

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Tinjauan Umum Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu hewan laboratorium yang umum dipakai untuk berbagai keperluan penelitian. Data biologis mencit (*Mus musculus*) adalah sebagai berikut :

Tabel 01. Data biologis mencit (*Mus musculus*)

Lama hidup	: 1 – 2 tahun
Umur dewasa	: 35 hari
Berat dewasa	: 20 – 40 g jantan; 18 – 35 g betina
Volume darah	: 75 – 80 ml / kg
Sel darah merah (eritrosit)	: $7,7 - 12,5 \cdot 10^6 / \text{mm}^3$
Sel darah putih (leukosit)	: $6,0 - 12,6 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$
Hemoglobin (Hb)	: 13 – 16 g / 100 ml

(Smith dan Mangkoewidjojo, 1988)

Pakan mencit umumnya berupa pelet yang diberikan tanpa batas (*ad libitum*). Air minum untuk mencit juga harus selalu tersedia. Kebutuhan pakan harian per 100 g berat badan mencit berkisar antara 12 – 15 g. Kebutuhan air minum harian per 100 g berat badan mencit sekitar 15 ml (Blackshaw dan Allan, 1984).

Komposisi pakan mencit yang lengkap mengandung karbohidrat, protein, lemak, serat kasar, vitamin, mineral dan abu. Bahan – bahan yang dapat digunakan

untuk membuat pakan mencit antara lain tepung jagung, tepung ikan, tepung tulang, kacang hijau, bungkil kelapa, bungkil kedelai, kapur dan vitamin. Pada lembaga kecil yang tidak memiliki fasilitas untuk membuat pakan mencit sendiri, pakan anak ayam dapat digunakan sebagai pakan mencit (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

2.1.2. Tinjauan Umum Darah

Darah merupakan jaringan pengikat yang mempunyai fungsi yang sangat penting bagi kehidupan hewan dalam menyediakan dan mempertahankan suatu lingkungan yang relatif konstan untuk kehidupan semua sel di dalam tubuh. Fungsi darah adalah sebagai berikut :

- a. mengangkut oksigen (O_2) dari paru – paru ke jaringan dan karbondioksida (CO_2) dari jaringan ke paru – paru
- b. mengangkut nutrien ke jaringan tubuh dan sampah metabolik untuk diekskresikan
- c. mengangkut metabolit dan hormon
- d. mengatur homeostasis suhu, keseimbangan air dan keseimbangan asam – basa (pH) di dalam tubuh
- e. berperan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap penyakit
- f. berperan dalam proses pembekuan darah (koagulasi) ketika terjadi luka.

(Murray dkk., 1996)

Darah sebagai suatu cairan tubuh tersusun atas dua komponen yaitu komponen cair darah yang disebut plasma darah (55 %) dan komponen seluler darah (45 %). Plasma darah tersusun atas 91 % air, 8 % protein, 0,9 % mineral dan sisanya bahan organik non protein. Komponen seluler darah terdiri atas sel darah

merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah / platelet (trombosit) (Pearce, 1991).

2.1.2.1. Eritrosit

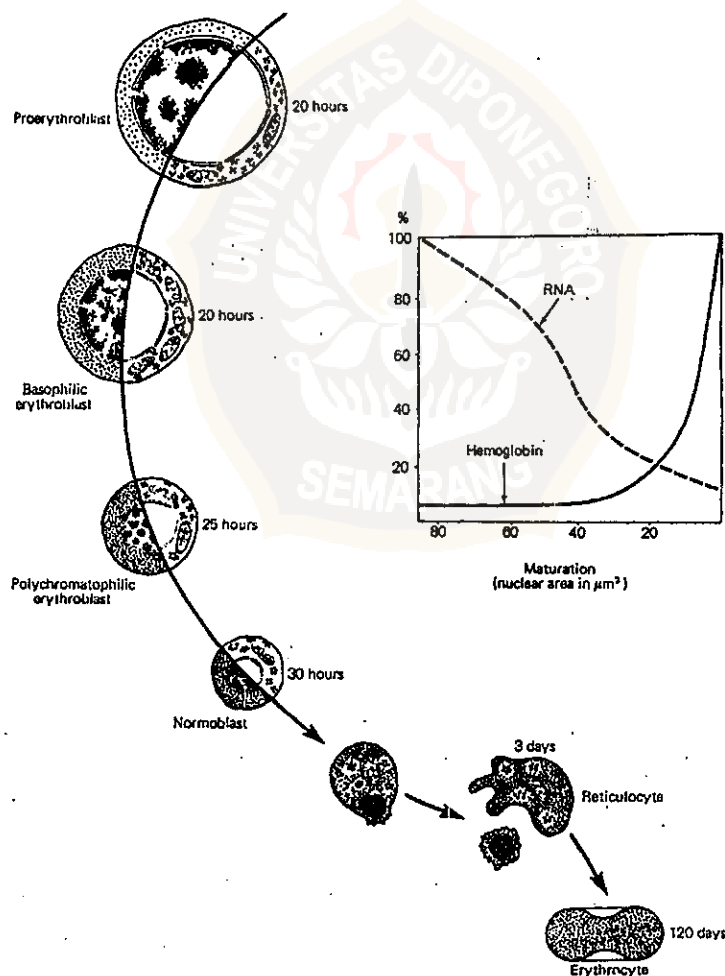
Eritrosit berbentuk cakram bikonkaf dengan diameter rata – ratanya sekitar 7,2 μm (Junqueira dan Carneiro, 1995). Strukturnya sederhana yang pada dasarnya tersusun atas sebuah membran yang mengelilingi sitoplasma berisi larutan hemoglobin. Eritrosit tidak mengandung organela intraseluler. Eritrosit pada mamalia tidak mempunyai nukleus (Murray dkk., 1996).

