

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Timbal (Pb)

2.1.1 Gambaran Umum Timbal (Pb)

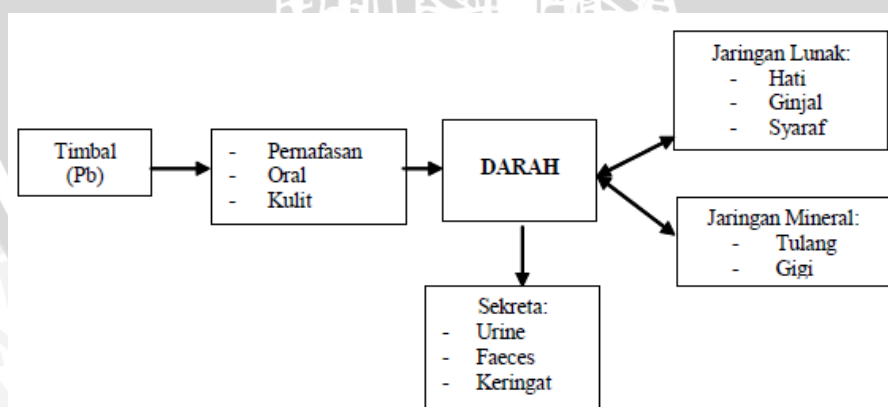
Timbal (Pb) merupakan suatu logam berat yang lunak berwarna kelabu kebiruan dengan titik leleh 327 °C dan titik didih 1.620 °C. Pada suhu 550-600 °C timbal menguap dan bereaksi dengan oksigen dalam udara membentuk timbal oksida. Walaupun bersifat lentur, timbal sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, sulit larut dalam air dingin, air panas dan air asam. Timbal dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat dan asam sulfat pekat. Bentuk oksidasi yang paling umum adalah timbal (II) dan senyawa organometalik yang terpenting adalah timbal tetra etil (TEL: *tetra ethyl lead*), timbal tetra metil (TML : *tetra methyl lead*) dan timbal *stearat*. Merupakan logam yang tahan terhadap korosi atau karat, sehingga sering digunakan sebagai bahan *coating* (Suciani, 2007).

Bentuk kimia Pb merupakan faktor penting yang mempengaruhi sifat-sifat Pb di dalam tubuh. Komponen Pb organik, misalnya tetraetil Pb, segera dapat terabsorpsi oleh tubuh melalui kulit atau membran mukosa. Komponen Pb di dalam bensin, meskipun berbentuk komponen organik, tidak merupakan bahaya polusi dalam bentuk organik karena selama pembakaran akan diubah menjadi bentuk anorganik. Komponen ini dilepaskan di udara dan sifatnya kurang berbahaya dibandingkan dengan Pb organik. Komponen Pb anorganik

diabsorpsi terutama melalui saluran pencernaan dan pernapasan, dan merupakan sumber Pb utama di dalam tubuh (Fardiaz, 2002).

2.1.2 Akumulasi Timbal dalam Tubuh

Timbal adalah logam berat yang dapat menyebabkan keracunan dan terakumulasi dalam tubuh. Proses masuknya timbal ke dalam tubuh (**Gambar 2.1**) dapat melalui makanan dan minuman, udara, dan penetrasi pada kulit. Penyerapan lewat kulit ini dapat terjadi disebabkan karena senyawa ini dapat larut dalam minyak dan lemak. Timbal melalui udara masuk ke saluran pernafasan akan terserap dan berikatan dengan darah paru-paru kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh. Sekitar 90% timbal yang terserap oleh darah berikatan dengan sel-sel darah merah (Palar, 2008). Timbal yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman, masuk ke saluran pencernaan dan akan diikutkan dalam proses metabolisme tubuh (Naria, 2005).



Gambar 2.1 Akumulasi Timbal pada Tubuh (Depkes RI, 2001).

Timbal masuk ke dalam tubuh akan didistribusikan ke darah, cairan ekstraseluler, dan beberapa tempat deposit. Tempat deposit timbal berada di jaringan lunak (hati, ginjal, dan saraf) dan jaringan keras (tulang dan gigi). Pada tulang sekitar (60%), hati (25%), ginjal (4%), saraf (3%), dan ke jaringan lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Hariono (2005), setelah pemberian timbal peroral pada tikus akan terjadi akumulasi timbal tertinggi pada jaringan lunak terjadi berturut-turut pada ginjal, disusul hati, otak, paru, jantung, otot, dan testis. Kadar timbal tertinggi dalam jaringan keras ditemukan pada tulang rusuk, kepala, paha, dan gigi.

