

Menentukan, melihat dan menguraikan kadar Pb dalam darah serta perubahan kadar penanda biologis (δ ALA plasma, Zn protoporphirin, protoporphirin eritrosit dan porfirin plasma) pada hambatan biosintesis heme sebagai efek predominan dari gangguan sistem hematopoetik akibat pajanan kronik cemaran Pb lingkungan pada anak umur 5 - 10 tahun.

2. Tujuan Khusus:

- a. Menentukan konsentrasi Pb terendah dalam darah atau nilai ambang Pb yang mulai menghambat biosintesis heme dan ditandai dengan peningkatan kadar δ ALA plasma, Zn protoporphirin dan protoporphirin eritrosit serta porfirin plasma.
- b. Menunjukkan δ ALA plasma, Zn protoporphirin dan protoporphirin eritrosit serta porfirin plasma pada hambatan biosintesis heme dapat digunakan sebagai penanda biologis secara awal pada pajanan Pb lingkungan.
- c. Menunjukkan δ ALA plasma sebagai penanda biologis yang kadarnya akan meningkat paling awal pada hambatan biosintesis heme, sehingga dapat digunakan sebagai penanda biologis paling awal pada pajanan Pb lingkungan.

tertentu dapat membantu dalam pelaksanaan *screening* dengan lebih baik, sehingga mempermudah pemecahan masalah yang ditimbulkan oleh pemajanan kronis Pb dalam jangka lama, utamanya dalam mengatasi efek lebih lanjut pada target organ.

2. Deteksi awal dengan menggunakan penanda biologis yang spesifik pada pemajanan kronis Pb dapat berguna dalam meningkatkan kualitas hidup anak untuk selanjutnya, sebab kerusakan organ lebih lanjut dapat dicegah.
3. Program-program kesehatan yang berkaitan dengan toksikologi lingkungan yang ditetapkan oleh para pemegang kebijakan dapat direncanakan dengan mengikutsertakan data yang diperoleh dari hasil penelitian.

E. Keterbatasan dalam penelitian

Beberapa keterbatasan yang ditemui dalam kajian ini yaitu:

- a. Secara keseluruhan analisis tidak dilakukan per lokasi penelitian namun secara kesatuan karena tidak ada daerah yang dapat dijadikan sebagai referens, semua sampel anak telah terintoksikasi Pb, baik sampel anak yang berasal dari daerah Sekaran Kecamatan Gunung Pati yang terletak di lokasi daerah pinggiran Kota Semarang, maupun Moro Demak Kecamatan Bonang Kabupaten Demak daerah wilayah pantai dengan cemaran Pb yang juga masih rendah (di bawah baku mutu lingkungan untuk Pb ambien) dan daerah Gebang Sari Kecamatan Genuk yang merupakan area terpolusi Pb tinggi di Kota Semarang.
- b. Temuan-temuan ini hanya memberikan gambaran untuk anak usia 5-10 tahun. Untuk anak dengan usia di bawahnya ada kemungkinan mengandung kadar Pb darah yang lebih tinggi karena kebiasaan serta faktor tingkah laku seperti merangkak, seringnya kontak antara tangan dengan mulut serta *pica* (memakan atau menelan bahan selain makanan).
- c. Kadar Pb lingkungan yang diukur hanya kadar Pb dalam udara dan air saja, sedangkan kadar Pb dari sumber pemajanan lainnya seperti kadar Pb dalam tanah dan debu rumah tidak diukur.

F. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum:

rata-rata Pb ambien 0,5-1,0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pertahun, nilai ambang untuk anak belum ditentukan. NHANES-II (*the second National Health and Nutrition Survey*) di Amerika Serikat mengusulkan nilai ambang terendah bagi anak adalah 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Landrigan dan Todd 1994), namun nilai inipun masih dirasakan belum memadai mengingat setiap atom Pb dapat menginduksi terjadinya gangguan pada sistem biokimia tubuh (Piomelli 1993). WHO (1995) juga menyarankan adanya penelitian lebih lanjut yang berkaitan dengan perubahan biokimia yang berasosiasi dengan konsentrasi Pb dalam darah. Dengan demikian nilai ambang konsentrasi Pb dalam darah akibat pajanan Pb lingkungan pada anak dengan segmen umur tertentu yang berkaitan dengan proses enzimatik seperti biosintesis heme masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Dari studi kepustakaan yang diperoleh belum ada kesepakatan mengenai penanda biologis yang paling baik dan paling sensitif untuk dapat digunakan sebagai penanda paling awal pada pajanan Pb kronis (Heinze, Gross, Stehle dan Dillon 1998; Froom Kristal–Boneh, Benbassat, Ashkanazi dan Ribak 1998; Sakai 2000; Lee, Stewart, Simon, Kelsey, Todd dan Schwartz 2001). Penelitian lebih lanjut untuk masing-masing penanda biologis masih diperlukan untuk membandingkan kepekaan masing-masing penanda biologis.

Berdasarkan hal tersebut timbul pemikiran lebih lanjut untuk menelaah penanda-penanda biologis pada hambatan biosintesis heme pada anak sehingga diperoleh penanda biologis yang paling sensitif untuk digunakan sebagai penanda awal pada pajanan Pb kronis. Dengan demikian akan diperoleh pula nilai ambang Pb darah pada anak.

