teroksidasi dapat menembus membran, sempat larut dalam plasma, dan masuk ke eritrosit serta ke setiap organ tubuh, termasuk otak dan plasenta. Senyawa ini mudah menguap dan sangat beracun bila terhisap, tetapi tidak beracun jika termakan.

3) Merkuri organik

Senyawa ini mempunyai daya serap pada usus sangat tinggi, juga dalam eritrosit yang akan didistribusikan ke sistem saraf pusat, sehingga menyebabkan kerusakan otak secara permanen (Sumarawati, 1993).

Di antara semua logam berat, merkuri menduduki urutan pertama dalam sifat toksisitasnya, baru setelah itu: Cd, Ag, Ni, Pb, As, Cr, Sn, dan Zn (Darmono, 1995).

2. Metil Merkuri

a. Gambaran Umum Metil Merkuri

Pencemaran merkuri di alam merupakan suatu proses yang erat hubungannya dengan penggunaan logam tersebut oleh manusia. Peristiwa yang menonjol dan dipublikasikan secara meluas adalah peristiwa pencemaran metil merkuri di Jepang yang menyebabkan “*Minamata Disease*” pada tahun 1950-an. Metil merkuri merupakan senyawa merkuri yang berikatan dengan satu atom karbon (*World Health Organization*, 1976).

b. Pembentukan Metil Merkuri

Metil merkuri dihasilkan dari proses metilasi senyawa merkuri anorganik (Hg^{2+}) oleh bakteri metanogenik dalam sedimen akuatik (Darmono, 1995). Metil

merkuri bersifat sangat larut, mudah berpindah dan memasuki rantai makanan di perairan. Metil merkuri yang diabsorpsi plankton akan dibioakumulasi pada ikan karnivora sampai dengan 10.000-100.000 kali (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1997). Metil merkuri bersifat non regulatif oleh organisme air, ia akan terus terakumulasi, sehingga kandungannya dalam jaringan organisme air tersebut terus meningkat, sementara hanya sedikit sekali yang diekskresi (Darmono, 1995).

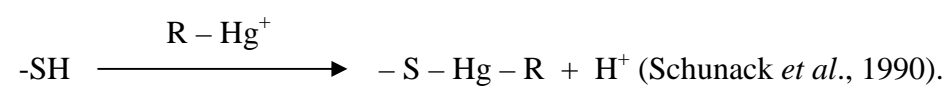
c. Pemanfaatan Metil Merkuri

Metil merkuri sejak lama dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Industri pertanian memanfaatkan senyawa merkuri organik untuk pelindung benih (Katzung, 1997) dan pestisida tanaman (Estes *et al.*, 1973). Industri pulp dan kertas menggunakan senyawa fenil merkuri asetat untuk mencegah pembentukan kapur pada pulp dan kertas basah selama proses penyimpanan. Selain itu, metil merkuri juga digunakan sebagai desinfektan benda mati (Clarke *et al.*, 1981), antiseptika (Modell *et al.*, 1976), dan untuk penelitian di laboratorium (Hunter, 1969).

d. Toksisitas Metil Merkuri

Metil Merkuri merupakan bahan berbahaya jika masuk ke dalam tubuh lewat jalur intestinal maupun pemaparan yang terus menerus dalam bentuk aerosol (Hunter, 1969). Efek toksik metil merkuri tidak hanya didasarkan pada suatu mekanisme reaksi saja, tetapi mempunyai berbagai tempat kerja. Metil merkuri bersifat lipofilik sehingga mudah melintasi sawar darah-otak dan menyebabkan kerusakan sistem saraf pusat secara permanen (*World Health Organization*, 1976). Hasil penelitian Goyer (1991) pada tikus bunting menyebutkan bahwa metil merkuri dapat melalui barier

plasenta dan terakumulasi dalam jaringan fetus tikus. Efek genotoksik metil merkuri meliputi aberasi kromosom, aneuploidi, *sister chromatid exchanges* (US. Public Health Service, 1988), dan meningkatkan frekuensi fragmen *acentrik*/kromosom patah secara signifikan (Popescu *et al.*, 1979). Metil merkuri mengganggu secara seluler dengan membuat gugus sulfidril (-SH) dalam tubuh menjadi inaktif (Chadq, 1995) dan menghambat kerja enzim mikrosom dalam retikulum endoplasma (Goering *et al.*, 1987). Namun, enzim dapat dilindungi dari kerja logam toksik dengan pemberian suatu antidotum/zat pengkelat yang akan membentuk ikatan stabil dengan logam tersebut (Lu, 1995). Metil merkuri akan mengikat secara bolak-balik gugus -SH yang sangat diperlukan berbagai enzim agar berfungsi normal dengan reaksi pengikatan, sebagai berikut :



Reaksi pengikatan tersebut akan mempengaruhi pembentukan sel-sel darah dalam sumsum tulang belakang dan menghambat pembentukan hemoglobin (Fardiaz, 1992).

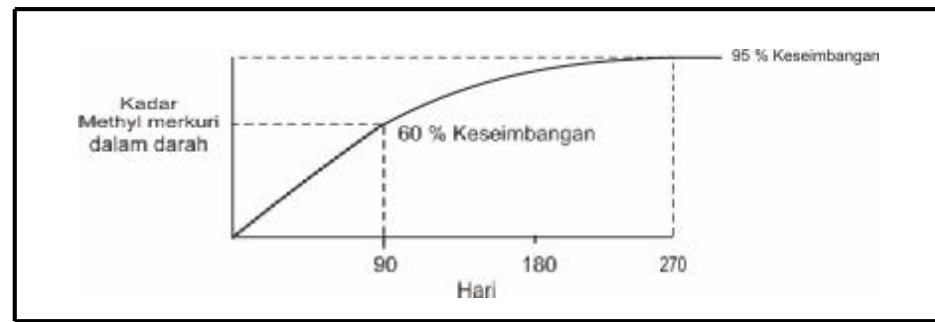
e. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi Metil Merkuri

1) Absorpsi

Metil Merkuri merupakan senyawa yang sangat toksik, ia diabsorpsi oleh tubuh melalui ingesti maupun inhalasi (Aberg *et al.*, 1969, Miettinen, 1973). Absorpsi metil merkuri di saluran pencernaan sangat tinggi, sebesar 95 % (Aberg *et al.*, 1969).

Kemobiokinetik dari metil merkuri klorida dapat diterangkan pada Gambar 1, sebagai berikut :

metil merkuri-dosis harian



Gambar 1. Kemobiokinetik Metil Merkuri Klorida

Gambar 1 di atas menunjukkan bahwa metil merkuri klorida diekskresikan sangat perlahan dan penimbunannya berangsur-angsur meningkat, sehingga kadarnya dalam darah terus naik dan baru setelah 270 hari menjadi datar (Ariens dkk., 1994).

2) Distribusi

Setelah diabsorpsi di saluran pencernaan, metil merkuri akan ditransportasikan ke eritrosit dan protein plasma (Berlin *et al.*, 1973). Metil merkuri dapat menembus membran sel tubuh dan akan terdistribusi di dalam tubuh dengan konsentrasi terbesar di sistem saraf pusat (lebih dari 10 % dari total dosis). Di sistem saraf pusat, metil merkuri berada dalam bentuk organik, tetapi di jaringan tubuh yang lain metil merkuri akan diubah dan disimpan dalam bentuk merkuri anorganik dengan konsentrasi tertinggi di hati dan ginjal. Metil merkuri mampu melintasi plasenta dan menyebabkan konsentrasi metil merkuri dalam darah fetus menjadi lebih tinggi daripada dalam darah induk (Agency for Toxic Substances and Disease Registry,

1997). Konsentrasi puncak metil merkuri dalam darah terjadi dalam 24 jam setelah awal pemberian, sedangkan konsentrasi puncak dalam otak terjadi setelah 2-3 hari (Clarkson, 1972).

3) Metabolisme

Metil merkuri dimetabolisme menjadi merkuri anorganik di hati dan ginjal. Dengan reaksi oksidasi-reduksi, bentuk merkuri anorganik ini akan memasuki eritrosit dan paru-paru dalam bentuk kation divalen (Hg^{++}) (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997). Metil merkuri di saluran pencernaan akan diubah menjadi merkuri anorganik oleh flora usus (Nakamura *et al.*, 1977; Rowland *et al.*, 1980). Metabolisme atau proses fisiologi tubuh dikenal dengan transformasi biologis (biotransformasi). Biotransformasi bahan-bahan beracun merupakan faktor penentu utama terhadap daya racun zat terkait. Melalui proses ini, bahan-bahan beracun yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami peningkatan atau penurunan daya racunnya. Dalam peristiwa ini, setiap bahan/zat yang masuk akan diolah di dalam tubuh, sehingga terjadi perubahan secara biokimia yang akan mengubah ciri-ciri fisikokimia dan kimia xenobiotik, terutama sifat lipofilnya. Metil merkuri yang bersifat sangat lipofil dan mempunyai waktu paruh yang lama, ia akan tinggal lama di dalam organisme, tertimbun dalam jaringan lemak dan hanya diekskresikan lambat, sehingga senyawa ini ditemukan dalam jangka waktu yang panjang dalam plasma dan dapat bekerja mengimbas enzim. Umumnya, peningkatan aktivitas enzim dalam

hati hilang kira-kira 10 – 14 hari setelah hilangnya zat induktor dari organisme (Ariens dkk., 1994).

Metil merkuri yang telah dioksidasi menjadi bentuk Hg^{2+} akan berikatan dengan Selenium (Se) dalam tubuh (Lu, 1995). Defisiensi Se dalam tubuh menyebabkan O_2 dan H_2O_2 dengan bantuan Fe^{++} membentuk $OH\bullet$ yang dapat menyerang lipid pada membran dan menimbulkan perubahan struktur membran (Parker *et al.*, 1995). Radikal bebas yang menyerang lipid menyebabkan reaksi peroksidasi (autooksidasi) yang dapat menimbulkan proses autokatalitik dan akan menjalar sampai jauh dari tempat asal reaksi semula, sedangkan jika menyerang nukleotida, maka akan merubah struktur DNA atau RNA penyebab mutasi atau sitotoksisitas (Gitawati, 1995).

4) Ekskresi

Metil merkuri dieksresikan di feses sebagai merkuri anorganik (Norseth *and* Clarkson, 1971). Sebagian metil merkuri dieksresikan di empedu yang kemudian diabsorpsi lagi, oleh karena itu menyebabkan sirkulasi enterohepatis dari bentuk organik tersebut. Kurang dari 1% metil merkuri dalam tubuh diekskresikan per hari dengan waktu paruh metil merkuri sekitar 70 hari (Berlin, 1973). Merkuri organik yang telah dimetabolisme menjadi merkuri anorganik tersebut juga akan dieksresikan melalui penguapan, air liur dan keringat (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1997).

f. Nilai Ambang Batas Metil Merkuri

Efek metil merkuri pada manusia terjadi jika konsentrasi metil merkuri dalam darah 200-500 ng/mL, konsentrasi ini sesuai dengan beban metil merkuri dalam tubuh sebesar 30-50 mg Hg/70 kg dan sama dengan *intake* harian sebesar 3-7 µg/kg (*World Health Organization*, 1976). *US. Public Health Service* (1988) telah memperkirakan *intake* harian metil merkuri sebesar 4 µg/hari, terutama lewat konsumsi ikan. Efek keracunan metil merkuri terjadi setelah beberapa minggu atau beberapa bulan tergantung akumulasi total metil merkuri dalam tubuh (*World Health Organization*, 1976).

3. Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.

a. Klasifikasi, Deskripsi, dan Distribusi

Di Indonesia, sambung nyawa dikenal dengan beberapa nama daerah, seperti *daun dewa*, *beluntas cina* (Heyne, 1987), dan *ngokilo* (Soemarmo, 1983). Tanaman ini merupakan anggota famili Asteraceae/Compositae dengan nama spesies *Gynura procumbens* (Lour) Merr., *G. procumbens* Backer, *G. sarmentosa* (BL) CD, *Cacalia procumbens* Lour, dan *C. sarmentosa* BL (Backer and van Den Brink, 1965; Perry, 1980; Heyne, 1987).

Menurut van Steenis (1947) dan Backer and van den Brink (1965), klasifikasi dari *G. procumbens* (Lour) Merr. adalah, sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Asterales (Campanulatae)
Familia : Asteraceae
Genus : *Gynura*
Species : *Gynura procumbens* (Lour) Merr.

Tanaman sambung nyawa diduga berasal dari Myanmar dan tersebar sampai Cina serta Asia Tenggara (Jawa, Kalimantan, dan Filipina) (Sudarto, 1990). Di Jawa banyak ditemukan pada ketinggian 1-1200 m dpl, terutama tumbuh dengan baik pada ketinggian 500 m dpl, banyak tumbuh di selokan, semak belukar, hutan terang, dan padang rumput (Backer *and* van den Brink, 1965).

Sambung nyawa (Gambar 2) berupa tanaman perdu tegak jika masih muda, dan merambat jika sudah cukup tua, berperawakan herba berdaging. Batang segiempat beruas-ruas berwarna hijau dengan bercak ungu. Daunnya berupa daun tunggal berbentuk ellips memanjang, tersebar, tepi daun bertoreh, berambut halus, panjang tangkai 0,5-3,5 cm, helaian daun 3,5-12,5 cm dengan bagian atas berwarna hijau muda mengkilat, tulang daun menyirip dan menonjol pada permukaan daun bagian bawah, dan lebar daunnya 1-5,5 cm. Susunan bunga majemuk cawan berwarna orange-kuning, mahkota bertipe tabung berwarna hijau/jingga, benang sari berbentuk jarum berwarna kuning dengan kepala sari berlekatan menjadi satu, dan brachtea involucralis berbentuk garis berujung runcing/tumpul. Buah berbentuk jaring, berwarna coklat, dan berkarpopodium pada bagian basalnya (van Steenis *et al.*, 1975; Backer *and* van Den Brink, 1965).



Gambar 2. Tumbuhan *Gynura procumbens* (Lour) Merr.

b. Khasiat dan Kandungan Kimia

Secara tradisional, sambung nyawa digunakan sebagai obat penyakit ginjal, infeksi kerongkongan, menghentikan pendarahan, dan penawar racun akibat gigitan binatang berbisa. Skrining fitokimia daun sambung nyawa diduga berkhasiat sebagai anti kanker, antara lain kanker kandung, kanker payudara, dan kanker darah (Soemarmo, 1983).

Tanaman sambung nyawa mengandung flavonoid, sterol tak jenuh, triterpenoid, polifenol, tanin, saponin, steroid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam para kumarat, asam para hidroksi benzoat, dan minyak atsiri. Lebih spesifik lagi, dari hasil uji isolasi flavonoid dilaporkan keberadaan 2 macam senyawa flavonoid, yaitu kaemferol (suatu flavonol), flavonol, dan auron. Diduga juga keberadaan isoflavon dengan gugus hidroksil pada posisi 6 atau 7, 8 (cincin A) tanpa gugus hidroksil pada cincin B (Sugiyanto dkk., 1994).