Timbal dalam bentuk larutan diabsorpsi sekitar 1-10% melalui dinding saluran pencernaan. Sistem darah porta hepatis (dalam hati) membawa timbal tersebut dan dideposisi dan sebagian lagi didistribusikan oleh darah ke dalam jaringan. Timbal kemudian diekskresikan melalui urin dan feses. Kebanyakan ekskresi terjadi melalui cairan empedu ke dalam intestinum dan sebagian kecil diekskresikan melalui dinding intestinum dan ginjal melalui air susu, keringat dan rambut (Fardiaz, 2002).

2.1.3 Pengaruh Timbal pada Hepar

Paparan timbal (Pb) dengan dosis yang tinggi dapat bersifat toksis pada hepar, sehingga menimbulkan degenerasi jaringan hepar. Kemudian terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hepar. Pb dalam darah dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ termasuk organ hepar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan Pb untuk membentuk radikal bebas dalam tubuh serta menurunkan kemampuan antioksidan sehingga dengan sendirinya akan

terjadi stres oksidatif. Selain itu dari berbagai penelitian diketahui bahwa Pb secara langsung dapat menimbulkan terjadinya gangguan dalam proses biokimia normal sistem hepatobilier dan juga dapat menyebabkan nekrosis sel hati (Santosa, 2005).

Pemberian timbal dengan dosis 5 mg/ekor/hari secara per oral pada hewan coba tikus selama 4 minggu menunjukkan adanya kerusakan pada sel-sel hepar dengan persentase kerusakan sel hepar 5-15%. Kerusakan hepar menurut gambaran histopatologinya berupa degenerasi dan nekrosis pada sel-sel hepar (Suprijono, 2011). Kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut seperti akut, subkronik atau kronik. Selain itu, hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi. Kehilangan jaringan akibat zat-zat toksik memacu mekanisme dimana sel-sel hepar mulai membelah dan terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan tercapai (Junqueira, 2007).

Menurut Badan Standarisasi Nasional (2009), Nilai *Lethal Dose 50* (LD50) atau *Lethal Concentration 50* (LC50) didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi suatu toksikan yang secara statistik diharapkan dapat membunuh 50% hewan uji. Nilai LD50 dari pengaruh pemberian timbal per oral terhadap tikus putih adalah 100-825 mg/kg. *Lethal Dose* (LD) didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi suatu toksikan yang secara statistik diharapkan dapat membunuh 100% hewan uji. Nilai LD dari pengaruh pemberian timbal per oral terhadap tikus putih adalah 11.000 mg/kg.

2.1.4 Pengaruh Timbal pada Enzim Protease

Keberadaan timbal yang sangat reaktif (Pb^{2+}) akan mengakibatkan terbentuknya ROS. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan proses pembentukan senyawa yang tidak sempurna dikarenakan terjadinya pengalihan elektron dari senyawa lain. Jika ROS terdapat dalam jumlah besar dalam tubuh maka radikal bebas yang telah terbentuk akan mengendap di dalam sel sehingga mengakibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan antioksidan (Wati dkk., 2013). Keberadaan ROS juga akan menginisiasi terjadinya inflamasi pada jaringan. Sel-sel inflamasi akan mensekresikan sitokin proinflamasi sehingga mengaktifkan neutrofil dan makrofag. Neutrofil dan makrofag yang telah aktif akan melepaskan protease ke dalam sel sebagai bentuk respon seluler.

Efek lain dari stres oksidatif adalah berupa kerusakan mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh. Selain itu, keadaan ini juga dapat menyebabkan penurunan fungsi biologis dan perusakan DNA. Antioksidan berperan sangat penting dalam proses kerusakan tersebut karena antioksidan mampu menghambat oksidasi dari molekul oksidan (Ardhie, 2011).

2.2 Polyvinyl Chloride (PVC)

Polyvinyl Chloride (PVC) adalah polimer bertipe *thermoplastic* yang mempunyai bentuk monomer. *Polyvinyl Chloride* mempunyai titik leleh sekitar $204^{\circ}C$, temperatur transisi gelas antara $70-100^{\circ}C$, temperatur kerja maksimum tanpa beban $110^{\circ}C$, dan berat jenis 1,49-1,58 g/cm (Umam, 2011). Polimer

merupakan bahan yang terdiri dari unit molekul yang disebut monomer. *Polyvinyl Chloride* memiliki 3 tahapan pengolahan, yaitu *Calendering*, dengan produk akhir *sheet, film, leather cloth*, dan *floor covering*; Ekstrusi, dengan produk akhir pipa, *tube, building profile, sheet, floor covering, monofilament*, isolasi kabel listrik dan telepon, barang berongga dan *blown film*; cetak injeksi, dengan produk akhir sol sepatu, sepatu, *boot, container, sleeve* (penguat leher baju), *valve, fitting, electrical* dan *engineering parts* (Mujiarto, 2005).