D. Manfaat penelitian

Temuan-temuan yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat pada pengembangan keilmuan dan manfaat praktis di bidang kesehatan dan lingkungan:

1. Pengetahuan mengenai penanda biologis yang spesifik pada pemajanan kronis Pb, serta penetapan nilai ambang batas Pb dalam darah anak dengan segmen umur

Pb dalam darah anak tersebut juga belum menyinggung permasalahan nilai ambang batas Pb dalam darah anak serta penanda biologis untuk Pb.

Berdasarkan identifikasi di atas maka secara umum masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

Apakah keracunan awal Pb akibat pajanan kronik cemaran Pb lingkungan pada anak dengan segmen umur 5 - 10 tahun dapat menyebabkan gangguan sistem hematopoetik dengan efek predominan hambatan pada biosintesis heme yang ditandai dengan perubahan kadar penanda biologis δ ALA plasma, Zn protoporfirin, protoporfirin eritrosit dan porfirin plasma?

Dengan rumusan-rumusan khusus sebagai berikut:

1. Pada konsentrasi Pb terendah dalam darah berapakah, biosintesis heme pada anak yang ditandai dengan peningkatan kadar δ ALA dalam plasma, Zn protoporfirin dan protoporfirin dalam eritrosit serta porfirin dalam plasma mulai dihambat?
2. Apakah peningkatan kadar δ ALA dalam plasma, Zn protoporfirin dan protoporfirin dalam eritrosit serta porfirin dalam plasma pada hambatan biosintesis heme dapat digunakan sebagai penanda biologis secara awal pada pemajanan Pb lingkungan terhadap anak?
3. Di antara penanda-penanda tersebut, penanda biologis manakah yang kadarnya meningkat paling awal pada hambatan biosintesis heme sehingga dapat digunakan sebagai penanda biologis paling awal akibat pemajanan Pb lingkungan terhadap anak?

C. Orisinalitas

Anak yang tumbuh di daerah dengan cemaran lingkungan ambien Pb melebihi nilai baku mutu, akan terpapar secara kronis (Heinze, Gross, Stehle dan Dillon 1998). Dari studi kepustakaan, WHO (1995) telah menetapkan bahwa *Tolerable Weekly Intake* untuk Pb adalah 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB, nilai ini merujuk pada Pb yang berasal dari semua sumber pencemar dan berlaku untuk semua usia. Penentuan nilai tersebut berdasarkan pada perkiraan asupan harian (*daily intake*) sebesar 3-4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB pada bayi dan anak dan tidak berasosiasi dengan konsentrasi Pb dalam darah. Sedang untuk konsentrasi Pb dalam darah, WHO merekomendasikan kadar 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ untuk semua populasi dengan asumsi

demikian kuat terhadap gugus sulfhidril. Properti enzimatik dalam tubuh sangat kaya akan gugus sulfhidril sehingga sangat sensitif terhadap Pb meskipun dalam konsentrasi kelumit (US EPA 1977; Manahan 1992; Derelanko dan Hollinger 1995; Katzung 2004; Murray 2000, Kosnett 2004). Efek dominan atau efek pertama yang terjadi akibat afinitas Pb terhadap gugus sulfhidril, terjadi pada properti enzimatik yang berperan pada biosintesis heme, ditandai dengan peningkatan kadar prekursor-prekursor yang berkaitan dengan biosintesis tersebut seperti δ ALA, coproporfirin, Zn protoporfirin, protoporfirin dan porfirin (Manahan 1992; Derelanko dan Hollinger 1995; Katzung 1998; Murray 2000; Kosnett 2004).

Adanya peningkatan kadar prekursor-prekursor seperti δ ALA, coproporfirin, Zn protoporfirin, protoporfirin dan porfirin dalam biosintesis heme dapat digunakan sebagai penanda biologis pada pemajanan kronis Pb. Penanda biologis pada pemajanan kronis Pb sangat diperlukan, sebab penanda biologis tersebut dapat berfungsi sebagai isyarat atau tanda paling awal bahwa telah terjadi keracunan Pb dengan efek pada sistem biologis yang baru saja dimulai, sehingga efek lebih lanjut dapat segera dicegah. Dengan diketahuinya penanda biologis tersebut maka dapat diketahui pula konsentrasi terendah atau nilai ambang batas Pb dalam darah. Meskipun diketahui bahwa anak sangat suseptibel terhadap pajanan Pb namun sampai saat ini baik penanda biologis maupun nilai ambang batas Pb dalam darah anak masih diperdebatkan, belum diperoleh kesepakatan (From Kristal–Boneh, Benbassat, Ashkanazi dan Ribak 1998; Sakai 2000; Lee, Stewart, Simon, Kelsey, Todd, dan Schwartz 2001; Kim, Lee, Hwangbo, Anh dan Lee 2004).

Di Indonesia, seperti halnya negara-negara yang sedang berkembang lainnya kontribusi penelitian terhadap cemaran Pb pada anak masih kurang mendapat perhatian. Hanya terdapat beberapa penelitian Pb dalam darah anak saja yang telah dilakukan dan umumnya terkonsentrasi di Kota Jakarta. Sebagai contoh penelitian Albalak (2003) mengenai kadar logam berat Pb dalam darah anak di Jakarta dan hubungannya dengan kadar Hb darah, penyajian deskriptif mengenai kadar Pb darah dan kadar Zn protoporfirin oleh Heinze, Gross, Stehle dan Dillon (1998) yang juga dilakukan terhadap anak di Jakarta, serta penelitian polusi udara dan efek cemarannya terhadap simtom pernafasan anak di Jakarta oleh Budi Haryanto (2004). Terlihat bahwa penelitian-penelitian terhadap

atau majalah/koran berwarna, lebih banyak memajan pada anak karena umumnya mereka sangat senang untuk memasukkan benda-benda tersebut ke dalam mulutnya (Grammage dan Berven 1996; Tuormaa 2001; Kosnett 2004).