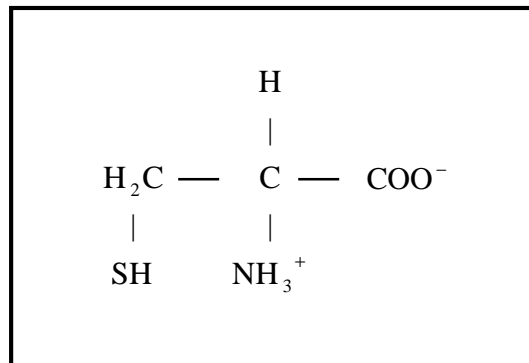
Secara *in vivo*, flavonoid yang terabsorpsi akan aktif menghambat radikal bebas yang diakibatkan oleh sitotoksitas oleh peroksidasi lemak (Yuting *et al.*, 1990). Secara *in vitro*, flavonoid menghambat peroksidasi lemak, pada tahap inisiasi berperan sebagai pengikat anion superoksida dan radikal hidroksil. Reaksi radikal selanjutnya diakhiri oleh flavonoid dengan mendonorkan atom hidrogen pada radikal peroksida membentuk radikal flavonoid sekaligus mengakhiri rantai reaksi. Flavonoid juga dapat menghambat superoksidasi fenton, yaitu sumber penting radikal O_2 aktif (Afana's *ev et al.*, 1989). Flavonoid telah dilaporkan dapat mengkelat ion besi (Fe^{++}) dan membentuk kompleks inert/lambat yang tidak dapat menginisiasi *lipid peroxidation* (Middleton *et al.*, 2000). Hasil penelitian Szymusiak *and* Zielinski (2000), flavonoid jenis quercetin dapat mengkelat logam dengan kation divalen, di antaranya Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , dan Cu^{2+} .

4. Sistein/ L(+)-Sistein/ N-Asetilhomosistein/ Dimerkaptopropansulfonat/ Asam- α -Amino- β -Merkapto Propionate

Ikatan zat pada protein plasma dapat dicapai dari luar menggunakan zat pembentuk kelat/kelator (Ariens *dkk.*, 1994). Kelator adalah suatu antagonis logam berat yang berkompetisi dengan gugus reaktif logam tersebut, sehingga meningkatkan pengeluaran logam dari tubuh dan mencegah efek toksik logam tersebut. Kelator ini merupakan antidotum paling serbaguna dan efektif untuk keracunan logam berat. Senyawa ini berupa molekul fleksibel dengan 2 atau lebih gugus elektronegatif yang dapat membentuk ikatan kovalen-koordinat stabil dengan atom logam kation.

Kompleks yang terbentuk akan diekskresikan oleh tubuh (Ariens dkk., 1994; Katzung, 1997).

Sistein digunakan untuk mengatasi keracunan merkuri organik (Mutschler, 1991). Zat ini berinteraksi langsung dengan ion logam Hg^{2+} dalam darah serta jaringan dan mereaktivasi enzim selular yang mengandung gugus sulfidril (Katzung, 1997). Adapun struktur kimia sistein menurut Riawan (1990) tercantum dalam Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Sistein

5. Darah

a. Gambaran Umum

Darah adalah jaringan cair yang mengalir dalam sistem sirkulasi tertutup, tersusun oleh plasma 55 % dan sel darah 45 %. Unsur sel darah terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit yang tersuspensi dalam plasma. Unsur sel darah mempunyai jangka waktu hidup tertentu, sehingga dibutuhkan proses pembentukan sel darah tersebut. Organ pembentuk sel darah utama adalah sumsum tulang dan nodus limfatikus (Wulangi, 1993; David, 1995).

Darah berperan sebagai pembawa berbagai zat dalam sistem sirkulasi, yaitu sistem transport yang menghantarkan O_2 dan berbagai zat yang diabsorpsi dari

saluran pencernaan menuju jaringan, mengembalikan CO₂ ke paru-paru serta hasil metabolisme lainnya menuju ginjal (Ganong, 1999).

Zat kimia yang diberikan kepada hewan per oral akan melewati saluran pencernaan masuk ke sistem sirkulasi menuju sel (Lu, 1995). Umumnya, kadar zat kimia di organ sasaran sama dengan kadarnya di dalam darah.

b. Eritrosit

Secara morfologi, eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, jika dilihat pada bidang datar berbentuk bulat. Pada penyakit-penyakit tertentu ditemukan eritrosit-eritrosit yang telah berubah bentuk di dalam peredaran darah. Eritrosit bersifat elastis dan mampu berubah bentuk, hal ini terbukti dari kemampuannya melalui kapiler-kapiler berdiameter kecil (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Eritrosit berfungsi untuk transport O₂ dan CO₂. Selama perkembangan, dibentuk hemoglobin. Sebelum dilepaskan ke peredaran darah, inti eritrosit lisis dan menjelang dewasa semua organel sitoplasma berdegenerasi. Oleh karena itu, eritrosit yang telah berkembang hanya terdiri dari membran plasma yang membungkus hemoglobin serta sejumlah enzim untuk fungsi transport gas (Burkitt dkk., 1995). Jumlah eritrosit pada hewan berbeda-beda, dipengaruhi faktor spesies, umur, jenis kelamin, lingkungan, status nutrisi, dan iklim. Jumlah eritrosit pada tikus putih normal adalah $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ darah (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Kelainan morfologi eritrosit yang dapat diamati dalam sediaan apus darah dapat berupa kelainan bentuk, warna, adanya badan inklusi, serta ditemukannya retikulosit. Adanya retikulosit dalam apus darah secara umum menggambarkan proses pembentukan eritrosit dalam sumsum tulang sangat tinggi dan menunjukkan banyaknya eritrosit dalam peredaran darah yang mengalami penghancuran. Kelainan

bentuk dan warna eritrosit disebabkan gangguan osmotik antara eritrosit dengan plasma, serta perubahan kandungan hemoglobin (Burkitt, 1995; Tjokronegoro, 2000). Sel-sel eritrosit yang berdiameter lebih kecil dari 6 μm dinamakan mikrosit, sedangkan sel yang berdiameter lebih besar dari normal yang umumnya terdapat pada beberapa jenis anemia, disebut makrosit/megalosit (Lesson dkk., 1996). Sebuah eritrosit segar berwarna kuning kehijauan dan pada sajian apus darah kering terpulas merah (asidofil) dengan pewarnaan Leishman atau Giemsa. Bila kecepatan pembentukan eritrosit lebih besar daripada kecepatan sintesis hemoglobin, maka eritrosit yang dihasilkan akan mengandung hemoglobin yang kurang daripada eritrosit normal dan sel-sel akan nampak lebih pucat (hipokrom) daripada eritrosit normal (normokrom) (Lesson dkk., 1996). Kelainan warna eritrosit yang lain adalah polikrom, yaitu eritrosit tampak lebih besar dan berwarna lebih biru (dalam pewarnaan Giemsa) (Tjokronegoro, 2000).

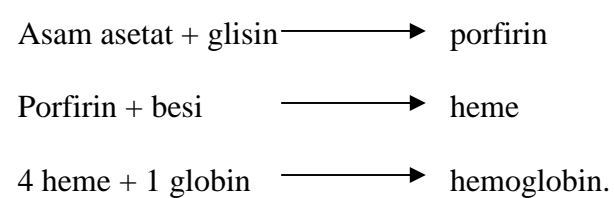
Badan inklusi terdapat di sitoplasma eritrosit, yang sering dijumpai adalah titik-titik basofil dan *Heinz bodies*. Titik-titik basofil merupakan sisa-sisa RNA dalam sitoplasma. *Heinz bodies* adalah massa di dalam sitoplasma yang terbentuk karena dematurasi hemoglobin, dapat dilihat dengan pewarnaan Giemsa. Dalam keadaan normal *Heinz bodies* akan segera dihancurkan di dalam limpa, namun jika tubuh mengalami gangguan metabolisme, maka akan mudah diamati dalam sajian apus darah (Widmann, 1999). Kelainan morfologi eritrosit dipengaruhi keadaan metabolisme tubuh, kecepatan pembentukan eritrosit (termasuk umur eritrosit di dalam darah) dan keadaan darah.

Perbandingan eritrosit dalam suatu volume darah disebut hematokrit/*Packed Cell Volume*, nilai normalnya bervariasi pada masing-masing spesies. Nilai hematokrit tikus putih normal adalah 45-47 % (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Berbagai zat toksik menyebabkan perubahan pada eritrosit, *Packed Cell Volume*, dan hemoglobin (Hariono, 1994). Logam berat umumnya mempengaruhi pembentukan sel-sel darah dalam sumsum tulang belakang dan menghambat sintesis hemoglobin. Penghambatan ini disebabkan terbentuknya ikatan kovalen antara kation logam divalen dengan grup sulfur di dalam asam amino-asam amino (misal sistein) dari enzim yang terlibat dalam sintesis hemoglobin (Fardiaz, 1992).

c. Hemoglobin

Hemoglobin merupakan senyawa organik terdiri dari 4 pigmen porfirin merah, masing-masing mengandung atom besi ditambah globin (Frandsen, 1981). Hemoglobin dihasilkan oleh eritrosit yang disintesis dari asam asetat dan glisin, tersusun dari 4 molekul heme yang masing-masing berikatan dengan 1 molekul polipeptida globin.

Menurut Rastogi (1977), proses pembentukan hemoglobin adalah, sebagai berikut :



Globin adalah komponen protein dan heme, bukan komponen protein besi. Heme tersusun atas sitokrom , peroksidase, dan myoglobin. Struktur heme mengandung cincin pyrol yang diikat bersama oleh metana membentuk porphin nukleus pada semua porfirin (Schalm *et al.*, 1975). Empat molekul polipeptida globin terdiri dari 2

jenis, yaitu 2 rantai α -polipeptida globin dan 2 rantai polipeptida lain, tergantung jenis hemoglobin (Hb)-nya, yaitu rantai β untuk HbA, rantai δ untuk HbA₂, dan rantai γ untuk HbF. Setiap pasang heme dan globin mengikat 2 atom O₂ (David, 1995; Guyton, 1995).

Sintesis heme dan globin diawali oleh ALA-sintase yang mempengaruhi penggabungan suksinat dan glisin membentuk asam δ -amino levulenat (ALA). Dua molekul ALA bergabung menjadi porfobilinogen dan 4 porfobilinogen membentuk uroporfirinogen yang dapat berkonversi menjadi protoporfirin. Protoporfirin akan berikatan dengan besi menghasilkan heme. Heme dapat menghambat ALA-sintase dan menjadi kontrol balik sintesis porfirin (Baron, 1995; Widmann, 1999). Jumlah hemoglobin pada tikus putih normal sebesar 13 g/dl (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

B. Kerangka Pemikiran

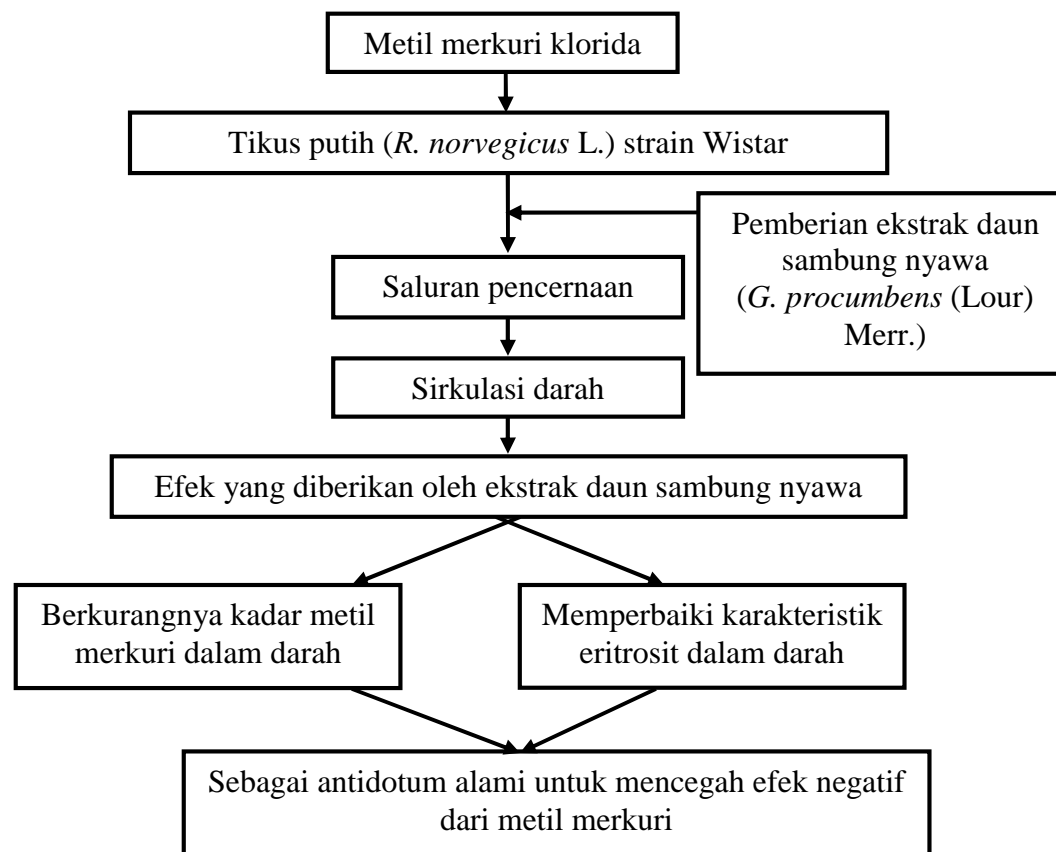
Metil merkuri merupakan jenis merkuri paling toksik. Metil merkuri bersifat lipofilik, sehingga dengan mudah melintasi sawar darah-otak dan menyebabkan kerusakan sistem saraf pusat. Metil merkuri sejak lama dimanfaatkan masyarakat dalam berbagai bidang. Walaupun usaha besar telah dilakukan untuk mengurangi kasus keracunan metil merkuri, ternyata metil merkuri masih dapat ditemukan. Metil merkuri masih tersisa dalam sedimen sungai dan danau sampai sekitar 40 tahun. Selama kurun waktu tersebut, metil merkuri dapat masuk ke dalam rantai makanan dan terkontaminasi dalam tubuh hewan air. Hal ini disebabkan sifat metil merkuri

yang akumulatif. *Intake* harian metil merkuri pada masyarakat di daerah tertentu terutama lewat konsumsi ikan.

Darah merupakan salah satu sistem biologi yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi paparan logam berat di dalam tubuh makhluk hidup. Ekstrak daun sambung nyawa diduga berkhasiat mengkelat/mengikat ion logam merkuri dalam darah paska pemaparan metil merkuri klorida karena di dalam ekstrak daun sambung nyawa mengandung flavonoid, yaitu golongan kaemferol (suatu flavonol), flavonol, dan auron. Golongan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sambung nyawa tersebut mengandung gugus fungsi hidroksil dan karboksil yang dapat mengikat ion logam merkuri. Dengan adanya pengikatan ini, maka ion logam merkuri akan kehilangan aktivitas biologinya dan diubah menjadi kelat yang larut sehingga mudah diekskresikan oleh ginjal.

Proses oksidasi senyawa toksik dalam eritrosit menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak sel dan jaringan. Adanya radikal bebas ini menyebabkan perubahan pada karakteristik darah. Flavonoid telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan yang mampu menghambat terjadinya kerusakan sel akibat proses oksidasi. Selain itu, flavonoid juga mempunyai kemampuan mengaktifkan dan menginduksi sintesis enzim yang terlibat dalam metabolisme bermacam-macam xenobiotik yang lipofil.