Eritrosit mempunyai fungsi yang spesifik untuk mengangkut oksigen dari paru – paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru – paru (Murray dkk., 1996). Fungsi ini berlangsung karena adanya kandungan hemoglobin di dalam eritrosit.

2.1.2.2. Eritropoiesis

Eritropoiesis atau proses pembentukan eritrosit berlangsung di dalam sumsum tulang. Eritropoiesis berlangsung melalui serangkaian tahap – tahap diferensiasi dan pematangan sel – sel seri eritrosit (eritroid) yang dimulai dari proeritroblast, eritroblast basofilik, eritroblast polikromatofilik, eritroblast ortokromatofilik (normoblast), retikulosit dan akhirnya eritrosit (Junqueira dan Carneiro, 1995). Pada tahap retikulosit, sel – sel bergerak dari sumsum tulang masuk ke dalam kapiler darah dengan cara diapedesis sampai akhirnya menjadi eritrosit matang yang siap untuk bersirkulasi dan menjalankan fungsi spesifiknya (Guyton dan Hall, 1997).

Selama eritropoiesis berlangsung, sel – sel eritroid mengalami perubahan morfologi dan histologi seiring dengan perkembangan proses biokimiawi yang terjadi di dalamnya. Adapun perubahan – perubahan tersebut antara lain berkurangnya ukuran dan volume sel, berkurangnya ukuran nukleolus sampai tidak terlihat lagi di bawah mikroskop cahaya, bertambah padatnya kromosom sampai nukleus tampak piknotik dan akhirnya dikeluarkan dari dalam sel, berkurangnya jumlah poliribosom (basofilia), mitokondria dan organela intraseluler lainnya sampai akhirnya tidak ada lagi serta bertambahnya jumlah hemoglobin (asidofilia) di dalam sitoplasma (Junqueira dan Carneiro, 1995).



Gambar 01. Eritropoiesis (Junqueira dan Carneiro, 1995)

2.1.2.3. Hemoglobin (Hb)

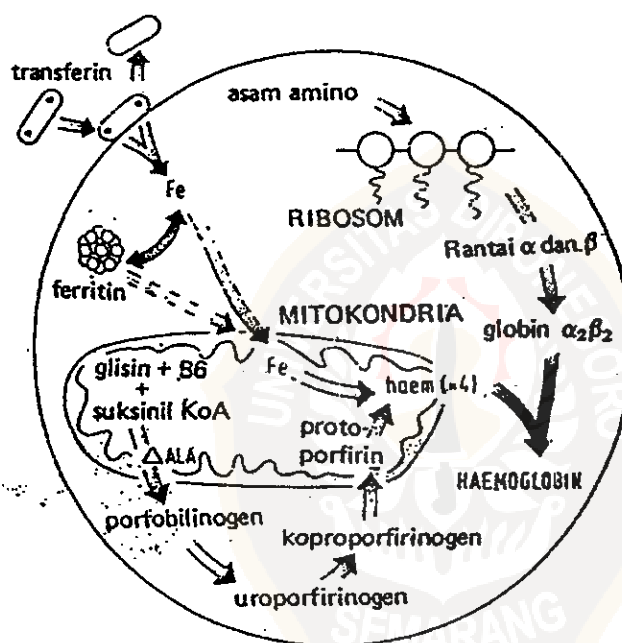
Hemoglobin terkandung di dalam eritrosit dan merupakan pigmen yang menyebabkan timbulnya warna merah pada darah. Molekul hemoglobin tersusun atas empat sub unit, di mana tiap sub unitnya mengandung gugus heme yang dihubungkan dengan rantai polipeptida (protein) globin. Gugus heme merupakan derivat porfirin yang mengandung besi (Fe) sedangkan globin merupakan protein globular yang tersusun atas empat rantai asam amino (Junqueira dan Carneiro, 1995).