Pada penelitian Pb lingkungan yang dilakukan oleh Browne, A-Husni dan Risk (1999) ditemukan bahwa tingkat cemaran Pb udara tertinggi di Kota Semarang terdapat di Tambaklorok Kecamatan Semarang Utara, pada musim kemarau rata-rata $8,41 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dan di musim penghujan $10,85 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Temuan ini dipertegas dalam penelitian serupa yang dilaksanakan pada tahun 2001 oleh Agus-Hadiyanto, dalam laporannya disebutkan bahwa cemaran Pb udara tertinggi di Kota Semarang terdapat di sekitar Tambaklorok dan Kompleks industri Genuk yaitu daerah yang berdekatan dengan Tambaklorok. Konsentrasi tersebut telah melampaui nilai baku mutu lingkungan yang telah distandarkan secara nasional oleh pemerintah R.I. (PP R.I. Nomor 41 Tahun 1999 Tentang Pengendalian Pencemaran Udara). Dengan melihat tingginya cemaran Pb udara di Tambaklorok dan Genuk Kota Semarang, dapat diduga bahwa anak yang tinggal di daerah tersebut telah tercemari oleh Pb.

Mengingat latar belakang tersebut di atas maka perlu dilaksanakan penelitian mengenai penanda biologis yang paling sensitif untuk mengetahui adanya cemaran Pb dalam darah anak sebelum cemaran tersebut menimbulkan gangguan pada berbagai organ lainnya. Dengan diketahuinya penanda biologis ini akan diketahui pula konsentrasi Pb terendah yang dapat segera diketahui keberadaannya dalam darah anak.

B. Perumusan Masalah

Pemajanan kronik Pb dalam dosis kelumit dapat menyebabkan gangguan pada berbagai aktivitas enzim dan mempengaruhi berbagai sistem organ (Manahan 1992; Katzung 2004; Murray 2000; Kosnett 2004). Dari berbagai hasil penelitian diketahui bahwa terdapat hubungan logaritmik antara konsentrasi Pb dalam darah dengan gangguan sistem organ. Hal ini disebabkan karena sifat Pb yang lipofilik, dengan demikian Pb dapat menembus membran sel, berikatan dengan protein yang kemudian akan merubah struktur tertier dari protein tersebut dan menginaktifkan properti enzimatik sehingga mengganggu metabolisme selular (US EPA 1977; Manahan 1992; Kosnett 2004)

Selain sifat Pb yang lipofilik, sifat lain yang merugikan adalah afinitasnya yang

sebesar 30 µg/dl. Nilai tersebut menggambarkan pemajanan Pb anorganik di tempat kerja pada nilai ambang batas (NAB) 50 µg/dl. *The Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) mendefinisikan bahwa pada kadar Pb > 40 µg/dl dalam darah telah menunjukkan adanya pemajanan Pb dengan konsentrasi telah melebihi nilai ambang yang telah ditetapkan untuk udara di lingkungan kerja. Untuk lingkungan di luar tempat kerja kadar Pb dalam darah dewasa telah direkomendasikan oleh WHO (1995) sebesar 20 µg/dl dengan rata-rata kadar Pb ambien 0,5-1,0 µg/m³.

Berbagai penelitian terutama yang dilakukan di negara-negara maju mengenai logam berat Pb, telah menunjukkan bahwa anak lebih suseptibel terhadap efek pajanan logam berat tersebut (Katzung 2004). Namun kurangnya proteksi lingkungan terutama di negara-negara yang sedang berkembang, serta kurangnya perhatian terhadap potensi cemaran Pb, telah berdampak pada timbulnya perdebatan mengenai nilai ambang batas aman konsentrasi Pb dalam darah anak (Landrigan dan Todd 1994; Tuormaa 2001). Bahkan WHO pun (1995) belum menetapkan ambang yang aman untuk konsentrasi Pb dalam darah bagi anak. Studi yang dilakukan oleh NHANES-II (*the second National Health and Nutrition Survey*) dan *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) di Amerika Serikat merekomendasikan nilai ambang terendah bagi anak adalah 10 µg/dl dan telah disetujui oleh *National Academy of Sciences* di Amerika. Nilai ini masih diperdebatkan mengingat setiap atom Pb dapat menginduksi terjadinya gangguan pada sistem biokimia tubuh (Piomelli 1993; Landrigan dan Todd 1994; Tuormaa 2001).

Suseptabilitas anak terhadap Pb berkaitan erat dengan sumber-sumber cemaran Pb yang dapat berasal dari udara ambien, cemaran dalam rumah, air maupun makanan, namun cemaran utama Pb yang paling dominan berasal dari udara (Manahan 1992; Katzung 2004). Di udara karena sifat dari massanya, partikulat Pb selalu berada pada lapisan udara yang terendah, oleh sebab itu anak akan lebih banyak menghirup cemaran tersebut (Gramage dan Berven 1996). Terlebih lagi pada anak ventilasi pulmonari dan konsumsi oksigen per kg BB 1,6 sampai 2,7 kali lebih besar dibanding orang dewasa (Tuormaa 2001), sehingga absorpsi Pb pada anak diperkirakan 30% lebih tinggi bila dibandingkan dengan orang dewasa (Knelson dan Bridbord 1974). Sama seperti cemaran Pb udara, cemaran Pb yang berasal dari dalam rumah yang umumnya berbentuk kelupasan cat terutama pada rumah-rumah tua, mainan anak yang diwarnai dengan cat,

Meskipun pemerintah Indonesia telah menetapkan baku mutu lingkungan yang aman untuk kadar Pb udara yaitu maksimal sebesar $2\mu\text{g}/\text{Nm}^3$ per 24jam dan $1\mu\text{g}/\text{Nm}^3$ per tahun (PP R.I. Nomor 41 Tahun 1999 Tentang Pengendalian Pencemaran Udara), karena disadari adanya efek toksik dari Pb, namun penelitian yang mendalam mengenai efek kronis pajanan Pb baik terhadap anak maupun terhadap orang dewasa belum begitu diminati di Indonesia.