Dari uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sambung nyawa terhadap kadar metil merkuri dan karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L. strain Wistar) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral.



Gambar 4. Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

1. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) per oral dengan dosis 3,889 g/kg BB mampu menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) strain Wistar paska pemaparan metil merkuri klorida.
2. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) dengan dosis 3,889 g/kg BB efektif menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) paska pemaparan metil merkuri klorida per oral.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan April sampai dengan Juli 2006 yang meliputi pembuatan ekstrak, pemberian perlakuan pada hewan percobaan, pengukuran kadar metil merkuri dan pengukuran kadar hemoglobin dalam darah, penghitungan jumlah eritrosit, pengukuran hematokrit/*Packed Cell Volume*, pembuatan preparat apus darah, serta pengamatan hasil penelitian.

2. Tempat Penelitian

- a. Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu Karanganyar Surakarta sebagai tempat memperoleh daun sambung nyawa. Laboratorium Pusat MIPA Sub Lab. Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta untuk pembuatan ekstrak daun sambung nyawa.
- b. Layanan Penelitian Pra-klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan-Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LP3HP-LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta sebagai tempat memperoleh tikus, pemeliharaan dan memberi perlakuan.
- c. Laboratorium Balai Penyelidikan Penyakit Veteriner (BPPV) Wates Yogyakarta sebagai tempat untuk pengukuran kadar metil merkuri dalam darah tikus uji.
- d. Laboratorium Patologi Klinik Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk pengukuran kadar hemoglobin dalam darah, penghitungan jumlah eritrosit,

pengukuran hematokrit/*Packed Cell Volume*, pembuatan preparat apus darah, dan pemotretan preparat apus darah.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat-alat Penelitian

1. Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun sambung nyawa:
Blender, alat potong, pipet ukur, *magnetic stirrer*, *hot plate*, neraca analitik, kertas saring, Erlenmeyer ukuran 500 ml, batang pengaduk, *rotary evaporator*, corong, oven, pipet ukur, pipet volume, dan desikator.
2. Alat yang digunakan untuk perlakuan terhadap hewan uji :
Disposable syringe 2.5 cc, *canule*, kandang untuk pemeliharaan tikus, dan tempat air minum.
3. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah :
Kapiler hematokrit/mikrohematokrit, cangkir porselin ukuran 100 ml, timbangan elektrik, pipet, dan tabung *Eppendorf*.
4. Alat yang digunakan untuk pengukuran kadar metil merkuri dalam darah :
Oven merk Fisher Scientific, lumpang porselin, neraca analitik, pipet, labu ukur, Erlenmeyer, corong, kertas saring Whatman 42, alat Gorsuch termodifikasi, spektrometer, serapan atom perkin Elmer 3110 dengan panjang gelombang 253,6 nm yang dilengkapi dengan sistem uap dingin/MHS-10.
5. Alat yang digunakan untuk pengukuran kadar hemoglobin:
Kit Hb Merck 3317.

6. Alat yang digunakan untuk penghitungan jumlah eritrosit :
Hematokrit, pipet volumetric 0,5 ml; 2 ml; dan 4 ml, kamar hitung *Double Improved Neubauer*, kaca penutup, dan mikroskop.
7. Alat yang digunakan untuk penghitungan hematokrit/*Packed Cell Volume*:
Mikrohematokrit, *microcapillary reader*, dan sentrifuge.
8. Alat yang digunakan untuk pembuatan dan pengamatan preparat apus darah :
Kaca objek ukuran 25x75 mm, rak kaca objek, kapas, kertas label, dan mikroskop cahaya yang terhubung dengan kamera Nikon Eclipse E 400.

2. Bahan-Bahan Penelitian

- a. Bahan untuk pembuatan ekstrak :
Daun sambung nyawa (*G. procumbens* (Lour) Merr.) yang besar dan sehat (nomor 3 dari pucuk), etanol 95 %, dan aquades.
- b. Bahan untuk perlakuan:
Tikus putih jantan (*R. norvegicus* L.) strain Wistar umur 2 bulan dengan berat rata-rata 200 g sebanyak 24 tikus, Par G pelet sebagai pakan, aquades, air minum, dan L-sistein.
- c. Bahan untuk Pengambilan Sampel Darah:
NaEDTA 1 %.
- d. Bahan untuk pengukuran kadar metil merkuri dalam darah :
Sampel darah tikus uji, air bebas mineral, CH_3Hg^+ 10 g/L dalam metanol yang berasal dari CH_3HgCl , HCL 1 M, NaBH_4 2,5 % (b/v), H_2SO_4 p.a. 96 %, HNO_3 p.a. 65 %, H_2O_2 p.a. 30 %, KMnO_4 5 %, NaOH 1 % (b/v), HNO_3 1,5 % (v/v).

- e. Bahan untuk pengukuran kadar hemoglobin :
Larutan Drabkin yang terdiri atas natrium bikarbonat 1 g, kalium sianida 50 mg, kalium ferrisianida 200 mg, dan aquades 1000 ml.
- f. Bahan untuk penghitungan jumlah eritrosit :
Larutan Hayem.
- g. Bahan untuk pembuatan preparat apus darah :
Metanol, air mengalir, dan zat warna Giemsa (1 gram dalam 10 ml metanol).

C. Cara Kerja

1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan uji dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok perlakuan terdapat 4 ulangan.

2. Persiapan Hewan Uji

Sebelum perlakuan, tikus putih jantan berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 g diadaptasikan dahulu pada kondisi laboratorium selama 1 minggu dengan diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Tikus-tikus ini dipelihara di dalam kandang perlakuan yang masing-masing terdiri dari 4 tikus (total perlakuan : 24 tikus putih jantan).

3. Penimbangan Berat Badan Tikus

Sebelum pemberian bahan uji per oral, tikus uji ditimbang berat badannya lebih dahulu untuk mengetahui berat awalnya. Penimbangan berat badan ini dilakukan 2 hari sekali untuk mengetahui perubahan berat badannya.

4. Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Daun yang telah dibersihkan dari kotoran dicuci dengan akuades lalu dikeringanginkan selama satu malam, selanjutnya daun dimasukkan ke dalam oven bersuhu 37-40 °C sampai daun menjadi kering. Daun yang telah kering lalu dipotong kecil-kecil dan diblender. Serbuk daun yang diperoleh dari hasil pembenderan lalu dimaserasi dengan larutan etanol 95 % selama 24 jam. Setelah itu filtrat diperoleh dengan menyaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimal 60 °C dengan kecepatan putar 150 per menit. Ekstrak lembek yang diperoleh dari proses ini kemudian dikeringkan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering ini kemudian digunakan untuk perlakuan kepada hewan uji (Sudarto, 1990).

5. Penentuan Dosis

a. Penentuan Dosis Metil Merkuri Klorida/MMK (CH₃HgCl)

Berdasarkan nilai LD₅₀ metil merkuri yang diberikan pada tikus per oral adalah 29,9 mg/kg BB (*Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*, 1986; *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1989 dalam http://risk.lsd.ornl.gov/tox/profiles/methyl_mercury_f_v1.shtml), maka batas aman yang digunakan adalah 10% dari LD₅₀, yaitu 2,99 mg/kg BB. Dosis ini sebelum diberikan pada tikus harus dilarutkan dahulu dengan aquades.

b. Penentuan Dosis Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Lethal Dose ₅₀ (LD₅₀) untuk ekstrak daun sambung nyawa yang larut dalam etanol per oral pada mencit adalah 5,556 g/kg BB (Eva dkk., 1993). Dosis yang digunakan sebesar 0,556 g/kg BB yang diperoleh dari 10 % LD₅₀ ekstrak daun

sambung nyawa. Dosis tersebut adalah dosis untuk mencit. Berdasarkan tabel konversi didapatkan faktor konversi dari mencit (20 g) ke tikus (200 g) adalah 7 (Lourence *and* Bacharach, 1964), sehingga didapatkan dosis terapi untuk tikus sebesar 3,889 g/kg BB yang diperoleh dari hasil perhitungan ($0,556 \text{ g/kg BB} \times 7$). Ekstrak daun sambung nyawa ini dilarutkan dalam aquades dahulu sebelum diberikan kepada tikus. Dosis yang diperoleh kemudian divariasikan menjadi 0,5; 1,0 dan 1,5 kali lipatnya. Jadi, dosis yang digunakan dalam perlakuan adalah 1,945; 3,889; dan 5,834 g/kg BB.

c. Penentuan Dosis L-Sistein

Terapi untuk mengatasi keracunan merkuri organik adalah dengan memberikan L-sistein dosis 300 mg per hari (Mutschler, 1991) per oral selama 10 hari (Chadhq, 1995). Dosis tersebut adalah dosis untuk manusia. Berdasarkan tabel konversi didapatkan faktor konversi dari manusia (70 kg) ke tikus (200 g) adalah 0,018 (Lourence *and* Bacharach, 1964), sehingga didapatkan dosis terapi untuk tikus sebesar 5,4 mg/kg BB yang diperoleh dari hasil perhitungan ($300 \text{ mg} \times 0,018$).

6. Perlakuan Hewan Uji

Dua puluh empat tikus jantan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok sebanyak 4 tikus. Tikus uji diberi pakan Par G pelet dan minum secara *ad libitum*. Tiap kelompok diperlakukan selama 20 hari dengan masing-masing kelompok adalah, sebagai berikut :

Kelompok I (plasebo) : 2,5 ml akuades selama 20 hari.

Kelompok II (kontrol negatif) : metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB/hari selama 10 hari dilanjutkan 2,5 ml aquades selama 10 hari.

Kelompok III (kontrol positif) : metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB/hari selama 10 hari dilanjutkan L-sistein 5,4 mg/kg BB/hari selama 10 hari.

Kelompok IV : metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB /hari selama 10 hari dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB/hari selama 10 hari.

Kelompok V : metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB/hari selama 10 hari dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/kg BB/hari selama 10 hari.

Kelompok VI : metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB/hari selama 10 hari dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB/hari selama 10 hari.

Metil merkuri klorida diberikan selama 10 hari (hari ke-1 sampai dengan hari ke-10) untuk menimbulkan akumulasi metil merkuri klorida dalam darah tikus pada kelompok perlakuan II, III, IV, IV, dan IV. L-sistein diberikan selama 10 hari, yaitu hari ke-11 sampai dengan hari ke-20 (Chadq, 1995) setelah tikus uji (kelompok perlakuan III) dipapari metil merkuri klorida per oral selama 10 hari.

Pemberian ekstrak daun sambung nyawa dilakukan per oral menggunakan *disposable syringe 2.5 cc* yang ujungnya telah diganti dengan *canule* dan dimasukkan melalui mulut tikus yang telah dipapari metil merkuri klorida selama 10 hari, yaitu pada kelompok perlakuan IV, V, dan VI, setiap hari selama 10 hari (hari ke-11 sampai dengan hari ke-20).

Perlakuan pada hewan uji di atas dapat digambarkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan pada Hewan Uji

Perlakuan Hari ke	Kelompok Perlakuan					
	I	II	III	IV	V	VI
1	x	v	v	v	v	v
2	x	v	v	v	v	v
3	x	v	v	v	v	v
4	x	v	v	v	v	v
5	x	v	v	v	v	v
6	x	v	v	v	v	v
7	x	v	v	v	v	v
8	x	v	v	v	v	v
9	x	v	v	v	v	v
10	x	v	v	v	v	v
11	x	-	●	*	**	***
12	x	-	●	*	**	***
13	x	-	●	*	**	***
14	x	-	●	*	**	***
15	x	-	●	*	**	***
16	x	-	●	*	**	***
17	x	-	●	*	**	***
18	x	-	●	*	**	***
19	x	-	●	*	**	***
20	x	-	●	*	**	***

Keterangan :

- x : pemberian aquades 2,5 ml
- v : pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades
- : pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades
- * : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades
- ** : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/ kg BB dalam 2,5 mL aquades
- *** : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

Pengamatan gejala klinis tentang keadaan fisik dan berat badan tikus dilakukan setiap 2 hari sekali selama 20 hari berturut-turut. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-21. Darah diambil melalui vena orbitalis di *canthus medialis* mata dan dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang sudah diisi NaEDTA 1 %.

7. Penghitungan Kadar Metil Merkuri dalam Darah dengan Spektrometri

Serapan Atom Uap Dingin Sistem Batch

a. Pembuatan Larutan Induk Merkuri

Ditimbang 1,3539 g HgCl_2 anhidrat, lalu dilarutkan dalam HCl 1 M dan diencerkan sampai 1 liter.

b. Pembuatan Larutan Standar

Larutan induk merkuri diencerkan dengan air bebas mineral menjadi larutan standar 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb dan 150 ppb.

c. Pembuatan Larutan Reduktor

Natrium borohidrid (NaBH_4) 0,75 g dilarutkan dalam NaOH 1 % (b/v), lalu diencerkan hingga 100 ml dengan NaOH 1 % (b/v).

d. Destruksi Sampel

Sampel darah NaEDTA diambil sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam cangkir porselen yang sudah ditimbang terlebih dahulu, lalu dikeringkan dalam oven sampai benar-benar kering dengan metode kering beku (*dry ice*). Sampel kering yang sudah berbentuk serbuk ditimbang sebanyak 5 g, dimasukkan dalam labu leher tiga. Sampel ditambahi dengan HNO_3 p.a. 65% dan H_2SO_4 p.a. 96 % masing-masing sebanyak 5 ml. Sampel dalam labu alas bulat dihubungkan dengan alat Gorsuch Termodifikasi. Panaskan pada suhu 60°C selama 30 menit, setelah itu ditambahkan HNO_3 5 ml ke dalam sampel. Suhu dinaikkan menjadi 120°C lalu 150°C , pemanasan dilakukan dalam mantel pemanas yang dilengkapi termometer. Jika sampel berubah menjadi warna hitam maka ditambahkan H_2O_2 p.a. 30% tetes

demu tetes sampai sampel berwarna jernih. Setelah sampel dingin disaring dengan kertas saring, lalu diencerkan sampai 50 ml dengan air bebas mineral.

e. Analisis Merkuri

Mula-mula *Atomic Absorption Spectrofotometri* (AAS) dihidupkan, setelah alat AAS siap digunakan, larutan-larutan standar yang telah disiapkan dengan konsentrasi yang bervariasi, masing-masing diambil 5 ml dan ditambah 5 tetes HNO_3 1,5 % (v/v) dan KMNO_4 5 %, lalu dimasukkan ke dalam botol reaksi di alat MHS-10 yang terhubung pada alat AAS Perkin Elmer 3110, lalu diukur absorbansinya dengan 4 kali perulangan. Untuk larutan sampel dengan cara yang sama seperti pada larutan standar, juga diukur absorbansinya.

8. Pengukuran Kadar Hemoglobin

Pengukuran dilakukan dengan metode sianmethemoglobin. Sampel darah NaEDTA diambil sebanyak 20 μl , dimasukkan ke dalam larutan Drabkin 5 ml menggunakan mikropipet, dicampur dengan cara membalikkannya beberapa kali agar hemoglobin lepas, lalu setiap bentuk hemoglobin diubah menjadi bentuk stabil. Setelah 3 menit diukur absorbansi larutan darahnya pada gelombang 540 nm, sebagai blanko digunakan larutan Drabkin. Kadar hemoglobin ditentukan dari perbandingan absorbansinya dengan absorbansi standar sianmethemoglobin, yaitu: Kadar hemoglobin = absorbansi yang teramati \times 36,8 Hb/dl (Gandasoebrata, 1992; Tjokronegoro, 2000).