Fungsi hemoglobin di dalam eritrosit adalah untuk mengangkut oksigen dari paru – paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru – paru (Murray dkk., 1997). Oksigen dari paru – paru akan berikatan secara longgar dan reversibel dengan setiap atom besi pada gugus heme dari hemoglobin dan membentuk oksihemoglobin (HbO_2) di dalam eritrosit. Oksigen yang terikat jumlahnya proporsional terhadap jumlah besi yang ada, di mana satu molekul oksigen akan bergabung dengan tiap atom besi sehingga setiap molekul hemoglobin dapat mengangkut empat molekul oksigen (Guyton dan Hall, 1997).

2.1.2.4. Sintesa Hemoglobin

Sintesa hemoglobin berlangsung selama eritropoiesis yang dimulai dari tahap proeritroblast dan dilanjutkan sedikit dalam tahap retikulosit. Ketika retikulosit meninggalkan sumsum tulang dan masuk ke aliran darah, retikulosit tetap mensintesa sedikit hemoglobin selama beberapa hari berikutnya (Guyton dan Hall, 1997). Sekitar 65 % hemoglobin disintesa pada tahap eritroblast dan 35 % pada tahap retikulosit (Hoffbrand dan Pettit, 1996).

Hemoglobin disintesa melalui serangkaian reaksi kimia. Suksinil KoA berikatan dengan glisin membentuk pirol, di mana empat pirol ini akan bergabung membentuk protoporfirin IX. Protoporfirin IX bergabung dengan besi membentuk heme. Heme akan bergabung dengan rantai polipeptida globin membentuk suatu sub unit hemoglobin yang disebut rantai hemoglobin. Empat rantai hemoglobin akan berikatan satu sama lain secara longgar membentuk molekul hemoglobin yang lengkap (Guyton dan Hall, 1997).



Gambar 02. Sintesa hemoglobin (Hoffbrand dan Pettit, 1996).

2.1.3. Tinjauan Umum Timbal (Pb)

Timbal atau timah hitam dalam bahasa ilmiahnya dinamakan plumbum dan disimbolkan dengan Pb. Logam ini termasuk dalam kelompok logam golongan IV A pada Tabel Periodik Unsur Kimia. Timbal mempunyai nomor atom 82 dan berat atom 207,2 (Palar, 1994).

Timbal dan persenyawaannya banyak digunakan dalam berbagai bidang industri. Pemanfaatan timbal antara lain untuk komponen baterai, aki, kabel listrik, pigmen / pewarna, pengkilap keramik, insektisida timbal, bahan peledak, bahan tahan api, bahan pelapis, bahan aditif pada bahan bakar kendaraan bermotor dan berbagai keperluan industri lainnya (Darmono, 1995; Palar, 1994; WHO, 1977).

2.1.3.1. Keracunan Timbal

Logam non esensial seperti timbal masih belum diketahui kegunaannya bagi makhluk hidup namun dalam jumlah yang relatif sedikit dapat menyebabkan keracunan (Darmono, 1995). Keracunan timbal terjadi karena timbal ataupun persenyawaannya masuk ke dalam tubuh. Proses masuknya timbal ke dalam tubuh dapat melalui beberapa jalur, di antaranya melalui makanan atau minuman, udara (pernafasan) serta perembesan (penetrasi) pada kulit (Palar, 1994).