Dari penelusuran kepustakaan penelitian di Indonesia mengenai pajanan logam berat Pb terhadap manusia dan telah dipublikasikan umumnya baru sebatas pada kadar logam berat tersebut dalam darah, antara lain penelitian Albalak (2003) mengenai kadar logam berat Pb dalam darah anak di Jakarta dan hubungannya dengan kadar Hb darah. Albalak menemukan bahwa rerata kadar Pb darah anak Jakarta sebesar $8,6\mu\text{g}/\text{dl}$ dan sekitar 8,5% anak menderita anemi ringan, dalam penelitian tersebut diketahui bahwa anemi ringan yang diderita anak belum berhubungan dengan kadar Pb darah. Sedangkan efek terhadap sistem enzimatik berikut prekursornya baru dilaksanakan satu penelitian yaitu penyajian deskriptif mengenai kadar Pb darah dan kadar Zn protoporfirin yang juga dilakukan terhadap anak di Jakarta (Heinze, Gross, Stehle dan Dillon 1998). Ditemukan dalam penelitian tersebut bahwa 80% anak Jakarta mempunyai kadar Zn protoporfirin yang telah melebihi nilai ambang batas ($> 69 \mu\text{mol ZPP}/\text{mol heme}$), namun tidak ada analisis lebih lanjut mengenai sajian deskriptif tersebut. Penelitian polusi udara dan efek cemarannya terhadap simtom pernafasan anak telah pula dilakukan di Jakarta, hasil penelitian menunjukkan tidak ada beda antara anak yang tinggal di daerah dengan polusi tinggi dibanding anak yang tinggal di tempat dengan cemaran udara rendah (Budi Haryanto 2004). Penelitian mengenai pajanan Pb di lingkungan terbanyak dilakukan pada cemaran Pb dalam tanah, perairan dan Pb pada air permukaan. Untuk kandungan cemaran Pb di udara telah dilakukan beberapa penelitian, misalnya untuk Kota Semarang telah dilakukan oleh Browne, A-Husni, dan Risk pada tahun 1999 serta Agus-Hadiyanto pada tahun 2001. Untuk cemaran dalam tanah misalnya dilakukan oleh Asiah (2004), yang menyimpulkan bahwa kandungan Pb dalam tanah di daerah yang padat lalu lintas jauh lebih tinggi dibanding kadar Pb tanah di tempat yang jauh dari keramaian lalu lintas.

Nilai ambang batas Pb (*Threshold Limit Values-TLVs*) pada darah orang dewasa menurut *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH 2002)

tradisional yang mengandung Pb (Gupta, Sehgal, Mohan dan Anand 1990; Markowitz *et al* 1995; Kosnett 2004).

Pajanan Pb dalam dosis kelumit (*trace* atau dosis yang sangat rendah) yang berlangsung lama dapat menyebabkan akumulasi dalam tubuh dan dideposit dalam tulang, dengan efek lebih lanjut mengakibatkan gangguan terhadap berbagai sistem organ seperti sistem saraf, ginjal, sistem reproduksi, saluran cerna dan sistem hematopoiesis (Manahan 1992; Piomelli 1993; Derelanko dan Hollinger 1995; Katzung 2004; Kosnett 2004). Pajanan kronis Pb dalam dosis kelumit pada anak mungkin disertai atau tanpa disertai simtom yang jelas. Namun pajanan ini pada anak berkaitan erat dengan penurunan tingkat intelegensi, perilaku, sistem metabolik dan kemampuan belajar anak. Terdapat pula evidensi bahwa tumbuh kembang anak akan terganggu, demikian pula dengan tiroid dan fungsi adrenalin akan terhambat (Huseman, Varma dan Angle 1992).

Efek pertama pada keracunan Pb kronis sebelum mencapai target organ adalah adanya gangguan dalam biosintesis heme. Apabila tidak segera diatasi gangguan akan terus berlanjut dan mengenai target-target organ lainnya. Pada gangguan awal dari biosintesis heme belum terlihat adanya gejala klinis, gangguan hanya dapat terdeteksi melalui pemeriksaan laboratorium (Piomelli 1993), ditandai dengan peningkatan berbagai prekursor yang berkaitan dengan biosintesis tersebut seperti δ Asam Amino Levulinat (δ ALA), coproporfirin, Zn protoporfirin, protoporfirin dan porfirin. Dengan demikian pada keracunan Pb kronis adanya peningkatan prekursor-prekursor tersebut dapat digunakan sebagai penanda biologis awal atau *biologic marker* terhadap keracunan logam berat tersebut (Manahan 1992; Piomelli 1993; Katzung 2004; Murray 2000). Untuk hal ini WHO-pun (1995) merekomendasikan adanya penelitian lebih lanjut yang berkaitan dengan perubahan biokimia tubuh yang signifikan dan dapat digunakan sebagai penanda biologis. Penanda biologis, yaitu pengukuran spesifik yang menggambarkan adanya interaksi biologis dengan zat xenobiotik, banyak digunakan dalam analisis risiko di bidang kesehatan lingkungan, dan sangat berguna dalam evaluasi pemajanan serta dapat dijadikan alat untuk *screening* pada kasus keracunan zat toksik yang berasal dari lingkungan. Oleh sebab itu penentuan penanda biologis pada keracunan awal akibat pemajanan kronis Pb lingkungan sangat diperlukan.

due to environmental chronic exposure, and δ ALA was a biomarker that would firstly elevate, therefore, δ ALA was the most sensitive biomarker.