9. Penghitungan Jumlah Eritrosit

Sampel darah NaEDTA diisap dengan pipet eritrosit sampai tanda garis 1,0 dan larutan pengencer sampai tanda garis 101. Larutan pengencer yang digunakan

adalah larutan Hayem dengan perbandingan 1:200. Sampel darah dicampur selama 1 menit dan dibiarkan selama 3 menit agar eritrosit mengendap. Eritrosit dihitung di dalam kamar hitung *Double Improve Neubauer* pada kelima bidang berukuran sedang yang masing-masing dibagi menjadi 16 bidang kecil, sehingga didapatkan faktor jumlah eritrosit per μl darah menjadi 5000E (E adalah jumlah eritrosit) (Gandasoebrata, 1992; Tjokronegoro, 2000). Eritrosit diamati dengan mikroskop perbesaran 100x

10. Pengukuran Kadar Hematokrit/Packed Cell Volume

Sampel darah NaEDTA dihisap menggunakan pipa hematokrit. Tabung ditutup dengan bahan penutup jika volume darah mencapai $\frac{3}{4}$ bagian pipa. Pipa kapiler berisi darah disentrifuge kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Pengukuran dilakukan dengan membandingkan bagian darah yang mengendap dengan seluruh bagian darah yang berada di tabung mikrohematokrit (Benjamin, 1987).

11. Pembuatan Preparat Apus Darah Tikus Uji

Pembuatan sediaan preparat apus darah dilakukan di atas kaca objek yang telah dibersihkan dengan sedikit metanol, sehingga bebas lemak dan kotoran. Darah ditetaskan pada jarak kurang lebih 2-3 mm dari ujung kaca objek, kemudian dibuat film hapusan darah tipis dan rata dengan cara menggeser kaca penghapus secepat mungkin. Kaca penghapus sebelumnya telah diletakkan di depan tetesan darah dengan sudut 30-45°. Pewarnaan dilakukan menggunakan cat warna Giemsa tanpa melakukan fiksasi terlebih dahulu, karena zat warna Giemsa sudah mengandung metanol. Zat warna ditetaskan pada sediaan sebanyak 20 tetes dan dibiarkan 5-12

menit. Zat warna yang berlebihan dibersihkan dengan air suling perlahan-lahan, kemudian dikeringkan dalam posisi vertikal.

D. Analisis Data

Analisis yang digunakan adalah analisis kuantitatif dan kualitatif menggunakan program SPSS 12. Analisis kuantitatif digunakan dalam pengamatan data primer, yaitu kadar metil merkuri dan kadar hemoglobin dalam darah, hematokrit/*Packed Cell Volume*, serta jumlah eritrosit. Hasil percobaan dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan apabila terdapat beda nyata antar perlakuan maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf signifikansi 5 %. Data yang diperoleh dari pengamatan preparat apus darah tikus uji dianalisis secara deskriptif. Data kualitatif yang lain berupa keadaan fisik dan berat badan tikus uji dijadikan data pendukung.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Metil merkuri sejak lama dimanfaatkan dalam berbagai bidang, di antaranya industri pertanian memanfaatkan senyawa merkuri organik untuk pelindung benih (Katzung, 1997) dan pestisida tanaman (Estes *et al.*, 1973), industri pulp dan kertas menggunakan senyawa fenil merkuri asetat untuk mencegah pembentukan kapur pada pulp dan kertas basah selama proses penyimpanan, sebagai desinfektan benda mati (Clarke *et al.*, 1981), antiseptika (Modell *et al.*, 1976), dan untuk penelitian di laboratorium (Hunter, 1969). Penggunaan yang berlebihan dan terus menerus menyebabkan akumulasi metil merkuri di alam dan masuk ke rantai makanan. Metil merkuri merupakan bahan berbahaya jika masuk ke tubuh. Efek toksiknya tidak hanya didasarkan pada suatu mekanisme reaksi saja, tetapi mempunyai berbagai tempat kerja.

Zat kimia dapat menimbulkan efek berbahaya jika kadarnya dalam jumlah cukup besar bersentuhan dengan mekanisme biologi tertentu. Faktor penting yang mempengaruhi potensi aman tidaknya suatu zat kimia adalah hubungan antara dosis (kadar) zat kimia dengan efek yang ditimbulkannya (Loomis, 1978). Sifat toksik zat kimia tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan fungsional, biokimiawi, atau struktural. Zat kimia dapat masuk ke dalam tubuh melalui berbagai jalan. Pada penelitian ini, metil merkuri klorida diberikan pada tikus uji per oral, sehingga zat tersebut akan melalui saluran cerna, masuk ke sistem sirkulasi, dan kemudian ke sel. Dalam keadaan normal, tubuh mampu mengeliminasi xenobiotik melalui proses detoksifikasi, namun jika dosis xenobiotik tersebut melampaui ambang batas, maka

tubuh tidak dapat melakukan detoksifikasi, sehingga terjadi toksisitas dari xenobiotik tersebut (Schunack *et al.*, 1990; Murray dkk.,1999).

A. Kadar Metil Merkuri dalam Darah

Secara kuantitatif, kadar metil merkuri dapat ditentukan dengan menginterpolasi nilai absorbansi sampel ke dalam kurva larutan standar merkuri atau dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan garis regresi linier dari kurva larutan standar merkuri ($y = 0,0018x + 0,0897$). Kurva kalibrasi larutan standar merkuri dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 2. Rata-rata Kadar Metil Merkuri (ppm) dalam Darah Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) setelah Pemberian Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar Metil Merkuri Darah (ppm)
I	0 ^a
II	1,923 ^b
III	1,015 ^c
IV	1,301 ^c
V	1,136 ^c
VI	1,027 ^c

Ket: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata

I : pemberian aquades 2,5 ml

II : pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

III : pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

IV : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

V : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/ kg BB dalam 2,5 mL aquades

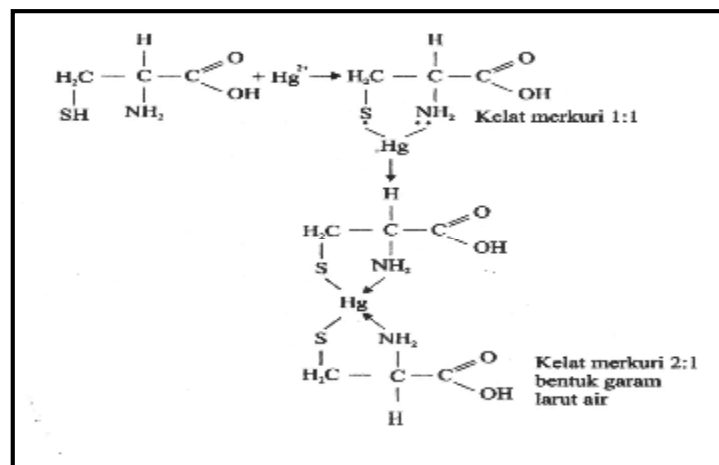
VI : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

Rata-rata kadar metil merkuri dalam darah tikus putih setelah 20 hari diberi perlakuan berkadar lebih tinggi dibandingkan tikus kontrol. Kelompok plasebo memiliki rata-rata kadar metil merkuri darah 0 ppm.

Kelompok perlakuan yang hanya diberi metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB menunjukkan kenaikan kadar metil merkuri yang berarti, sebesar 1,923 ppm (Tabel 2, Lampiran 6). Kenaikan kadar metil merkuri dalam darah disebabkan adanya absorpsi metil merkuri klorida di saluran pencernaan yang kemudian ditransportasikan ke eritrosit dan protein plasma. Metil merkuri klorida bersifat lipofil, dapat dengan mudah menembus membran sel tubuh dan terdistribusi di dalam tubuh dengan konsentrasi tertinggi di sistem saraf pusat (lebih dari 10 % dari total dosis), yaitu berada dalam bentuk organik, tetapi di jaringan tubuh yang lain metil merkuri akan diubah dan disimpan dalam bentuk merkuri anorganik dengan konsentrasi tertinggi di hati dan ginjal (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1997). Dengan reaksi oksidasi-reduksi, bentuk merkuri anorganik akan memasuki eritrosit, paru-paru, dan hati dalam bentuk kation divalent (Hg^{2+}). Pemberian metil merkuri klorida selama 10 hari menyebabkan akumulasi metil merkuri dalam tubuh karena adanya pengikatan metil merkuri klorida dengan protein, polisakarida, dan asam amino. Selain itu, metil merkuri klorida mempunyai waktu paruh yang lama sekitar 70 hari dan sangat sedikit diekskresikan. (Berlin, 1973; Fujiki, 1973).

Kelompok perlakuan yang dilanjutkan dengan pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB menunjukkan penurunan kadar metil merkuri yang berarti, sebesar 1,015 ppm. Dari uji DMRT 5 % diketahui bahwa kelompok perlakuan ini berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II (Tabel 2, Lampiran 6). L-sistein merupakan asam amino yang mempunyai gugus karboksil dan amino yang digunakan untuk mengatasi keracunan merkuri organik (Mutschler, 1991). Prinsip kerja L-sistein ini dengan cara berinteraksi langsung dengan ion logam Hg^{2+} dalam darah serta jaringan dan

mereaktivasi enzim selular yang mengandung gugus sulfidril (Katzung, 1997). Senyawa ini mengandung lebih dari 2 gugus elektronegatif yang dapat membentuk ikatan kovalen-koordinat stabil dengan atom logam kation. Kompleks yang terbentuk akan diekskresikan oleh tubuh (Ariens dkk.,1994; Katzung, 1997). Adapun kompleks yang terbentuk dari reaksi antara L-sistein dengan ion Hg^{2+} dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi L-sistein dengan Ion Hg^{2+}

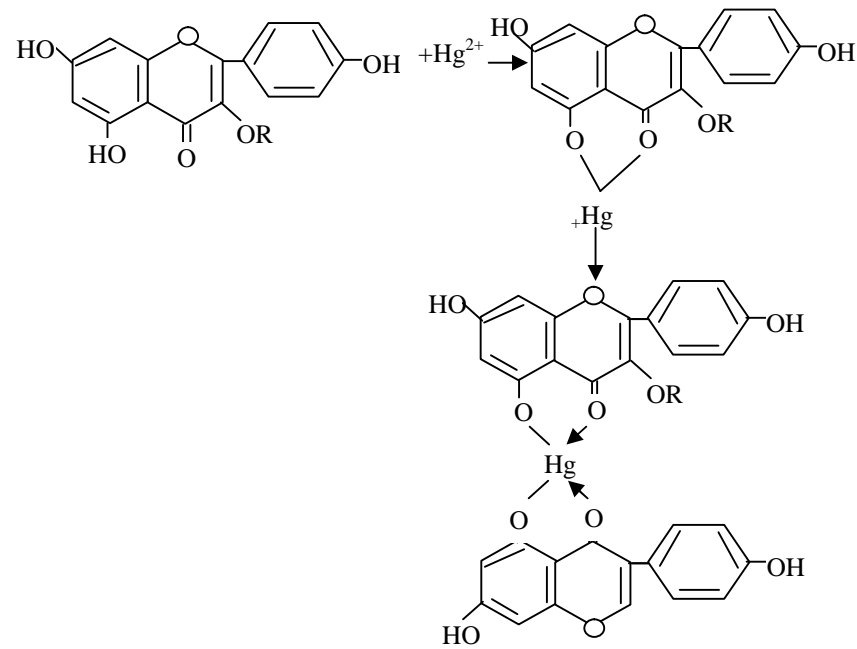
Kelompok perlakuan yang dilanjutkan pemberian ekstrak daun sambung nyawa dosis 1,945; 3,889; dan 5,834 mg/kg BB memiliki rata-rata kadar metil merkuri berturut-turut sebesar 1,301; 1,136; dan 1,027 ppm. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 10 hari menunjukkan penurunan kadar metil merkuri yang berarti (Tabel 2, Lampiran 6). Dari uji DMRT 5%, diketahui bahwa kelompok perlakuan ini berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II (kontrol negatif) yang hanya dipapari metil merkuri klorida tanpa dilanjutkan dengan pemberian suatu antidotum, sehingga kadar metil merkuri dalam darah jauh lebih besar karena tidak ada senyawa aktif penurun kadar metil merkuri dalam darah, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan III (kontrol positif) yang dilanjutkan dengan

pemberian L-sistein yang merupakan senyawa aktif penurun kadar metil merkuri, sehingga terjadi penurunan kadar metil merkuri yang hampir sama dengan kelompok perlakuan yang dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun sambung nyawa mempunyai kemampuan hampir sama dengan L-sistein. Dosis paling efektif menurunkan kadar metil merkuri dalam darah adalah dosis 5,834 g/kg BB. Dosis ekstrak daun sambung nyawa yang semakin besar mengandung senyawa aktif penurun kadar metil merkuri yang semakin besar juga.

Dari hasil isolasi flavonoid ekstrak daun sambung nyawa, Sudarto (1990) melaporkan keberadaan 2 macam senyawa flavonoid, yaitu kaemferol (suatu flavonol), flavonol, dan auron. Kemampuan ekstrak daun sambung nyawa dalam menurunkan kadar metil merkuri darah karena keberadaan flavonoid-flavonoid di dalamnya. Flavonoid-flavonoid tersebut mengandung gugus fungsi hidroksil sebagai donor elektron, sedangkan ion Hg^{2+} merupakan penerima elektron yang kuat. Adanya cincin aromatik yang sangat elektronegatif pada flavonoid akan menarik ion logam Hg^{2+} yang sangat elektropositif, sehingga ikatan antara ion logam Hg^{2+} dengan flavonoid dapat berupa ikatan kovalen yang disebut dengan kelat. Terbentuknya kelat stabil menyebabkan reaksi kimia biasa sebagai ion logam akan hilang dan dapat menurunkan kadar ion logam toksik dalam jaringan dengan mengikatnya sebagai kelat yang larut dan mudah diekskresikan oleh ginjal. Gugus $-\text{OH}$ flavonoid bertindak sebagai ligan yang cenderung akan berikatan koordinasi dengan ion logam membentuk senyawa kompleks kelat, dalam hal ini ligan mempunyai pasangan elektron bebas. Menurut Pauling, atom O mempunyai tingkat keelektronegatifan yang

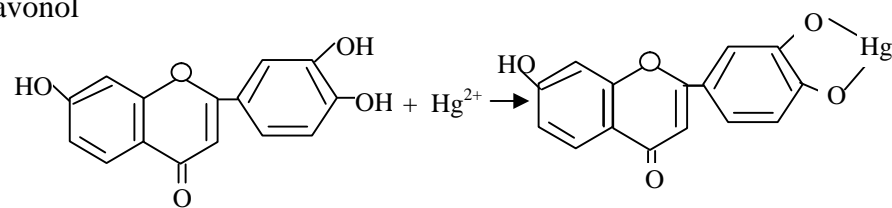
tinggi, yaitu 3,5. Sebaliknya, ion logam Hg^{2+} merupakan penerima elektron yang sangat kuat, karena termasuk dalam kelompok ion logam yang mempunyai subkulit d yang terus penuh dan untuk mencapai susunan elektron gas mulia berikutnya ia harus menerima 4 pasang elektron (s^2p^2) (Rivai, 1995). Akibatnya, ikatan antara ion logam Hg^{2+} dengan ligan dalam flavonoid dapat berupa ikatan kovalen seperti pada Gambar 6, 7, dan 8.