Timbal yang masuk ke dalam tubuh akan diabsorpsi. Absorpsi timbal yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman berkisar antara 5 – 10 % sedangkan yang masuk melalui jalur pernafasan ataupun penetrasi pada kulit sekitar 30 % . Setelah diabsorpsi, timbal akan didistribusikan ke seluruh jaringan dan organ tubuh oleh darah. Logam ini akan terakumulasi di dalam darah, jaringan lunak (hati, ginjal, sumsum tulang dan sistem saraf) dan jaringan keras (tulang, gigi, rambut dan kuku). Lebih dari 90 % timbal yang ada di dalam darah berikatan dengan eritrosit. Sementara itu, hampir sekitar 90 – 95 % timbal yang ada di dalam tubuh terakumulasi di dalam tulang (Filov dkk., 1993). Ekskresi timbal dari tubuh utamanya melalui urine. Timbal juga diekskresikan melalui tinja (feses), keringat dan air susu ibu serta didepositkan di dalam rambut dan kuku (Darmono, 1995).

Keracunan timbal dapat terjadi secara akut atau kronis. Efek yang ditimbulkan dari keracunan timbal dapat bersifat letal atau sub letal. Efek letal keracunan timbal adalah kematian organisme yang terjadi karena organisme tersebut sudah tidak mampu lagi mentolerir jumlah timbal yang masuk ke dalam tubuhnya. Efek sub letal keracunan timbal meliputi terjadinya gangguan pada sistem hematopoietik, sistem saraf, sistem urinaria (ginjal), sistem kardiovaskuler, sistem respirasi, sistem reproduksi, saluran pencernaan dan organ endokrin. Selain itu, keracunan timbal juga mengakibatkan karsinogenesis, mutagenesis dan teratogenesis (WHO, 1977).

2.1.3.2. Toksisitas Timbal terhadap Eritrosit dan Sintesa Hemoglobin

Ochiai (1977) dalam Connell dan Miller (1995) membagi mekanisme toksisitas oleh logam ke dalam tiga kategori, yaitu memblokir gugus fungsi biologis yang esensial dalam biomolekul seperti protein dan enzim, mengganti ion – ion logam esensial dalam biomolekul dan mengubah konformasi aktif biomolekul. Timbal digolongkan dalam logam kelas B yang ion – ionnya cenderung untuk berikatan dengan gugus belerang (sulfur) atau nitrogen. Ion – ion logam kelas B mempunyai toksisitas yang besar karena :

- a. paling efektif berikatan dengan gugus sulfhidril ($-SH$) atau dengan struktur molekul yang memiliki gugus nitrogen, di mana keduanya merupakan gugus – gugus aktif dari enzim
- b. dapat menggantikan posisi dari ion – ion logam kelas antara seperti ion seng (Zn^{2+}) dari enzim logam (metalloenzim) yang mengakibatkan enzim menjadi tidak aktif

- c. bersama dengan beberapa ion – ion logam kelas antara dapat membentuk ion – ion logam organometalik yang larut dalam lemak sehingga mampu menembus membran biologis dan berakumulasi di dalam sel dan organela
- d. menunjukkan kemampuan oksidasi – reduksi di dalam metalloprotein yang dapat mengubah integritas fungsional dan struktural dari protein terkait.

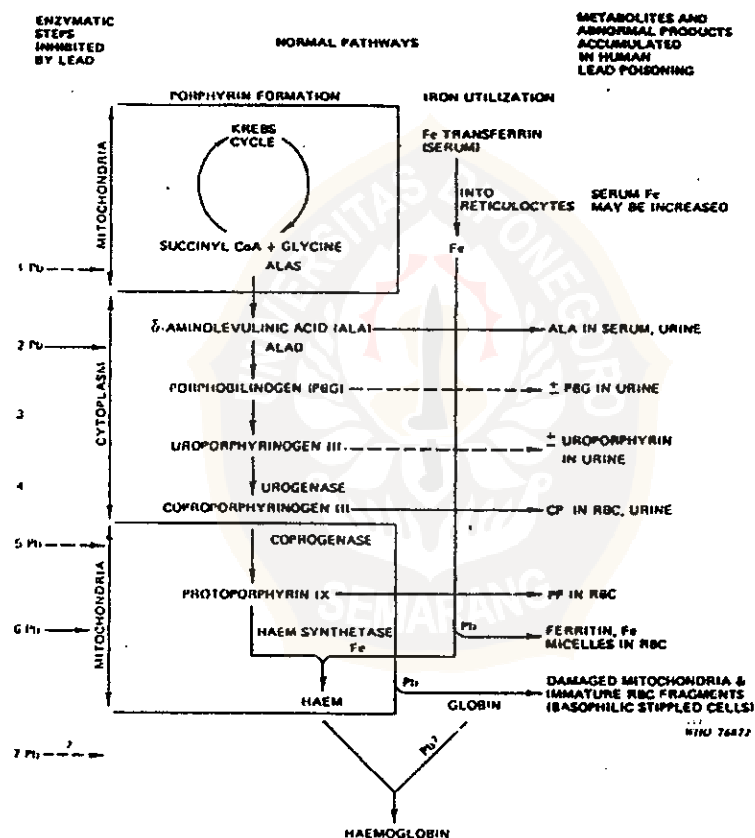
(Connell dan Miller, 1995; Palar, 1994)