It was suggested that for the time being the threshold limit value of children blood lead at 3 ppb level as well as the use of δ ALA as a biomarker in chronic lead intoxication including its management should be implemented by the Department of Health of Republic of Indonesia. Mapping of the locations that had ambient lead concentrations above the required standard was also suggested.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Keracunan logam berat Pb yang berasal dari lingkungan ambien terhadap anak pada dekade terakhir telah merupakan risiko kesehatan lingkungan utama yang dihadapi, baik di negara-negara maju terlebih lagi di negara-negara yang sedang berkembang (Tuormaa 2001). Pb dapat masuk ke dalam tubuh melalui saluran nafas, saluran cerna, bahkan melalui kontak dermal (Manahan 1992; Derelanko dan Hollinger 1995; Katzung 2004; Plaa 2004). Dalam lingkungan, karena sifatnya yang persisten sehingga tidak mudah terdegradasi, Pb akan mengalami biomagnifikasi sesuai dengan rantai makanan, dan akhirnya melalui rantai makanan pula Pb dapat masuk melalui saluran cerna ke dalam tubuh manusia. Pb di lingkungan udara berbentuk partikulat-partikulat halus dalam ukuran $\leq 7 \mu\text{m}$, sehingga dengan mudah dapat terhirup melalui saluran nafas. Kontak dermal Pb pada manusia umumnya terjadi karena pemakaian kosmetik dan obat

much higher blood levels (91.7 ppb and 24.5 ppb). Children with ALAD² (1-2 or 2-2 isozymes) were more susceptible to lead, therefore, greatest concern should be implemented. Effect of ambient lead on blood lead level in this research could be affected by the factors of housing condition, education and family earning. The better the education, family earning and housing condition, the more the decreasing of blood lead level. This indicated by lower blood lead level mean of Gebang Sari children samples, even though the air lead concentration in the location was much higher compare to that of recommended standard, however, the housing condition, earning and education of the primary child's caregivers were categorized as good. On the other hands, the blood lead level mean of Moro Demak children samples was very much high, even though the air lead concentration in the location was much lower compare to that of recommended standard, in spite of this, the housing condition, earning and education of the primary child's caregivers were categorized as bad.

Research had also resulted the concentration of δ ALA plasma was 29.9667 ± 10.8349 $\mu\text{mol/l}$, Zn protoporphyrin RBC 73.4119 ± 11.0620 $\mu\text{mol ZPP/mol heme}$, protoporphyrin RBC 20.0498 ± 2.8032 $\mu\text{mol PP/mol heme}$, and total porphyrin plasma 8.8750 ± 2.2568 $\mu\text{mol/l}$. δ ALA plasma and Zn protoporphyrin RBC had elevated standard concentration, while protoporphyrin RBC and porphyrin plasma were still in the range of standard concentrations. The elevation concentrations of δ ALA and Zn protoporphyrin had indicated that heme biosynthesis disturbance was occurring. Further analyses suggested that δ ALA plasma and Zn protoporphyrin RBC could be used as biomarkers in the chronic intoxication caused by environmental lead exposure, while protoporphyrin and total porphyrin could not be used. These indicated by significantly positive correlation ($p < 0.01$) starting from blood lead concentration at ≥ 3 ppb, and significantly log regressions ($R > 0.5$) among δ ALA, Zn protoporphyrin and blood lead. Multivariate analysis resulted that δ ALA was the most significant biomarker, probit analysis also confirmed the result indicated by the lowest concentrations of blood lead to cause δ ALA and Zn protoporphyrin elevations were 3.18658 ppb and 3.35554 ppb respectively.

Research results were concluding that caution of chronic lead exposure should be started from blood lead concentration at approximately 3 ppb level, and δ ALA plasma as well as Zn protoporphyrin RBC could be used as biomarkers in the early lead intoxication

Hypothesis of the study were (a) the lowest concentration or threshold limit value of blood lead could be determined through the occurring of heme biosynthesis inhibition; (b) δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma in the inhibition of heme biosynthesis could be used as biomarkers in the early environmental lead intoxication; (c) δ ALA plasma was a biomarker that its concentration would firstly elevate in the early chronic exposure of environmental lead and could be used as the most sensitive biomarker.