a. Kaemferol



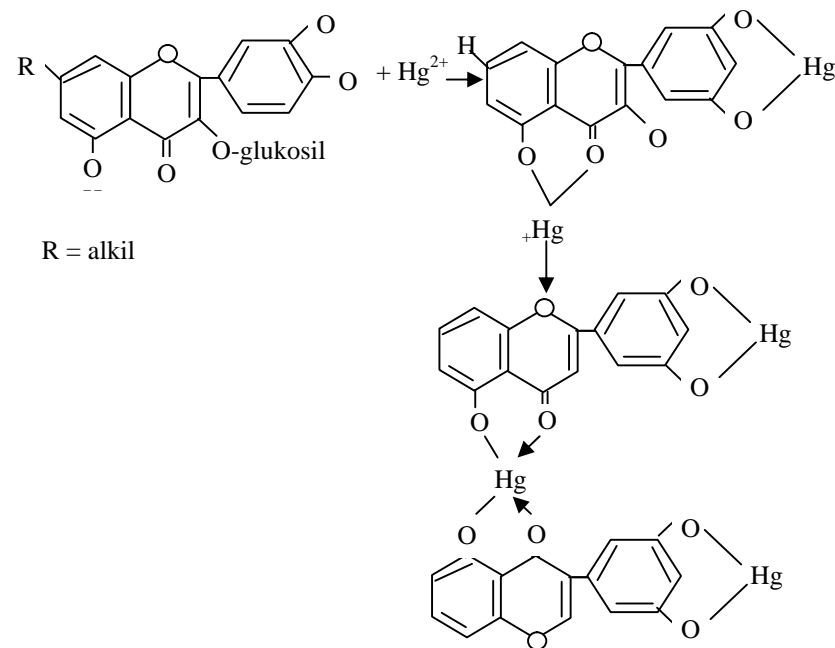
Gambar 6. Reaksi Kaemferol dengan Ion Hg^{2+}

b. Flavonol



Gambar 7. Reaksi Flavonol dengan Ion Hg^{2+}

c. Auron

Gambar 8. Reaksi Auron dengan Ion Hg^{2+}

Penelitian Szymusiak dan Zielinski (2000) yang didukung oleh Afanas *et al.* (1989) dan Bors *et al.* (2000), melaporkan bahwa flavonoid jenis quercetin mempunyai kemampuan mengkelat ion logam berkatation divalent, antara lain Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , dan Cu^{2+} .

Middleton *et al.* (2000) menyatakan bahwa flavonoid juga mempunyai kemampuan mengaktifkan dan menginduksi sintesis enzim mula-mula yang terlibat dalam metabolisme bermacam-macam xenobiotik yang lipofil. Lu (1995) mengatakan bahwa metil merkuri bersifat lipofilik, sehingga mudah melintasi membran sel yang terdiri atas lapisan biomolekuler yang dibentuk oleh molekul lipid dengan molekul protein. Jika logam telah terikat pada suatu protein, maka senyawa ini akan diserap secara endositosis dan mendenaturasi protein. Chadq (1995) menambahkan bahwa

metil merkuri akan mengganggu secara seluler dengan cara membuat gugus -SH dalam tubuh menjadi inaktif.

Cook *and* Saaman (1996) menyatakan bahwa flavonoid merupakan antioksidan yang potensial mengikat radikal bebas. Cadenas dan Lester dalam Harun dan Syahri (2002) menambahkan bahwa aktivitas antioksidan flavonoid dilakukan dengan mereduksi radikal hidroksil, superoksida, dan radikal peroksil. Yang *et al.* (2001) telah melakukan penelitian dan menyimpulkan bahwa aktivitas antioksidan flavonoid tergantung pada potensial oksidasi senyawa tersebut dan struktur kimia flavonoid yang berperan dalam aktivitas antioksidan, yaitu struktur O- dihidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada C₂ dan C₃ yang terkonjugasi dengan gugus okso dan adanya gugus hidroksil.

Berdasarkan hasil penelitian ini, kadar metil merkuri dalam darah menurun setelah pemberian ekstrak daun sambung nyawa dalam berbagai variasi dosis. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa mempunyai kemampuan mengkelat ion logam Hg²⁺ dan menangkap radikal bebas yang dipicu oleh pemberian metil merkuri klorida. Seperti telah diketahui bahwa radikal bebas dalam tubuh mampu berikatan dengan komponen seluler tubuh, sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada sel darah merah.

Metil merkuri menghambat kerja enzim mikrosom dalam retikulum endoplasma (RE) dan mengacaukan struktur RE tersebut (Goering *et al.*, 1987; Lu, 1995). Membran RE agranuler (REA) merupakan tempat enzim-enzim yang berperan dalam sintesis lipoprotein dan juga enzim-enzim yang berperan dalam proses detoksifikasi yang sebagian besar adalah sitokrom P-450. Senyawa yang bersifat

racun dan berbahaya akan diubah menjadi tidak berbahaya. Di dalam membran REA, toksikan yang bersifat lipofilik akan dibuat inaktif oleh serangkaian reaksi yang umumnya oksidasi menggunakan O_2 dan NADPH dengan bantuan katalisator NADPH-sitokrom P-450 reduktase dan sitokrom P-450. Hasil reaksi ini merupakan senyawa yang mudah larut dalam air. Flavonoid mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan dan menginduksi sintesis enzim mula-mula yang terlibat dalam metabolisme bermacam-macam xenobiotik yang lipofil (Middleton *et al.*, 2000). Flavonoid alami maupun flavonoid sintetik telah dilaporkan mempunyai efek pada sistem P-450-monooxygenase (Sato dan Omura, 1978), meliputi induksi sintesis dan aktivasi P-450 spesifik (Wood *et al.*, 1982).

B. Nilai Hematokrit atau *Packed Cell Volume*

Hematokrit adalah perbandingan sel-sel darah merah dalam suatu volume darah tertentu, dengan kata lain hematokrit menunjukkan persentase eritrosit dari sejumlah darah. Nilai hematokrit diperoleh dengan prinsip bahwa setelah dilakukan sentrifugasi akan terjadi pengendapan eritrosit yang memisahkannya dari cairan plasma di bagian atas, dengan skala khusus hematokrit dapat diketahui persentase yang ditempati eritrosit (Wulangi, 1993). Menurut Benjamin (1961), nilai hematokrit dapat digunakan untuk mengetahui abnormalitas darah dan merupakan cara yang sangat sederhana untuk dilakukan. Nilai ini umumnya sama manfaatnya dengan jumlah eritrosit total.

Tabel 3. Rata-rata Nilai Hematokrit (%) Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) setelah Pemberian Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Nilai Hematokrit (%)
I	45,50 ^a
II	41,67 ^a
III	44,50 ^a
IV	43,00 ^a
V	43,00 ^a
VI	43,50 ^a

Ket: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata

I : pemberian aquades 2,5 ml

II : pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

III : pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

IV : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

V : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/ kg BB dalam 2,5 mL aquades

VI : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

Nilai hematokrit tikus uji setelah 20 hari diberi perlakuan percobaan bernilai lebih rendah dibandingkan tikus kontrol. Nilai hematokrit tikus putih normal adalah 45-47 % (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Dari uji Anava dan DMRT pada taraf signifikansi 5%, diketahui bahwa masing-masing kelompok perlakuan tidak berbeda nyata (Lampiran 7).

Pada pemberian metil merkuri klorida dosis 2,99 mg/kg BB terjadi penurunan nilai hematokrit dibandingkan tikus kontrol (Tabel 3, Lampiran 7), hal ini menunjukkan terjadinya kecenderungan tikus untuk mengalami anemia yang ditandai dengan menurunnya konsentrasi eritrosit, anemia yang terjadi masih bersifat regeneratif. Penurunan nilai hematokrit ini terjadi karena pemberian metil merkuri klorida dosis tinggi mempengaruhi kestabilan membran eritrosit. Kerusakan membran sel dapat terjadi setelah pemaparan suatu toksikan. Metil merkuri klorida yang bersifat lipofilik mudah terabsorpsi ke dalam eritrosit melalui membran eritrosit.

Membran eritrosit yang selalu berhubungan dengan metil merkuri klorida akan terganggu kestabilannya karena perubahan tekanan osmolaritas antara cairan sel dengan plasma, sehingga jumlah eritrosit yang stabil dalam darah hanya sebagian kecil saja, diketahui dari menurunnya jumlah eritrosit. Pemberian metil merkuri klorida selama 10 hari mampu merapuhkan membran eritrosit dan menyebabkan terjadinya hemolisis pada eritrosit. Membran eritrosit merupakan membran yang berhubungan dengan O_2 . Membran yang berhubungan dengan O_2 sering mengalami proses oksidasi. Radikal bebas yang terbentuk dari metil merkuri klorida yang menyerang membran akan berinteraksi dengan O_2 membentuk radikal peroksid, sehingga membran menjadi lemah dan akibatnya eritrosit yang bertahan dalam darah akan menurun persentasenya. Hal ini didukung oleh penelitian Hariono dkk. (1994), bahwa pemberian metil merkuri pada mencit bunting dan keturunannya menyebabkan penurunan nilai hematokrit pada minggu ke-9.

Pemberian L-sistein selama 10 hari (kelompok III) mampu memperbaiki nilai hematokrit pada tikus uji setelah dipapari metil merkuri klorida selama 10 hari (Tabel 3, Lampiran 7). Hal ini berarti L-sistein mampu memperbaiki kestabilan membran eritrosit yang semula terganggu karena pemberian metil merkuri klorida. L-sistein bekerja pada tingkat seluler dan memisahkan unsur ion Hg^{2+} dari radikal -SH dalam enzim jaringan tubuh lalu membawa unsur tersebut ke cairan jaringan, masuk ke plasma, dan akhirnya diekskresikan menuju urine dalam bentuk kompleks yang larut dalam air dan bersifat non toksik. Katzung (1997) menambahkan bahwa zat ini berinteraksi langsung dengan ion logam Hg^{2+} dalam darah dan cairan jaringan serta mereaktivasi enzim selular yang mengandung gugus -SH.

Pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 10 hari (kelompok IV, V, dan VI) juga mampu memperbaiki nilai hematokrit pada tikus uji setelah dipapari metil merkuri klorida selama 10 hari (Tabel 3, Lampiran 7). Hal ini berarti ekstrak daun sambung nyawa juga mampu memperbaiki kestabilan membran eritrosit yang semula terganggu karena pemberian metil merkuri klorida, dengan nilai hematokrit tertinggi terdapat pada pemberian ekstrak daun sambung nyawa dosis tertinggi yaitu 5,834 g/kg BB. Hal ini karena kerja flavonoid dalam ekstrak daun sambung nyawa yang mampu mengikat ion logam Hg^{2+} dalam darah menjadi senyawa kompleks non toksik dan dapat dengan mudah diekskresikan dari tubuh melalui urine. Akumulasi metil merkuri yang semula ada dalam tubuh dapat dengan cepat diekskresikan, sehingga tubuh dapat melakukan proses fisiologi yang normal kembali. Hal ini didukung oleh penelitian Gultom (2003) yang mengatakan bahwa flavonoid mampu meningkatkan jumlah hematokrit, hemoglobin, dan eritrosit pada tikus yang diinduksi CCl_4 .

C. Kadar Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin adalah komponen eritrosit yang terdiri dari protein globin yang berkombinasi dengan heme, berfungsi sebagai alat transportasi O_2 dan CO_2 . Penetapan kadar tersebut sering dilakukan sebagai pemeriksaan terhadap adanya anemia (Tahono dkk., 2000).

Anemia dapat terjadi karena adanya gangguan pada sintesis Hb. Sintesis Hb dimulai dalam eritoblast dan terus berlangsung sampai tingkat retikulosit, dimulai dengan pembentukan senyawa pirol, lalu 4 senyawa pirol bersatu membentuk senyawa protoporfirin yang kemudian berikatan dengan besi membentuk molekul

heme. Akhirnya, 4 molekul heme berikatan dengan 1 molekul globin yang merupakan suatu globulin yang disintesis dalam ribosom RE, membentuk Hb (Guyton, 1987).

Tabel 4. Rata-rata Kadar Hemoglobin (g/dL) Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) setelah Pemberian Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar Hg (g/dL)
I	13,128 ^a
II	8,123 ^b
III	10,763 ^c
IV	8,770 ^d
V	9,320 ^e
VI	10,195 ^f

Ket: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata

I : pemberian aquades 2,5 ml

II : pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

III : pemberian L-Sistein 5,4 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

IV : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

V : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/ kg BB dalam 2,5 mL aquades

VI : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

Berdasarkan data yang diperoleh, terlihat bahwa rata-rata kadar Hb darah tikus uji setelah 20 hari diberi masing-masing perlakuan berkadar lebih rendah dibandingkan tikus kontrol. Dari uji Anava dan DMRT pada taraf signifikansi 5 %, diketahui bahwa masing-masing kelompok perlakuan terdapat beda yang signifikan (Tabel 4, Lampiran 8). Kelompok kontrol memiliki rata-rata kadar Hb darah paling tinggi sebesar 13,128 g/dL. Kadar Hb pada tikus putih normal adalah 13 g/dL (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Kelompok perlakuan yang diberi metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB memiliki rata-rata kadar Hb darah paling rendah sebesar 8,123 g/dl. Penurunan kadar Hb darah ini karena keluarnya Hb dari eritrosit menuju cairan di sekelilingnya karena dirusak oleh xenobiotik metil merkuri klorida. Selain itu juga karena inaktivasi enzim

δ-Amino Levulinic Acid Dehydratase (δ -ALAD). Inaktivasi enzim δ -ALAD ini berhubungan dengan peran Fe dalam sintesis Hb, yaitu terletak pada heme. Heme merupakan komponen Hb yang berikatan dengan globin dan merupakan porfirin tipe III (protoporfirin) yang mengandung Fe (Guthrie, 1980; Lehninger, 1997). Inaktivasi enzim δ -ALAD oleh metil merkuri klorida menyebabkan pembentukan porfobilinogen, uroporfirinogen, dan protoporfirin akan terhambat, sehingga heme tidak dapat dihasilkan karena tidak adanya protoporfirin yang mengikat Fe. Metil merkuri klorida merupakan zat lipofilik yang dapat menumpuk di membran sel dan mengganggu transpor O_2 dan glukosa ke dalam sel (Darmono, 1995). Pengikatan, pengangkutan, dan pelepasan O_2 oleh Hb tidak tergantung pada eritrosit, tetapi eritrosit memerlukan energi yang diperoleh dari metabolisme anaerobik glukosa. Terganggunya transpor O_2 dan glukosa menyebabkan eritrosit tidak dapat mempertahankan gradien elektrolit normal pada membran plasma, mempertahankan atom Fe dari Hb dalam bentuk divalen, dan mempertahankan gugus -SH dari enzim sel merah dan Hb dalam bentuk aktif. Hal ini didukung oleh penelitian Hariono dkk. (1994) yang menyatakan bahwa terjadi penurunan kadar Hb pada mencit yang dipapari metil merkuri karena terjadi inaktivasi enzim δ -ALAD darah dengan cara ikatan kation metil merkuri terhadap gugus -SH.