Polyvinyl Chloride memiliki sifat amorf, polimer polar saat diproduksi, namun tergantung pada nilai rata-rata derajat polimerisasi (panjang rantai molekul polimer). Secara garis besar PVC dibagi menjadi dua, yaitu *unplasticised PVC* (uPVC atau PVC-U) yang bersifat rigid dan *plasticised PVC* yang bersifat fleksibel. *Polyvinyl Chloride unplasticised* diaplikasikan dalam bentuk pipa air, pipa insulasi, pipa sambungan dan lain-lain. Sedangkan pipa yang bersifat fleksibel digunakan untuk komponen mobil, komputer, insulasi kabel dan kawat (Mujiarto, 2005). Penggunaan PVC dalam suhu dan kandungan lemak yang tinggi menyebabkan zat aditifnya bermigrasi dan keluar ke luar produk dan jika dibakar akan menyebabkan terbentuknya gas dioksin yang berbahaya bagi lingkungan. Suhu ideal penggunaan pipa PVC adalah 0-45⁰ C (Hasanudin, 2008).

2.3 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)



Gambar 2.2 Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) (Scanbur Research, 2010)

Hewan coba adalah hewan yang digunakan sebagai penunjang penelitian atau sebagai simulasi terhadap respon tubuh sebelum diaplikasikan secara langsung pada manusia atau spesies target. Salah satu hewan coba yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) (**Gambar 2.2**). Hewan coba tikus jantan dapat mencapai berat 800 gram dalam kondisi obesitas. Ukuran dari tikus putih dapat dipengaruhi dari temperatur selama pemeliharaan. Tikus putih dapat hidup hingga 600 hari pada tikus jantan dan 700 hari pada tikus betina (Koolhaas, 2010).

Karakteristik tikus putih antara lain kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, hidung tumpul serta telinga kecil (Armitage, 2004), berat badan antar 150-600 gram, panjang badan 18-25, berumur 4-5 tahun. Tikus tidak memiliki kantung empedu sehingga tidak ada respon muntah (Sirois, 2005). Hal tersebut memudahkan dalam pemberian perlakuan dengan menggunakan sonde.

Menurut Armitage (2004), klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animal

Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus novergicus*

Secara in vivo pada tikus yang diberikan timbal dijumpai penurunan kadar glutathion tereduksi hepar dan adanya kemungkinan terjadinya apoptosis hepar. Pada percobaan in vitro, timbal menunjukkan efek nekrotik langsung bukan apoptotik pada hepar. Sedangkan pada inkubasi sel hepar bersama sel kupffer yang dikultur dengan timbal terjadi apoptosis sel hepar. Hal ini menunjukkan bahwa timbal mempunyai efek nekrosis langsung pada sel hepar, serta menunjukkan adanya peran sel kupffer dalam menginduksi apoptosis sel hepar setelah pemberian timbal melalui stres oksidatif (Pagliara *et al.* 2003).

2.4 Organ Hepar

Hepar merupakan organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Hepar mempunyai tugas penting yang rumit demi kelangsungan seluruh fungsi kesehatan tubuh. Organ hepar terletak dalam rongga abdomen di bawah diafragma. Unsur struktural utama hepar adalah sel-sel hati atau hepatosit. Sel-sel ini berkelompok dalam lempeng-lempeng yang saling berhubungan sedemikian rupa, membentuk bangunan yang disebut lobulus hepar (Guyton *et. al.*, 2008).

Hati tersusun oleh sel hati hepatosit berbentuk heksagonal dimana sel-sel parenkimnya tersusun radier terhadap vena sentralis. Parenkim hati dipisahkan oleh sinusoid. Pada sinusoid terdapat selapis endotel yang tidak kontinyu sehingga darah bisa langsung berhubungan dengan sel hati dan dapat terjadi pertukaran metabolit antara darah dengan sel hati. Selain itu hati juga mempunyai sel kupfer yang berfungsi memfagositosis bakteri dan benda asing dalam darah (Budianto, 2003).

2.4.1 Fungsi Hepar

Menurut Guyton *et. al.* (2008), hati mempunyai beberapa fungsi yaitu :

1. Metabolisme karbohidrat

Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi glukosa dan fruktosa, dan membentuk senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.