The study involved 54 children with 5-10-year-old. Twenty three children were coming from Gebang Sari Genuk District Semarang City, 17 children were from Sekaran Gunung Pati District Semarang City, and 14 children were from Moro Demak Bonang District Demak Regency. Cross-sectional design was adopted in this research, blood lead as independent variable, as well as δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma as dependent variables were measured respectively. As a part of the blood lead testing, the pre condition factors such as ALAD genotype, blood iron levels, ambient lead (air and water lead levels), as well as housing condition, earning and education level of the child's primary caregiver were also analyzed. The collected data were analyzed using non parametric Wilcoxon sign rank test to determine the mean differences of lead among the locations. Correlation test among lead, δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma using Spearman-rho correlation was also determined. The examination was followed by Mann-Whitney test using Mann-Whitney U and Wilcoxon correlation coefficient, to determine the remaining significant correlation among dependent variables and the lowest lead concentration. Logarithmic regression test was also used to determined regression amongst variables. Tests were followed by multivariate and probit analyses to determine the lowest blood lead concentration and the biomarker that firstly elevated. Frequencies and cross tabulation of blood lead level and housing condition, earning and education data were also analyzed.

Research resulted the blood lead geometric mean of children was 13.0778 ± 12.3001 ppb, such value indicated that blood lead had elevated the standard concentration recommended by CDC i.e. 10 ppb. Age and blood iron status were not correlated with blood lead levels. There were 2 children with ALAD 1-2 heterozygot, along with the

exposures to lead, have important implications with respect to its regulation. Standard and health based guidelines limiting environmental exposures to lead have become more of the paramount important over the past decade and are now thought to protect against major adverse outcome. For the time being the CDC in the United States has established the threshold limit value of children blood lead level as 10 ppb. However, this value is still debatable since it is known that every single lead atom can induce disturbance in human biochemistry system. Therefore, a failure in the establishment of regulatory standards may result in the unacknowledged imposition of substantial health risk on some members of society such as children due to their susceptibility to lead. (Piomelli 1993; Landrigan dan Todd 1994; Grammage dan Berven 1996; Tuormaa 2001; Kosnett 2004).

Biological markers or biomarkers are the terminologies used widely and generating from “biological exposure index” terminology, can be used for the evaluation of lead exposure, and provide a tool for assessing persons exposure to lead. Biomarkers are general term for specific measurement reflecting an interaction between a biological system and an environmental agent (such as lead). Biomarkers are mainly referred to the measurements used in the diagnosis or risk assessment in the field of environmental health. A sub-clinical effect of lead can cause disturbances in the heme biosynthetic pathway, due to the interaction of lead with some enzymatic process responsible for heme synthesis. These interactions can be sensitively determined by the inhibition of ALAD and ferrochelatase enzymes, as well as the alteration of ALA synthase enzyme, which in turn can increase the concentrations of heme precursors such as δ ALA, Zn protoporphyrin, protoporphyrin, and total porphyrin. Such precursors can be assumed to be used as biomarkers in low level lead exposure (Manahan 1992; Piomelli 1993; Katzung 2004; Murray 2000).

Objectives of the study were (a) to determine the lowest concentration or threshold limit value of blood lead in the early lead intoxication, (b) to designate that δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma could be used as biomarkers in the early chronic exposure of environmental lead, and (c) to determine the first elevating biomarker concentration among δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma in the early chronic exposure of environmental lead.

lanjut menunjukkan bahwa secara signifikan kedua variabel tersebut dapat digunakan sebagai penanda biologis pada keracunan kronis Pb lingkungan, sedangkan protoporfirin dan total porfirin tidak dapat digunakan. Pernyataan tersebut ditunjukkan dengan adanya korelasi positif dan sangat signifikan ($p < 0,01$) dimulai dari konsentrasi $Pb \geq 3$ ppb, serta log regresi yang juga signifikan antara kadar Pb darah dengan δ ALA dan Zn protoporfirin ($R > 0,5$). Hasil analisis multivariat menunjukkan δ ALA sebagai penanda biologis yang paling signifikan, hasil lebih dikuatkan lagi oleh analisis probit yang menunjukkan bahwa kadar Pb darah terendah yang dapat menyebabkan elevasi δ ALA, dan Zn protoporfirin masing-masing 3,18658 ppb dan 3,35554 ppb.

Secara keseluruhan dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kewaspadaan terhadap pemajanan khronik Pb atau nilai ambang harus sudah dimulai pada kadar Pb darah sekitar 3 ppb, serta δ ALA dan Zn protoporfirin dapat digunakan sebagai penanda biologis pada keracunan awal akibat pemajanan Pb lingkungan, dan di antara keduanya δ ALA merupakan penanda biologis yang muncul paling awal sehingga merupakan penanda biologis yang paling sensitif.

Dengan demikian disarankan bahwa sudah saatnya Departemen Kesehatan RI menetapkan nilai ambang kadar Pb dalam darah anak sebesar 3 ppb serta perlunya pemakaian δ ALA sebagai penanda biologis pada keracunan kronis Pb lingkungan berikut langkah-langkah pengelolaannya. Disarankan pula adanya pemetaan bagi daerah-daerah dengan cemaran Pb ambien yang telah melebihi nilai baku mutu lingkungan.

Summary

Lead (Pb) is one of the xenobiotic agent that is foreign to the body, and can cause many adverse health effects, including toxicity of the nervous, hematopoetic, renal, endocrine, and skeletal systems, with the CNS as the primary target organ. Presently, impairment of cognitive and behavioral development in infant and young children is the toxic effect of greatest concern (Adhami *et al* 1996; Ruff *et al* 1996; Huseman *et al* 1992; Plaa 2004). Toxicity of lead occurs from low level exposures from various environmental sources including air, food and water. The health risk associated with low level

porfirin. Kemudian analisis multivariat antara Pb dengan δ ALA dan Zn protoporfirin, serta analisis probit untuk menentukan penanda biologis yang muncul paling awal serta kadar Pb terendah. Analisis multivariat berikut frekuensi dan tabulasi silang juga dilakukan terhadap kadar Pb darah dengan faktor kondisi rumah, pendapatan dan pendidikan orang tua atau wali anak.