Kelompok perlakuan yang diberi L-sistein 5,4 mg/kg BB selama 10 hari mampu memperbaiki kadar Hb dalam darah tikus putih setelah dipapari metil merkuri klorida selama 10 hari. (Tabel 4, Lampiran 8). L-sistein mempunyai 2 gugus reaktif terhadap ion logam Hg^{2+} , yaitu gugus sulfhidril (-SH) dan gugus amina (-NH₂) yang dapat membentuk molekul kelat yang mudah diekskresikan.

Pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 10 hari mampu memperbaiki kadar Hb darah tikus putih yang terpapar metil merkuri klorida selama 10 hari (Tabel 4, Lampiran 8). Perlakuan ekstrak daun sambung nyawa pada berbagai dosis menunjukkan peningkatan kadar Hb darah yang sebanding dengan kenaikan dosis ekstrak daun sambung nyawa. Semakin besar dosis ekstrak daun sambung nyawa yang diberikan, maka kadar Hb darah semakin meningkat. (Tabel 4, Lampiran 8). Dosis yang paling efektif meningkatkan kadar Hb darah adalah dosis 5,834 g/kg BB. Perlakuan ini memiliki rata-rata kadar Hb darah yang berbeda nyata satu sama lain (Tabel 4, Lampiran 8). Dosis ekstrak daun sambung nyawa yang semakin besar karena mengandung senyawa aktif yang semakin besar juga. Perbaikan kadar Hb belum sampai mendekati kadar Hb pada tikus putih normal, karena eritrosit yang ada baru terbentuk, sehingga Hb yang ada pada eritrosit belum mencapai kadar yang optimal. Jumlah Hb yang belum stabil menyebabkan kemampuan Hb untuk mengikat O₂ juga belum optimal.

D. Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit merupakan salah satu parameter penting untuk menilai kesehatan, mengingat perannya yang sangat besar dalam mengangkut O₂ ke seluruh tubuh (Loomis, 1978).

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Eritrosit Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) setelah Pemberian Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$ darah)
I	8,480 ^a
II	4,230 ^b
III	6,067 ^c
IV	5,720 ^c
V	6,080 ^c
VI	6,697 ^c

Ket: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata

I : pemberian aquades 2,5 ml

II : pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

III : pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB dalam 2,5 mL aquades

IV : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

V : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/ kg BB dalam 2,5 mL aquades

VI : pemberian ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg BB dalam 2,5 mL aquades

Berdasarkan data yang diperoleh, terlihat bahwa rata-rata jumlah eritrosit pada tikus putih setelah 20 hari diberi perlakuan percobaan berkadar lebih rendah dibandingkan tikus kontrol. Jumlah eritrosit pada tikus putih normal adalah $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ darah (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Kelompok perlakuan yang diberi metil merkuri klorida 2,99 mg/kg BB menunjukkan penurunan jumlah eritrosit yang berarti. Dari uji DMRT 5%, diketahui bahwa kelompok perlakuan ini berbeda nyata dengan kelompok I. Keadaan ini menyebabkan kecenderungan tikus mengalami anemia, karena jumlah eritrosit berada di bawah kisaran normal. Penurunan jumlah eritrosit ini terjadi karena adanya kematian sel induk dan terjadinya perpanjangan interfase antara mitosis yang satu dengan mitosis berikutnya, terutama pada sumsum tulang. Eritrosit mengandung bermacam-macam enzim, di antaranya adalah glutathion tripeptid yang merupakan γ -glutamyl-sisteinilglisin. Konsentrasi glutathion dalam darah sekitar 1 mmol/L, kebanyakan ada dalam eritrosit. Glutathion dapat disintesis

dari komponen asam aminonya dalam eritrosit. Glutation merupakan pereduksi alami karena mengandung gugus -SH. Eritrosit mengandung reduktase glutation yang mengkatalisis reduksi glutation teroksidasi. Substrat kedua untuk enzim ini adalah NADPH. Dalam eritrosit juga terdapat reduktase dehidroaskorbat yang memberi hubungan langsung antara glutation dan hemoglobin. Metil merkuri klorida akan mengikat secara bolak-balik gugus -SH dalam eritrosit tersebut. Reaksi pengikatan ini akan mempengaruhi pembentukan sel-sel darah dalam sumsum tulang dan menghambat pembentukan hemoglobin.

Kelompok perlakuan yang dilanjutkan dengan pemberian L-sistein 5,4 mg/kg BB selama 10 hari menunjukkan kenaikan jumlah eritrosit yang berarti. Dari uji DMRT 5%, diketahui bahwa kelompok perlakuan ini berbeda nyata dengan dengan kelompok II, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok IV, V, dan VI (Tabel 5, Lampiran 9). Peningkatan jumlah eritrosit ini karena L-sistein mampu mengekskresikan metil merkuri klorida yang terakumulasi dalam tubuh, khususnya dalam eritrosit, sehingga fungsi-fungsi fisiologis dalam tubuh dapat berjalan normal kembali. Penurunan jumlah eritrosit karena toksisitas ini mempengaruhi terbentuknya eritropoietin dan merangsang terjadinya eritropoesis dalam sumsum tulang belakang.

Kelompok perlakuan yang dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 10 hari menunjukkan kenaikan jumlah eritrosit yang berarti. Dari uji DMRT 5%, diketahui bahwa kelompok perlakuan ini berbeda nyata dengan kelompok II (kontrol negatif) yang hanya dipapari metil merkuri klorida tanpa dilanjutkan dengan pemberian suatu antidotum, sehingga jumlah eritrosit jauh lebih rendah karena tidak ada senyawa aktif yang mampu memperbaiki jumlah eritrosit,

namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan III (kontrol positif) yang dilanjutkan dengan pemberian L-sistein yang merupakan senyawa aktif penurun kadar metil merkuri darah, sehingga terjadi perbaikan jumlah eritrosit yang hampir sama dengan kelompok perlakuan yang dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun sambung nyawa mempunyai kemampuan hampir sama dengan L-sistein (Tabel 5, Lampiran 9). Perlakuan ekstrak daun sambung nyawa dalam berbagai dosis menunjukkan peningkatan jumlah eritrosit sebanding dengan peningkatan dosis ekstrak daun sambung nyawa yang diberikan, sehingga jumlah eritrosit semakin meningkat. Dosis yang paling efektif meningkatkan jumlah eritrosit tikus putih yang terpapar metil merkuri klorida adalah dosis 5,834 g/kg BB. Dosis ekstrak daun sambung nyawa yang semakin besar karena mengandung senyawa aktif yang semakin besar juga untuk memperbaiki jumlah eritrosit. Telah diketahui sebelumnya bahwa tikus yang terpapar metil merkuri klorida selama 10 hari mempunyai kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit yang sangat rendah jauh dari normal. Penurunan jumlah eritrosit akan mempengaruhi terbentuknya eritropoietin dan merangsang terjadinya eritropoiesis. Penurunan kadar hemoglobin darah menyebabkan jumlah O_2 yang ditransport ke jaringan akan berkurang, dan biasanya akan meningkatkan kecepatan pembentukan eritrosit. Hal ini disebabkan jumlah O_2 yang menurun akan mengakibatkan hati melepaskan lebih banyak globulin dan ginjal memproduksi lebih banyak faktor eritropoietik ginjal. Di dalam darah, globulin dan faktor eritropoietik ginjal akan saling mengadakan interaksi membentuk eritropoietin yang kemudian merangsang terjadinya eritropoiesis.

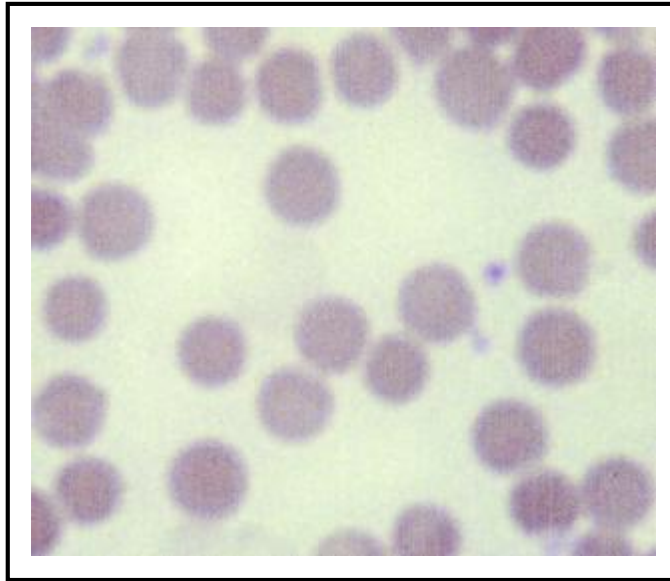
Kemampuan flavonoid pada ekstrak daun sambung nyawa dalam memperbaiki jumlah eritrosit pada tikus putih yang terpapar metil merkuri klorida karena kemampuannya mengaktifkan dan menginduksi sintesis enzim mula-mula yang terlibat dalam metabolisme metil merkuri klorida yang merupakan xenobiotik lipofil, seperti yang telah dikemukakan oleh Middleton *et al.* (2000).

E. Perubahan Morfologi Eritrosit

Gambaran morfologi eritrosit merupakan salah satu indikator dari berbagai perubahan patologis dalam tubuh (Leeson dkk., 1996). Secara morfologi, eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, jika dilihat pada bidang datar berbentuk bulat. Pada penyakit-penyakit tertentu ditemukan eritrosit-eritrosit yang telah berubah bentuk di dalam peredaran darah. Eritrosit bersifat elastis dan mampu berubah bentuk (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Secara morfologi, setelah 20 hari diberi perlakuan percobaan, semua kelompok mengalami perubahan morfologi eritrosit, antara lain terdapat eritrosit bentuk topi, paku payung, poikilositosis (bentuk bervariasi), dan anulositosis (eritrosit tanpa inti) seperti terlihat pada gambar 9, 10, 11, 12, 13, dan 14, kecuali pada kelompok I (plasebo).

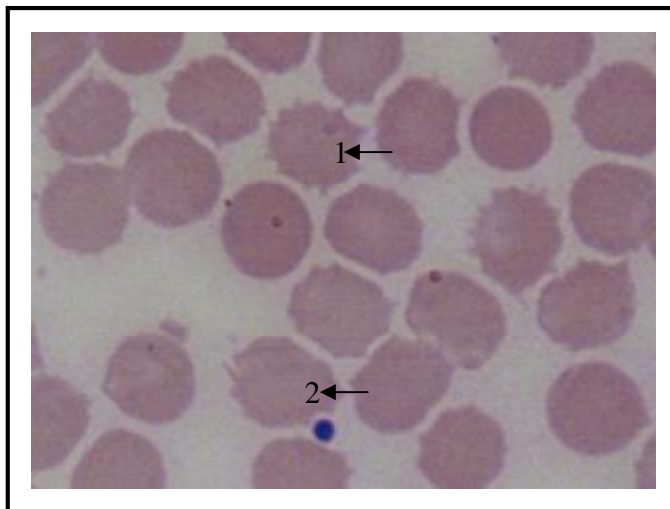
1. Kelompok perlakuan I / plasebo



Gambar 9. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) kontrol
Perbesaran : 1000 x
Pewarnaan : Giemsa

Sel-sel eritrosit terpusat merah muda karena banyak mengandung Hb.

2. Kelompok perlakuan II

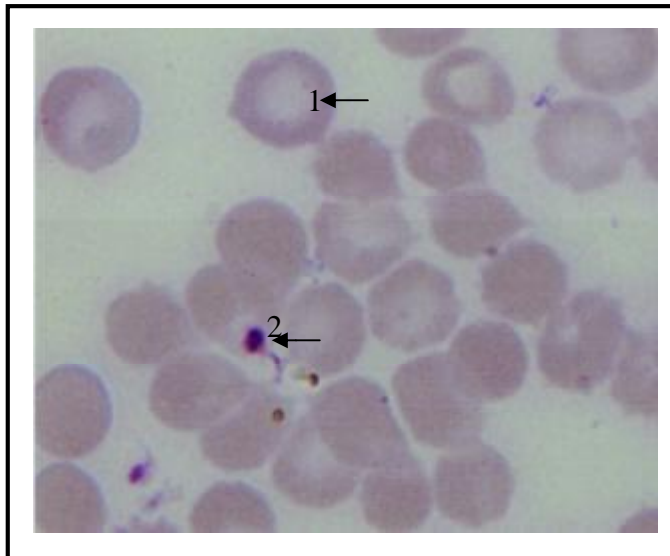


Gambar 10. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) setelah pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg.
Perbesaran : 1000 x
Pewarnaan : Giemsa
Ket : 1. Eritrosit bentuk paku payung 2. Poikilositosis

Pada kelompok perlakuan II terdapat perubahan morfologi eritrosit, antara lain terdapat eritrosit bentuk topi, poikilositosis, dan anulositosis (Gambar 10).

Perubahan morfologi eritrosit terjadi karena hemolisis membran eritrosit yang merupakan salah satu membran yang berhubungan dengan O_2 dan sering mengalami oksidasi. Radikal bebas dari metil merkuri klorida bergabung dengan O_2 yang diikat Hb membentuk ikatan radikal peroksid yang kemudian menyerang membran eritrosit, sehingga menyebabkan tidak stabilnya struktur membran tersebut. Metil merkuri klorida yang bersifat lipofilik dapat menumpuk di membran sel dan mengganggu transport O_2 dan glukosa ke dalam sel. Ion Hg^{2+} akan membentuk kompleks dengan basa-basa fosfolipid dan memperluas permukaan membran, sehingga fungsi membran berubah. Hal ini menyebabkan hilangnya fungsi Hb sebagai pembawa O_2 . Selain itu, tanpa adanya glukosa, eritrosit tidak dapat mengganti enzim dan protein membran yang telah usang, sehingga kemampuan memompa ion Na^+ keluar sel dan menarik air akan menurun, sehingga sel tidak lagi menjadi bulat.