2. Metabolisme lemak

Fungsi hati yang berkaitan dengan metabolisme lemak, antara lain mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat.

3. Metabolisme protein

Fungsi hati dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh,

pembentukan protein plasma, dan interkonversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino.

4. Pembekuan darah

Hati merupakan organ penting bagi sintesis protein-protein yang berkaitan dengan koagulasi darah, misalnya: membentuk fibrinogen, protrombin, faktor koagulasi V, VII, IX, X. Benda asing apabila menusuk terkena pembuluh darah, faktor yang bereaksi adalah faktor ekstrinsik, apabila terdapat hubungan dengan katup jantung maka yang bereaksi adalah faktor intrinsik. Fibrin harus isomer agar kuat pembekuannya dan ditambah dengan faktor XIII, sedangkan Vitamin K dibutuhkan untuk pembentukan protrombin dan beberapa faktor koagulasi.

5. Detoksifikasi

Hati adalah pusat detoksifikasi tubuh, Proses detoksikasi terjadi pada proses oksidasi, reduksi, metilasi, esterifikasi dan konjugasi terhadap berbagai macam bahan seperti zat racun, dan over dosis obat.

6. Fagositosis dan imunitas

Sel kupffer merupakan *filter* penting bakteri, pigmen dan berbagai benda asing melalui proses fagositosis. Selain itu sel kupffer juga ikut memproduksi δ - globulin sebagai *imun livers mechanism*.

7. Hemodinamik

Hati menerima $\pm 25\%$ dari *cardiac output*, aliran darah hati yang normal ± 1500 cc/ menit atau 1000 - 1800 cc/ menit. Darah yang mengalir di dalam arteri hepatica $\pm 25\%$ dan di dalam vena porta 75% dari seluruh

aliran darah ke hati. Aliran darah ke hati dipengaruhi oleh faktor mekanis, pengaruh sistem saraf dan hormonal, aliran ini berubah cepat pada saat *exercise*, terik matahari, *shock*. Hati merupakan organ penting untuk mempertahankan aliran darah.

2.4.2 Mekanisme Kerusakan Hati Akibat Timbal

Masuknya timbal ke dalam tubuh akan diabsorpsi dengan cepat dari saluran cerna, hanya 3-4% yang dilepaskan dalam urin dan feses dalam bentuk utuh. Setelah diabsorpsi di saluran cerna, timbal diangkut melalui vena porta ke hati, jadi hati adalah organ pertama yang dikenai oleh timbal yang diabsorpsi dari saluran cerna. Di hati terjadi proses detoksifikasi timbal, dan hati akan merubah kembali timbal menjadi produk yang dapat dikeluarkan melalui urin dan cairan empedu, aktivitas hati dalam merubah dan membersihkan timbal menyebabkan hati terkena efek toksik timbal. Proses detoksifikasi ini menyebabkan kerusakan pada sel-sel hati dan akibatnya hati kehilangan fungsi, sehingga mempengaruhi proses metabolisme yang berdampak pada seluruh organ. Akibat dari kerusakan hati terjadi kematian pada sel-sel hati (Malhi *et al.*, 2008).

Kerusakan hati yang disebabkan oleh timbal diawali dengan pembentukan radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena elektronnya tidak berpasangan sehingga berusaha menarik elektron dari molekul disekitarnya dan dapat berikatan secara kovalen dengan protein, lipid, dan DNA. Radikal bebas merupakan salah satu bentuk spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS). Zat yang terambil elektronnya akan

menjadi radikal bebas juga, sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan pada sel tersebut (Arief, 2003). Umumnya radikal bebas merusak struktur sel melalui tiga tahapan yaitu, tahap inisiasi (pembentukan radikal bebas), propagasi (reaksi berantai radikal) dan terminasi (reaksi dengan radikal lain atau dengan antioksidan untuk membentuk senyawa yang stabil). Radikal bebas yang paling berbahaya adalah radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) karena reaktifitasnya sangat tinggi sehingga dapat merusak tiga senyawa penting dalam mempertahankan integritas sel yaitu lipid, protein, dan DNA (Simanjuntak, 2007).