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar Pb untuk seluruh sampel anak sebesar $13,0778 \pm 12,3001$ ppb. Nilai rerata ini menunjukkan telah melampaui nilai ambang untuk anak yang ditetapkan oleh CDC yaitu 10 ppb. Faktor umur dan Fe darah ternyata tidak berkorelasi dengan kadar Pb darah. Terdapat dua anak dengan heterozygot ALAD 1-2, dan keduanya mengandung kadar Pb darah yang tinggi yaitu 91,7 ppb dan 24,50 ppb. Anak dengan ALAD² (1-2 atau 2-2 isozym) lebih suseptibel terhadap Pb, dan hasil penelitian inipun menunjukkan hal tersebut, oleh sebab itu anak dengan ALAD² memerlukan perhatian lebih besar. Efek faktor Pb ambien udara terhadap kadar Pb darah ternyata dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor kondisi rumah, pendidikan dan pendapatan orang tua. Semakin baik pendidikan dan pendapatan serta kondisi rumah, kadar Pb darah akan menurun meskipun tinggal di lokasi dengan cemaran Pb ambien udara yang tinggi. Pernyataan ini ditunjukkan oleh rerata kadar Pb darah yang rendah pada sampel anak Gebang Sari yang mempunyai cemaran Pb udara sangat tinggi (jauh melampaui nilai baku mutu Pb udara ambien), namun kondisi rumah, pendidikan dan pendapatan orang tua atau wali sampel anak baik. Sebaliknya, rerata kadar Pb darah sangat tinggi terdapat pada sampel anak Moro Demak yang mempunyai cemaran Pb udara rendah (jauh di bawah baku mutu Pb udara ambien), namun kondisi rumah, pendidikan dan pendapatan orang tua atau wali sampel anak tergolong buruk.

Hasil penelitian juga telah menunjukkan bahwa kadar penanda biologis δ ALA plasma $29,9667 \pm 10,8349$ $\mu\text{mol/l}$, Zn protoporfirin eritrosit $73,4119 \pm 11,0620$ $\mu\text{mol ZPP/mol heme}$, protoporfirin eritrosit $20,0498 \pm 2,8032$ $\mu\text{mol PP/mol heme}$, dan total porfirin plasma $8,8750 \pm 2,2568$ $\mu\text{mol/l}$. Nilai kadar untuk δ ALA plasma dan Zn protoporfirin eritrosit telah melampaui nilai ambang batas, sedangkan protoporfirin eritrosit dan total porfirin plasma masih dalam batas normal. Angka tersebut menunjukkan telah terjadi efek subklinis berupa distorbansi biosintesis heme yang ditandai dengan elevasi kadar δ ALA plasma dan Zn protoporfirin eritrosit. Analisis lebih

porfirin yang dapat digunakan sebagai penanda biologis pada pemajanan kronis Pb. (Manahan 1992; Piomelli 1993; Katzung 2004; Murray 2000).

Penelitian ini ditujukan untuk (a) menentukan konsentrasi Pb terendah dalam darah atau nilai ambang Pb yang memberi gejala keracunan awal; (b) menunjukkan δ ALA plasma, Zn protoporfirin dan protoporfirin eritrosit serta porfirin plasma dapat digunakan sebagai penanda biologis secara awal pada pemajanan kronis Pb lingkungan; (c) menunjukkan penanda biologis yang muncul paling awal di antara penanda-penanda biologis di atas. Dengan hipotesa (a) konsentrasi terendah dari Pb dalam darah dapat ditentukan dengan adanya hambatan dalam biosintesis heme; (b) peningkatan kadar δ -ALA plasma, Zn protoporfirin dan protoporfirin eritrosit serta porfirin plasma pada hambatan biosintesis heme dapat digunakan sebagai penanda biologis pada keracunan awal Pb lingkungan; (c) δ ALA plasma adalah penanda biologis yang akan muncul paling awal, sehingga dapat digunakan sebagai penanda biologis yang paling sensitif.

Penelitian dilaksanakan dengan mengikut sertakan 54 anak, umur antara 5-10 tahun, 23 anak berasal dari Gebang Sari Kecamatan Genuk Kota Semarang, 17 anak berasal dari Sekaran Kecamatan Gunung Pati Kota Semarang, serta 13 anak berasal dari Moro Demak Kecamatan Bonang Kabupaten Demak. Penelitian dirancang secara *cross-sectional*, dengan mengukur kadar Pb darah sebagai variabel independen, serta δ ALA plasma, Zn protoporfirin eritrosit, protoporfirin eritrosit, dan total porfirin plasma sebagai variabel dependen. Sebagai bagian dalam pengukuran kadar Pb darah, faktor pendahulu (prakondisi) organobiologis seperti umur, ALAD genotipe dan kadar Fe, serta faktor pendahulu (prakondisi) non-organobiologis seperti kadar Pb ambien (udara dan air) dan kondisi rumah, pendidikan dan pendapatan orang tua atau wali sampel anak juga dianalisis. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan uji non-parametrik Wilcoxon *sign rank test*, untuk mengetahui perbedaan rerata kadar Pb darah antar lokasi penelitian. Uji korelasi non-parametrik dengan koefisien Spearman-rho dilakukan untuk mengetahui korelasi antara Pb darah dengan δ ALA, Zn protoporfirin, protoporfirin, dan total porfirin. Uji kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney menggunakan koefisien korelasi Mann-Whitney U dan Wilcoxon W untuk mengetahui korelasi yang masih signifikan pada kadar Pb terendah. Uji regresi logaritmik juga dilakukan terhadap log Pb dan Log δ ALA, Zn protoporfirin, protoporfirin, dan total