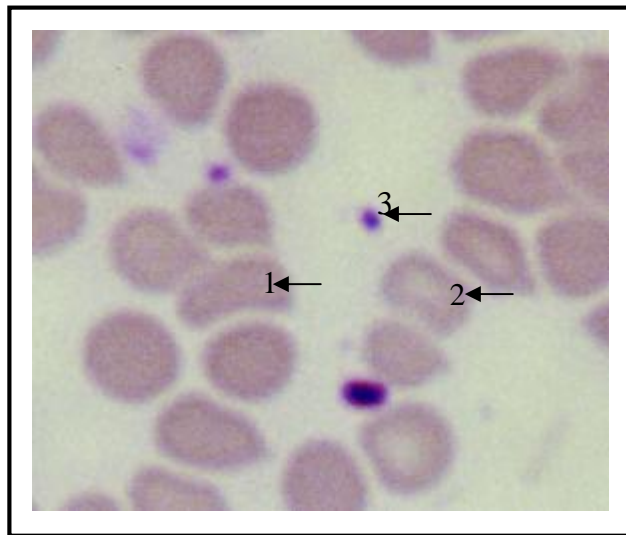
3. Kelompok perlakuan III



Gambar 11. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) setelah pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg dilanjutkan L-sistein 5,4 mg/kg.
 Perbesaran : 100 x
 Pewarnaan : Giemsa
 Ket : 1. Anulositosis 2. Trombosit

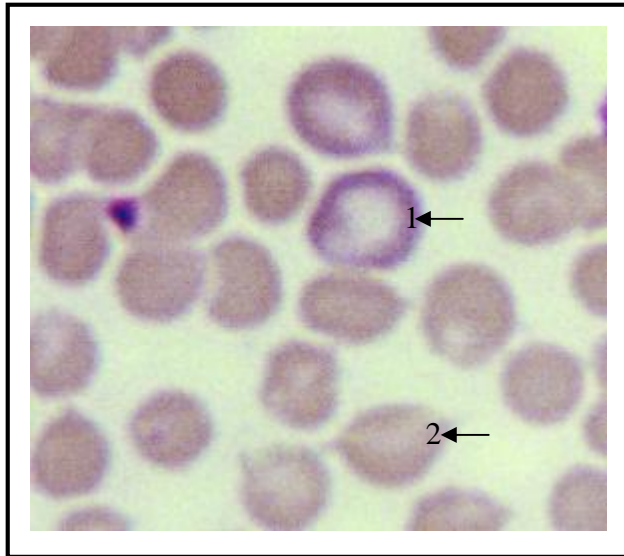
Pada kelompok perlakuan ini masih terdapat kelainan morfologi pada eritrosit, tapi lebih sedikit bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan II, ditunjukkan pada Gambar 11 dengan adanya eritrosit yang cenderung berbentuk elips (tidak bulat). Hal ini menunjukkan bahwa L-sistein belum efektif menstabilkan morfologi eritrosit. Ketidakstabilan morfologi eritrosit ini disebabkan penyerangan radikal bebas pada membran eritrosit oleh akumulasi metil merkuri klorida. Ikatan radikal bebas-oksigen yang terbentuk dapat menimbulkan stress oksidatif dalam membran sel yang ditunjukkan dengan terbentuknya sel-sel yang tidak normal.

4. Kelompok perlakuan IV



Gambar 12. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. Norvegicus* L.) setelah pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 1,945 g/kg.
 Perbesaran : 100x
 Pewarnaan : Giemsa
 Ket : 1. Eritrosit bentuk topi 2. Poikilositosis 3. Trombosit

5. Kelompok perlakuan V



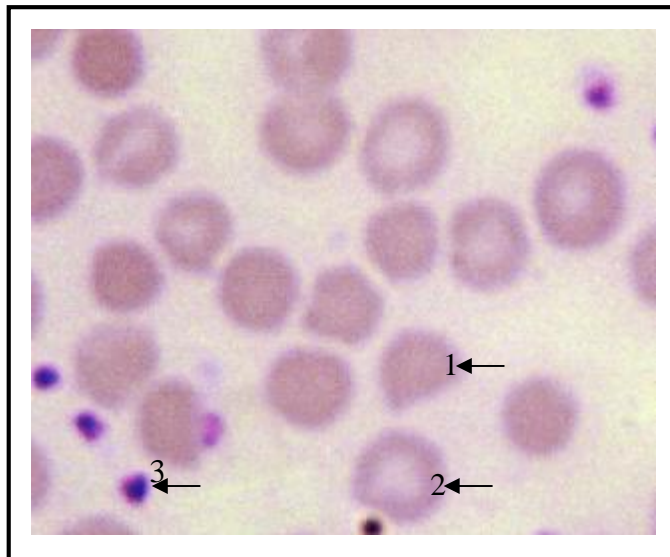
Gambar 13. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) setelah pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 3,889 g/kg.

Perbesaran : 100 x

Pewarnaan : Giemsa

Ket : 1. Anulosis 2. Eritrosit bentuk topi

6. Kelompok perlakuan VI



Gambar 14. Morfologi eritrosit tikus putih (*R. norvegicus* L.) setelah pemberian metil merkuri klorida 2,99 mg/kg dilanjutkan ekstrak daun sambung nyawa 5,834 g/kg.

Perbesaran : 100 x

Pewarnaan : Giemsa

Ket : 1. Eritrosit bentuk topi 2. Anulosis 2. Trombosit

Berdasarkan hasil pengamatan dari Gambar 12, 13, dan 14 terlihat bahwa dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa pada tikus uji paska pemaparan metil merkuri klorida mengalami sedikit perbaikan pada morfologi eritrositnya, kelompok perlakuan VI mempunyai kelainan morfologi eritrosit paling sedikit. Hal ini berarti bahwa perbaikan morfologi eritrosit oleh pemberian ekstrak daun sambung nyawa meningkat seiring dengan meningkatnya variasi dosis. Namun, perbaikan yang dihasilkan belum mendekati normal. Hal ini mungkin disebabkan dosis ekstrak daun sambung nyawa yang diberikan belum mampu mengembalikan fungsi normal sel, sehingga struktur sel belum kembali pada keadaan normal.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa dosis 1,945; 3,889; dan 5,834 g/kg BB dapat menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih yang meliputi kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan morfologi eritrosit.
2. Dosis ekstrak daun sambung nyawa dalam penelitian ini yang paling efektif menurunkan kadar metil merkuri dalam darah dan memperbaiki karakteristik eritrosit tikus putih yang terpapar metil merkuri klorida adalah dosis 5,834 g/kg BB.
3. Ekstrak daun sambung nyawa dapat digunakan sebagai alternatif antidotum alami untuk memperbaiki efek negatif yang ditimbulkan metil merkuri klorida.

B. Saran

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, dapat dilanjutkan berbagai penelitian yang mendukung, antara lain :

1. Penggunaan dosis ekstrak daun sambung nyawa yang lebih tinggi dengan berbagai variasi dosis untuk rentang waktu yang relatif lama.
2. Penelitian efek samping/toksisitas daun sambung nyawa untuk menjaga keamanan penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberg, B., Ekman, L., Falk, R., Greitz, U., Persson, G., and Snihs, J. O. 1969. "Metabolism of Methyl Mercury (^{203}Hg) Compound in Man". *Arch. Environ. Health*. 19: 478-484.
- Afana's ev, I. B., Dorozkho, A. I., Brodski, A. V., Kotsyuk, V. A., and Potapovitch, A. 1989. "Chelating and Free Radical Scavenging Mechanism of Inhibitory Action of Rutin and Quercetin in Lipid Peroxidation". *Biochem. Pharmacol.* 38: 1763-1769.
- Ariens, E. J., Mutschler, E., dan Simonis, A. M. 1994. *Toksikologi Umum*. Alih bahasa: Y. R. Wattimena, Mathilda B., Widiyanto, dan E. Y. Sukandar. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1997. "Toxicological Profile for Mercury". *Draft For Public Comment (UPDATE)*. Prepared by Research Triangle Institute Under Contract No. 205-93-0606. Prepared for: U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Athena, Tugawati, A. T., dan Sukar. 1992. "Kandungan Logam Berat (Hg, Cl dan Pb) dalam Air Tanah pada Perumahan Tipe Kecil di Jabotabek". *Buletin Penelitian Kesehatan*. 24 (4):18-27.
- Backer, C. A. and van Den Brink, R. C. B. 1965. *Flora of Java*. Jilid Iib. Neatherlands: N. V. P. Noordhoff.
- Baron, D. N. 1995. *Patologi Klinik*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Beayens, W. 1992. "Speciation of Mercury in Different Compartment of The Environment". *Trend in Analytical Chemistry*. 11: 245-254.
- Beim, A. M. and Groshva, E. I. 1991. *Ecological Chemistry of Mercury Contained in Bleached Jraft Pulp Mill Effluents*. Baikkalsk: Institute of Ecotoxycology, USSR.
- Benjamin, S. S. 1987. *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. 3th ed. Iowa: The Iowa State University Press.
- Berlin, M., Nordberg, G., and Hellberg, J. 1973. "The Uptake and Distribution of Methyl Mercury in The Brain of Samiri Sciureus in Relation Behavioral and Morphological Changes". In: *Mercury, Mercurials, and Mercaptan*. (M. Miller and T. Clarkson, eds.). Springfield. p. 187-207.

- Bors, W., Michel, C., and Stettmaier, K. 2000. "Flavonoids and Their Free Radical Reaction". *Oxygen. Society Education Program*. Germany: The Virtual Free Radical School.
- Buck, W. B. and Osweiler, G. D. 1976. *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology* (Ed. Van. Gelder, G. A), 2nd ed., Kendal/Hunt Publishing Company. p. 333-343.
- Burkitt, H. G., Young, B., Heath, J. W. 1995. *Histologi Fungsional*. Edisi III. Alih bahasa: J. Tambajong. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Chadhq, P. V. 1995. "Catatan Kuliah Ilmu Forensik dan Toksikologi" (*Handbook of Forensic Medicine and Toxicology Medical Jurisprudence*). Alih Bahasa: J. Hutauruk; Editor: A. Kartini. Jakarta: Widya Medica. p. 234-264.
- Clarke, M. L., Harvey, D. G., and Humphreys, D. J. 1981. *Veterinary Toxicology*. 2nd ed. Tindall: The English Language Book Society and Baillieve. p. 61-63.
- Clarkson, T. W. 1972. "Recent Advances in The Toxicology of Mercury with Emphasis on the Alkyl Mercurials". *CRC Review in Toxicology*. Cleveland: Chem. Rubber Co. p. 203-234.
- Clayton, G. D. 1978. "Patty's". *Industrial Hygiene and Toxicology*. New York: John Willey and Sons. p.1769-1789.
- Cook, NY. and Saaman, S. 1996. "Review: Flavonoid, Chemistry, Metabolism, Cardioprotective, Effects, and Dietary Sources". *Nutritional Biochemistry*. 7: 66-67.
- Darmansjah, I. 1995. *Dasar Toksikologi*. Edisi ke-4. Jakarta: Gaya Baru.
- Darmono. 1995. *Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta: Indonesia University Press.
- David, C. H. 1995. *HAM Histologi*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Estes, G. O., Knoop, W. E., and Houghton, F. D. 1973. "Soil Plant Response to Surface-Applied Mercury". *J. Environ. Qual.* 2: 451-452.
- Eva, F., Sabu, E. P., Sudarso, dan Fachruddin. 1993. "Penelitian Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Beluntas China (*Gynura procumbens* Backer) pada Mencit Putih", *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat VII*. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA. Makasar: UNHAS. p. 244-245.

- Fahy, V. A. 1987. "Heavy Metal Toxicity with Reference to Industrial Development", dalam: *Proc. No. 103. Veterinary Clinical Toxicology*. Sydney: The University of Sydney. p. 319-338
- Fardiaz, S. 1992. *Polusi Air dan Udara*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Frandsen, R. D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Edisi ke-4. Alih bahasa: Sriganono, B. dan Praseno, K. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Fujiki, M. 1973. "The Transitional Condition of Minamata Bay and Neighbouring Sea Polluted by Factory Waste Water Containing Mercury". In: *Advances in Water Pollution Research. Proceed of the 6 th International Conference*. Oxford: Pergamon Press.
- Gandasoebrata, R. 1992. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Ganong, W. F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Gitawati, R. 1995. "Radikal Bebas: Sifat dan Peran dalam Menimbulkan Kerusakan dan Kematian Sel". Dalam: *Cermin Dunia Kedokteran No. 102. Jakarta*. p. 14-17.
- Goering, P. L., Mistry, P., and Fowler, B. A. 1987. "Mechanism of Metal Toxicity". In : *Handbook of Toxicology*. Eds. T. J. Haley and W. O. Berndt. New York: Hemisphere.
- Goyer, R. A. 1991. "Toxic Effect of Metals". In: *Cassarett and Doulls Toxicology. The Basic Science of Poisons* (M. O. Amdur, J. Doull. and C. D. Klaassen, eds.). New York: Pergamon Press. p. 646-651.
- Gultom, M. L. R. 2003. "Pengaruh Flavonoid terhadap Jumlah Eritrosit, Hemoglobin, PCV Tikus yang Diinduksi Karbon Tetra Klorida". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Guthrie, F. E. 1980. "Absorption and Distribution". In : *Introduction to Bio-chemical Toxicology*. Eds. E. Hodgson and F. E. Guthrie. New York : Elsevier.
- Guyton, C. A. 1991. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Harun, N. dan Syahri, W. 2002. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Gynura procumbens* (Lour) Merr. Dalam Menghambat Sifat Hepatotoksik Halotan dengan dosis Subanastesi pada Mencit". *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 2(7): 63-70.

- Hariono, B., Santosa, E. B., dan Soesanto, M. 1994. "Pengaruh Senyawa Metil Merkuri terhadap Kadar Enzim δ -Amino Levulinic Acid Dehidratase, Gambaran Darah, dan Histopatologi Ginjal, Hati, dan Otak Mencit Bunting dan Keturunannya". *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran Hewan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Balitbang Kehutanan.
- Hodgson, E. and Levi, P. E. 2000. *Textbook of Modern Toxicology*. 2nd ed. Singapore: The Mc. Graw-Hill Companies, Inc. p. 263-266, 385, 387.
- http://risk.lsd.ornl.gov/tox/profiles/methyl_mercury_f_v1.shtml. 12 Desember 2005
- Hunter, D. 1969. *The Disease of Occupation*. London: Little Brown . p. 313-332.
- Katzung, B. G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Alih Bahasa: Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran UNSRI. Editor: H. A. Agoes. Edisi ke-6. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran. p. 350, 641-643, 924-932.
- Lourence, D. R. and Bacharach, A. L. 1964. *Evaluation of Drug Activities*. London: Academic Press.
- Leeson, T. S., Leeson, C.R., dan Paparo, A. A. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Alih Bahasa: Maggy Thenawidjaja. Jakarta: Erlangga
- Loomis, T. A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi 3. Alih Bahasa: Imono A. D. Semarang: IKIP Press.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Ed. 2. Jakarta: IU Press.
- Middleton, E. Jr., Kandaswami, C., and Theoharides, T. C. 2000. "The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer". *Pharm. Reviews*. 52 (4): 673-751.
- Miettinen, J. K. 1973. "Absorption and Elimination of Dietary Mercury (Hg^{2+}) and Methyl Mercury in Man". In: *Mercury, Mercurials and Mercaptans* (M. Miller and T. Clarkson, Eds.), Thomas, Springfield. p. 233-243.
- Modell, W., Schild, H. O., and Wilson, A. 1976. *Applied Pharmacology*. Philadelphia, Toronto: W. B. Saunders Co. p. 590-591, 698-699.

- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., dan Rodwell, V. W. 1999. *Biokimia Harper*. Alih Bahasa: Andry Hartono. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Mutshler, E. 1991. "Dinamika Obat". *Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi ke-%. Bandung : Institut Teknologi Bandung Press. p. 736-740.
- Nakamura, I., Hosokawa, K., and Tamara, H. 1977. "Reduced Mercury Excretion with Feces in Germfree Mice After Oral Administration of Methyl Mercury Chlorida". *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 17: 5
- Norseth, T. and Clarkson, T. W. 1971. "Intestinal Transport of ²⁰³Hg Labeled Methylmercury Chloride Role of Biotransformation in Rats" *Arch. Environ. Health.* 22: 258.
- Oda, E. E. and Ingle, J. D. 1981. "Continuous Flow Cold Vapour Atomic Absorption Determination of Mercury". *Anal. Chem.* 53: 2030-2031.
- Parker, V., Agustine, S. H. O., and Niki, E. 1995. *Nutrition, Lipids, Health, and Disease*. Champaign: AOCS Press.
- Perry, L. M. 1980. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. London: M. I. T. p. 94-95.
- Popescu, H. I., Negru, L., and Lancranjan, I. 1979. "Chromosome Abberations Induced by Occupational Exposure to Mercury". *Arch. Environ. Health.* 34: 461-463.
- Rastogy, S. C. 1977. *Essentials of Animal Physiology*. New Delhi: Wiley Eastern Limited.
- Reeder, S. W., Demayo, A., and Taylor, M. C. 1979. "Guildness for Surface Water Quality". Vol. 1. in : *Organic Chemical Substances, Mercury*. Canada : Inland Directorate Water Quality. p. 1-12.
- Riawan, S. 1990. *Kimia Organik*. Jakarta : Bina Rupa Aksara. p. 329-334. 340, 350.
- Rivai, H. 1995. *Asas Pemeriksaan Kimia*. Jakarta : IU Press. p. 182-203.
- Rowland, I., Danies, M., and Evans, J. 1980. Tissue Content of Mercury in Rats Given Methyl Mercury Chlorida Orally : Influence of Intestinal Flora. *Arch. Environ. Health.* 35: 155.
- Sato, R. dan Omura, T. 1978. *Cytochrome P-450*. New York: Academic Press. p. 233

- Schalm, D. W., Jain, N. J. and Carol, E. J. 1975. *Veterinary Haematology*. Philadelphia : Lea and Febinger. p. 361, 372-337.
- Schunack, W., Mayer, K., dan Haake, M. 1990. "Senyawa Obat". *Buku Pelajaran Kimia Farmasi*. Ed. II (Alih bahasa : Wattimena, J. R. dan Soebito, S.; Editor : Padmawinata, K.). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Smith, J. B. dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Indonesia University Press.
- Soemarmo, R. 1983. *Wawancara secara Lisan tentang Khasiat Daun Dewa sebagai Anti Kanker*. Magelang.
- Sudarto, B. 1990. "Studi Farmakognosi Tumbuhan *Gynura procumbens (Lour) Merr*". *Tesis*. Yogyakarta: Fakultas Pasca Sarjana UGM.
- _____. 1991. "Daya Anti Bakteri Minyak Atsiri Daun Dewa (*Gynura procumbens*)". *Laporan Penelitian*. Fakultas Farmasi. Yogyakarta: UGM.
- Sugiyanto, Soegihardjo, C. J., dan Meiyanto, E. 1994. "Uji Anti Karsinogenik Rutin, Flavonol dan Sari Etanol Daun *Gynura procumbens* dengan Metode New Born Mice". *Laporan Penelitian*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Sumarawati, T. 1993. *Pengaruh Kandungan Logam Berat Merkuri terhadap Ikan Mujair dan Kesehatan bagi Pemakan Ikan Mujair (Tilapia mosambica) di Kolam Pemancingan PT. SIER*. Surabaya: Program Paska Sarjana UNAIR.
- Szymusiak, H. and Zielinski, R. 2000. *Structure and Binding Sites of Most Stable Chelates of Neutral, Mono-and Di-Deprotonated Forms of Quercetin with Divalent Metal Cations*. Poznan, Poland: Department of Technology and Environmental Protection, Faculty of Commodity.
- Tahono, Hadiwidodo, Yuwono, dan Wuryaningsih. 2000. "Patologi Klinik I". *Pengantar Analisa Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran*. Surakarta: UNS Press.
- Taras, M. J., Greedberg, A. E., Hoak, R. D., and Rand. 1971. *Standard Methods for Eximination of Waste Water*. Thirtith ed. Washington: American Public Health Association.
- Tjokronegoro, A. 2000. *Pemeriksaan laboratorium Sederhana*. Fakultas Kedokteran. Jakarta: Universitas Indonesia.

- US. Public Health Service (US. PHS). 1988. "Draft Toxicological Profile for Mercury". *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 208-88-0608. Atlanta: US. Public Health Service, GA EPA.
- van Steenis, C. G. G. J., den Hoed, D., Bloembergen, S., dan Eyma, P. J. 1947. *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Alih Bahasa : Moeso S., Soenarto, Hardjosuwarno, Soerjosodo A., Wibisono, Margono P., Soemantri W. 1947. Jakarta : Pradnya Paramita.
- Vogel, A. I. 1990. *Buku Teks Analisa Anorganik Kualitas Makro dan Semimikro*. Edisi ke-5. Jakarta: Indonesia University Press. p. 809-810
- van Steenis, C. G. G. J, den Hoed, D., Bloembergen, S., dan Eyma, P. J. 1975. *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Alih Bahasa: M. Surjowinoto, Soenarto, Hardjosuwarno, S. Adisewojo, Wibisono, M. Partodidjojo, S. Wirjahardja. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Widmann, F. K. 1999. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi ke-9. Alih bahasa : Siti, B. K., R. Gandasoebrata, dan J. Latu. Jakarta: EGC Penerbit Buku kedokteran.
- William, W. J. 1972. *Haematology*. USA: Mc. Graw Hill Inc.
- Wilson and Gisvolds. 1990. *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. Edisi VIII. Philadelphia: J. B. Lippincolt Company. p. 45-49.
- Wood, A. J. 1982. "Drug Receptor Interactions". In : *Drug Anesthesia*. Eds. M. Ood and A. J. J. Wood. Baltimore : Williams and Wilkins.
- World Health Organization. 1976. "Mercury". *Environmental Health Criteria I*. Geneva: World Health Organization. p.70.
- Wulangi, K. S. 1993. "Prinsip-prinsip Fisiologi Hewan". *Proyek Pembinaan Tenaga Kependidikan*. Jakarta: Departemen pendidikan dan Kebudayaan Direktur Jenderal Perguruan Tinggi.
- Yang, B., Kotani, A., dan Kusu, F. 2001. "Estimation of the Antioxidant of Flavonoids from their Oxidation Potentials". *Analytical Sciences*. 17: 599-604.
- Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J. and Young, J. 1990. "Flavonoid as Superoxida Scavengers and Antioxidant". *Free Radical Biol. Med*. 9: 19-21.

Lampiran 1. Tabulasi Kadar Metil Merkuri Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) pada Hari Terakhir Perlakuan

Kelompok Percobaan	Ulangan	Kadar Metil Merkuri (ppm)
I	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
II	1	1,887
	2	1,806
	3	-
	4	2,076
III	1	1,037
	2	0,784
	3	1,215
	4	1,023
IV	1	1,509
	2	1,256
	3	1,262
	4	1,176
V	1	1,320
	2	0,513
	3	1,331
	4	1,379
VI	1	1,593
	2	0,387
	3	0,665
	4	1,462

Lampiran 2. Tabulasi Nilai Hematokrit Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) pada Hari Terakhir Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Ulangan	Nilai Hematokrit/PCV (%)
I	1	46
	2	45
	3	45
	4	46
II	1	40
	2	42
	3	-
	4	43
III	1	39
	2	49
	3	45
	4	45
IV	1	49
	2	39
	3	45
	4	39
V	1	45
	2	44
	3	41
	4	42
VI	1	40
	2	46
	3	42
	4	46

Lampiran 3. Tabulasi Kadar Hemoglobin Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) pada Hari Terakhir Perlakuan

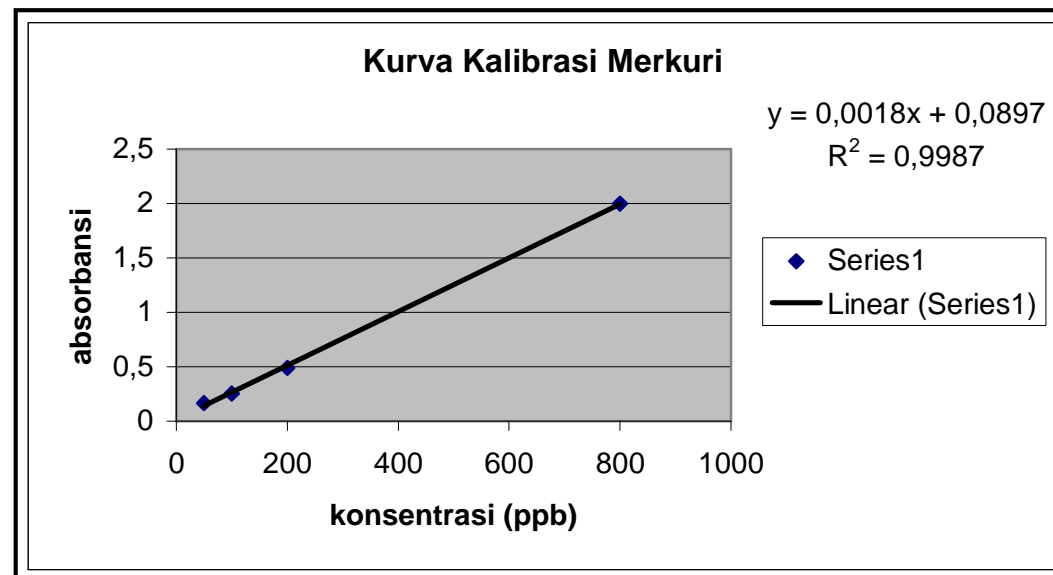
Kelompok Perlakuan	Ulangan	Kadar Hb (g Hb/dL)
I	1	13,10
	2	12,95
	3	13,21
	4	13,25
II	1	8,32
	2	8,06
	3	-
	4	7,99
III	1	11,00
	2	10,56
	3	10,71
	4	10,78
IV	1	8,80
	2	8,65
	3	8,76
	4	8,87
V	1	9,53
	2	9,35
	3	9,16
	4	9,24
VI	1	10,34
	2	10,27
	3	10,12
	4	10,05

Lampiran 4. Tabulasi Jumlah Eritrosit Tikus Putih (*R. norvegicus* L.) pada Hari Terakhir Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Ulangan	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$ darah)
I	1	8,83
	2	7,01
	3	9,37
	4	8,71
II	1	3,26
	2	5,36
	3	-
	4	4,07
III	1	6,36
	2	6,37
	3	5,52
	4	5,66
IV	1	5,92
	2	6,41
	3	5,02
	4	5,53
V	1	6,16
	2	6,23
	3	6,13
	4	5,80
VI	1	8,29
	2	5,88
	3	6,57
	4	6,05

Lampiran 5. Kurva Kalibrasi Merkuri

konsentrasi (ppb)	absorbansi
50	0,169
100	0,256
200	0,489
800	2



Lampiran 6. Uji Anava dan DMRT Kadar Metil Merkuri dalam Darah Tikus Putih (*R. norvegicus* L.)

Oneway

ANOVA

Konsentrasi

	Sum Square	df	Mean	F	Sig.
Between	6.975	5	1.395	13.42	.000
Within	1.767	17	.104		
Total	8.742	22			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Konsentrasi

a,b

Duncan

Kelompok	N	Subset for alpha =		
		1	2	3
I	4	.0000		
III	4		1.0142	
VI	4		1.0270	
V	4		1.1352	
IV	4		1.3010	
II	3			1.9230
Sig.		1.000	.276	1.00

Means for groups in homogeneous subsets are

- Uses Harmonic Mean Sample Size =
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of sizes is used. Type I error levels are not

**Lampiran 7. Uji Anava dan DMRT Nilai Hematokrit/PCV Tikus Putih
(*R. norvegicus* L.)**

Oneway

ANOVA

	Sum Square	df	Mean	F	Sig.
Between	31.81	5	6.362	.653	.663
Within	165.66	17	9.745		
Total	197.47	22			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan^{a, b}

Kelompok	N	Subset for alpha = .05
		1
II	3	41.67
IV	4	43.00
V	4	43.00
VI	4	43.50
III	4	44.50
I	4	45.50
Sig.		.150

Means for groups in homogeneous subsets are

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =

b. The group sizes are unequal. The harmonic of the group sizes is used. Type I error not

**Lampiran 8. Uji Anava dan DMRT Kadar Hemoglobin Tikus Putih
(*R. norvegicus* L.)**

Oneway

ANOVA

	Sum Square	df	Mean	F	Sig.
Between	59.66	5	11.93	547.16	.000
Within	.371	17	.022		
Total	60.03	22			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan^{a,b}

Kelompok	N	Subset for alpha =					
		1	2	3	4	5	6
II	3	8.123					
III	4		8.770				
IV	4			9.320			
V	4				10.195		
VI	4					10.762	
I	4						13.127
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error guarantee

**Lampiran 9. Uji Anava dan DMRT Jumlah Eritrosit Tikus Putih
(*R. norvegicus* L.)**

Oneway

ANOVA

	Sum Square	df	Mean	F	Sig.
Between	34.25	5	6.850	10.44	.000
Within	11.15	17	.656		
Total	45.40	22			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan ^{a,b}

Kelompok	N	Subset for alpha =		
		1	2	3
II	3	4.230		
IV	4		5.720	
III	4		6.067	
V	4		6.080	
VI	4		6.697	
I	4			8.480
Sig.		1.000	.144	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size =
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of sizes is used. Type I error levels are not

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan kemuliaan atas ilmu pengetahuan. Atas izin dan pertolongan-Nya, penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “ Efek Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) terhadap Kadar Metil Merkuri Darah dan Karakteristik Eritrosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Paska Pemaparan Metil Merkuri Klorida”. Penyusunan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Marsusi, M. S., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Drs. Wiryanto, M. Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, sekaligus sebagai Pembimbing I yang telah membimbing dan mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi.
3. Dra. Noor Soesanti H., sebagai Pembimbing Akademis yang telah memberikan arahan selama penyelesaian studi.
4. Shanti Listyawati, M. Si., selaku Pembimbing II yang telah membimbing dan mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi.
5. Dr. Okid Parama Astirin, M. S., selaku Penguji I yang telah banyak memberikan masukan dan saran dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi.
6. Tetri Widiyani, M. Si., selaku penguji II yang telah banyak memberikan masukan dan saran dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi.

7. Seluruh staf Lab. Biologi Lab. Pusat MIPA yang telah memberi kemudahan dan bantuan selama penelitian di laboratorium.
8. Seluruh staf LP3HP-LPPT UGM yang telah membantu pelaksanaan teknis penelitian di laboratorium.
9. Bapak Sutarmin BPTO dan seluruh staf Lab. Patologi Klinik UGM yang telah membantu penelitian.
10. Teman-teman Biologi angkatan '00, '01, dan '02 atas kebersamaan di perkuliahan dan di laboratorium.
11. Mbah putriku "Suti" atas kesabaranmu menemani hari-hariku bersama Uli, semoga Allah SWT selalu melimpahkan rohmatNya, Amiin.
12. Rahadi Hutomo, S. Si. atas bantuan olah data SPSS-Nya, Avrilia Wahyuana, S. Si, Tri Wulandari, S. Si. syukron atas konsultasinya, de' Irma "pinky" ingat selalu mbak "choky"-mu ini ya, de' Yeyen manis '01 syukron katiir atas keakrabanmu, de' Ana, dan teman seperjuanganku Dian Ratnasih & Sunitra, teruskan perjuangan kalian...semangat!
13. Semua keluarga Makassar atas dukungannya sehingga bisa sampai final.
14. Akh Abu Kholid "Syu'aib", jazakallah khoiron katsiro, syukron katsiro atas semuanya, semoga niat yang baik akan selalu diridhoi-Nya, barokallaahu fiik, amiin.
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Surakarta, 9 Februari 2007

penulis