Toksisitas timbal berpengaruh terhadap eritropoiesis. Eritropoiesis menjadi terhambat oleh adanya akumulasi timbal di dalam sumsum tulang. Di dalam sirkulasi darah, ditemukan adanya eritrosit yang imatur ataupun abnormal seperti eritroblast, eritroblast dengan mitokondria dan ribosom yang rusak serta granula siderotik atau eritrosit dengan bintik basofilik (Bryan dkk., 1995; Filov dkk., 1993).

Di dalam darah, timbal terakumulasi di dalam eritrosit. Akumulasi timbal di dalam eritrosit mengakibatkan kerapuhan (fragilitas) membran eritrosit. Timbal terakumulasi di dalam membran eritrosit, di mana timbal berikatan dengan protein membran (Bryan dkk., 1995). Timbal menghambat aktivitas enzim Na-K-ATP-ase pada membran eritrosit (WHO, 1977). Enzim Na-K-ATP-ase berperan dalam pompa ion yang fungsinya untuk menjaga keseimbangan konsentrasi ion Na^+ dan K^+ di luar dan di dalam eritrosit. Kerapuhan membran eritrosit yang disebabkan oleh perubahan struktur dan stabilitas membran mengakibatkan eritrosit menjadi mudah pecah dan pendek umurnya (Bryan dkk., 1995; WHO, 1977).

Timbal turut menghambat sintesa heme dan globin yang merupakan komponen penyusun hemoglobin. Sintesa heme melibatkan berbagai enzim, di mana dua di antaranya adalah enzim δ – ALAD (*Amino Levulinic Acid Dehidratase*) atau asam amino levulinat dehidratase dan enzim HS (*Haem Synthetase*) atau disebut

juga enzim ferrokkelatase. Kedua enzim ini merupakan enzim yang paling rentan terhadap toksisitas timbal (Lu, 1995). Timbal akan berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) yang merupakan gugus aktif dari enzim δ - ALAD dan enzim ferrokkelatase sehingga mengakibatkan terhambatnya aktivitas enzim. Timbal menghambat sintesa rantai polipeptida globin, yaitu rantai polipeptida globin α dan β dengan cara menghalangi proses penggabungan asam amino - asam amino penyusun globin di dalam poliribosom (Chang, 1996).



Gambar 03. Penghambatan sintesa hemoglobin oleh timbal (WHO, 1977)

2.2. Hipotesa

Keracunan timbal terjadi karena timbal ataupun persenyawaannya masuk ke dalam tubuh (Palar, 1994). Timbal yang masuk ke dalam tubuh akan diabsorpsi lalu didistribusikan ke seluruh jaringan dan organ tubuh oleh darah. Timbal terakumulasi di dalam darah, jaringan lunak (hati, ginjal, sumsum tulang dan sistem saraf) dan jaringan keras (tulang, gigi, rambut dan kuku) (Filov dkk., 1993).

Toksisitas timbal mempengaruhi eritropoiesis. Timbal terakumulasi di dalam darah terutama di dalam eritrosit. Timbal berikatan dengan protein membran serta menghambat aktivitas enzim Na-K-ATP-ase pada membran eritrosit. Hal ini mengakibatkan perubahan struktur dan stabilitas membran sehingga eritrosit menjadi rapuh dan mudah pecah (Bryan dkk., 1995; WHO, 1977). Timbal menghambat sintesa hemoglobin. Enzim δ - ALAD dan enzim ferrokkelatase yang berperan di dalam sintesa heme sangat rentan terhadap toksisitas timbal (Lu, 1995). Rantai polipeptida globin yang merupakan penyusun hemoglobin dihambat sintesanya oleh timbal (Chang, 1996).

Dari uraian tersebut diambil suatu hipotesa mengenai toksisitas timbal terhadap eritrosit dan sintesa hemoglobin. Toksisitas timbal akan mengakibatkan penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.