Kerusakan sel hati akibat pemberian timbal, didahului pada kerusakan membran sel, terutama kerusakan asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel dihancurkan oleh radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$), hal ini menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid, akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi aldehid yang toksis terhadap sel, sehingga mengakibatkan kerusakan membran sel dan organela sel secara luas. Interaksi radikal bebas lainnya dengan protein, mendorong terjadinya oksidasi asam amino yaitu sistein sebagai penyusun protein membentuk ikatan disulfide. Pembentukan disulfida protein meningkatkan permeabilitas membran, dengan hilangnya potensial membran, menyebabkan penurunan sintesa ATP, penghambatan dari Ca^{2+} , penghancuran mikrofilamen, dan pembentukan vesikel pada membran, selanjutnya membran sel akan ruptur. Oksidasi lemak dan protein juga dapat mengaktifkan sel-sel imunitas, sel kupffer, dan sel-sel polimorfonuklear

(Grattagliano *et al.*, 2009). Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA seperti hidrosilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tak terlalu parah maka masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA (DNA repair system), tetapi jika kerusakan terlalu parah misalnya rantai DNA terputus-putus diberbagai tempat, maka kerusakan tersebut tak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu sehingga menimbulkan mutasi, selanjutnya dapat menimbulkan kanker (Simanjuntak, 2007).

2.5 Enzim Protease

Enzim protease merupakan enzim proteolitik golongan hidrolase yang mampu memecah protein menjadi asam amino. Enzim protease yang dihasilkan oleh neutrofil dan makrofag memiliki peran dalam reaksi inflamasi. Enzim ini disintesis di permukaan membran plasma sehingga akan meregulasi aktivitas dari berbagai kemokin, sitokin, dan reseptor permukaan sel. Sekresi dari protease juga mampu mengaktifasi limfosit, apoptosis, dan adhesi melokul. Enzim protease yang berperan dalam reaksi inflamasi adalah enzim elastase dan enzim protease 3. Enzim elastase mampu menghancurkan bakteri dan sel-sel yang rusak. Enzim ini bekerja secara intraseluler di dalam fagolisosom untuk menghancurkan mikroorganisme patogen. Enzim protease 3 mampu menginduksi sel yang rusak untuk melakukan apoptosis. Apoptosis adalah suatu mekanisme kematian sel secara fisiologis yang bersifat menguntungkan bagi tubuh. Apoptosis akan mengeliminasi sel-sel yang memicu inflamasi sehingga mampu meredakan reaksi radang (Korkmaz dkk., 2010).

2.6 Tumor Necrosis Factor α (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor α merupakan suatu protein yang memiliki berat molekul sebesar 26 KDa yang kemudian dipecah menjadi 17 KDa dan dihasilkan leukosit untuk merangsang dan mengaktifkan sistem imun terhadap respon inflamasi, dimana dalam keadaan normal patogen pada sistem kekebalan tubuh memicu reaktivitas imun pada imunitas nonspesifik maupun spesifik. *Tumor Necrosis Factor α* menjadi mediator penting untuk menjembatani antara respon imun spesifik dengan proses inflamasi akut (Kresno, 2010).

Aktivasi TNF- α disebabkan oleh dua faktor yakni faktor eksogen dan faktor endogen. Faktor eksogen bisa berupa benda asing atau antigen yang berasal dari luar tubuh seperti virus, parasit, enterotoksin dan protein dinding sel jamur, sedangkan faktor endogen berupa sitokin-sitokin lain seperti IL-1, IFN- γ , dan (Baratawidjaja, 2004). Kedua faktor tersebut dapat memicu aktivasi makrofag melalui proses fagositosis yang sebagian besar dilakukan oleh ROS yang direspon oleh sistem imun dengan mengaktifasi I κ B yang terdegradasi proteosomal dan NF- κ B yang mengalami transkripsi gen inflamasi di nukleus dengan cara mengikat target gen. Peningkatan aktivasi NF- κ B yang direspon oleh makrofag menyebabkan terjadinya produksi dan sekresi sitokin proinflamasi TNF- α sebagai indikator terjadinya inflamasi (Abbas *et al*, 2015). Cara kerja sitokin TNF- α yakni dengan mengatur aktivasi, diferensiasi, dan proliferasi sel dalam proses inflamasi. Meningkatnya ekspresi TNF- α terdapat pada kejadian inflamasi akut dan kronik (Baratawidjaja, 2004).

Pada hati, TNF- α terlibat dalam patofisiologi hepatitis viral, penyakit hati alkoholik, *nonalcoholic fatty liver disease*, dan *ischemia-reperfusion (I/R) injury*. *Tumor Necrosis Factor α* memainkan peran ganda di hati, berperan sebagai mediator *cell death* dan menginduksi proliferasi hepatosit dan regenerasi hati (Schwabe and Brenner, 2006).