Ringkasan

Timbal (Pb) adalah zat xenobiotik yang asing bagi tubuh, dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan, seperti toksisitas yang terjadi pada saraf, hemopoetik, ginjal, endokrin dan sistem skeletal. Susunan saraf pusat merupakan target organ yang primer pada intoksikasi Pb. Terakhir diketahui pula bahwa Pb dapat menyebabkan gangguan perkembangan kognitif dan perilaku pada bayi (Adhami *et al* 1996; Ruff *et al* 1996; Huseman *et al* 1992; Plaa 2004). Toksisitas akan terjadi pada pemajanan Pb dosis rendah yang berasal dari sumber-sumber lingkungan seperti udara, makanan dan air. Risiko kesehatan yang berasosiasi dengan pemajanan Pb pada dosis rendah, telah mengimplikasikan pentingnya peraturan yang berkaitan dengan masalah Pb. Pada saat ini CDC di Amerika telah menetapkan nilai ambang Pb darah anak sebesar 10 ppb. Namun nilai ambang tersebut masih menimbulkan perdebatan karena diketahui bahwa setiap atom Pb dapat menginduksi terjadinya gangguan pada sistem biokimia tubuh. Apabila penetapan nilai ambang batas tidak tepat, utamanya kadar Pb dalam darah anak, secara tidak sengaja akan mengakibatkan risiko kesehatan karena anak sangat suseptibel terhadap Pb. (Piomelli 1993; Landrigan dan Todd 1994; Grammage dan Berven 1996; Tuormaa 2001; Kosnett 2004; Froom Kristal–Boneh, Benbassat, Ashkanazi dan Ribak 1998; Sakai 2000; Lee, Stewart, Simon, Kelsey, Todd, dan Schwartz 2001; Kim, Lee, Hwangbo, Anh dan Lee 2004)

Penanda biologis atau biomarker merupakan istilah yang banyak digunakan dan berasal dari terminologi *biological exposure index*, dapat digunakan untuk mengevaluasi pemajanan Pb serta dapat dijadikan alat untuk pemeriksaan pasien pada kasus keracunan Pb. Penanda biologis didefinisikan sebagai pengukuran spesifik yang merefleksikan adanya interaksi biologis dengan agen lingkungan seperti Pb. Penanda biologis hanya digunakan untuk analisis risiko di bidang kesehatan lingkungan. Pb dapat menyebabkan gangguan subklinik berupa disturbansi pada biosintesis heme, karena adanya interaksi antara Pb dengan enzim-enzim yang terlibat dalam biosintesis tersebut. Interaksi ini dapat ditentukan secara sensitif dengan mengukur hambatan yang terjadi pada enzim ALA dehidratase dan enzim ferokhelatase, serta peningkatan aktivitas enzim ALA sintase yang akan menyebabkan peningkatan kadar δ ALA, Zn protoporfirin, protoporfirin, dan total

Abstract

Background: low level dose lead chronic exposure can affect various organ systems and can disturb enzyme activities, such as heme biosynthesis. Such disturbance will elevate δ ALA, Zn protoporphyrin, protoporphyrin and porphyrin concentrations, therefore, blood lead threshold limit value of early environmental lead intoxication and its biomarkers have to be investigated.

Objectif of the study: (a) to determine the lowest concentration or threshold limit value of blood lead concentration in the early environmental lead intoxication; (b) to designate δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma could be used as biomarkers in the early environmental lead intoxication; (c) to determine a biomarker among δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin plasma that would firstly elevate in the early environmental lead chronic exposure.

Research method: the study involved 54 children with 5-10-year-old, coming from Gebang Sari, Sekaran and Moro Demak. Cross-sectional design was adopted in this research, independent variable was blood lead, dependent variables were δ ALA plasma, Zn protoporphyrin RBC, protoporphyrin RBC, and total porphyrin. Non-parametric correlation tests were used to determine significant correlation among dependent variables and the lowest lead concentration. Logarithmic and multivariate tests were also used to determined significant regression amongst variables. Probit analysis was used to determine the lowest blood lead concentration, and the biomarker that would firstly elevate.

Results: there were significantly positive correlation ($p < 0.01$) and significantly log regressions ($R > 0.5$) among δ ALA, Zn protoporphyrin and blood lead starting from blood lead concentrations at 3 ppb level. Probit analyses resulted that the lowest concentrations of blood lead to cause δ ALA and Zn protoporphyrin elevations were 3.18658 ppb and 3.35554 ppb respectively. δ ALA plasma and Zn protoporphyrin RBC could be used as biomarkers in the chronic intoxication caused by environmental lead exposure, while protoporphyrin and total porphyrin could not be used.

Conclusions: caution of chronic lead exposure should be started from blood lead concentration at approximately 3 ppb level, and δ ALA plasma as well as Zn protoporphyrin RBC could be used as biomarkers in the early lead intoxication due to environmental chronic exposure, and δ ALA was a biomarker that would firstly elevate, therefore, δ ALA was the most sensitive biomarker.

Suggestion: it was suggested that for the time being the threshold limit value of children blood lead at 3 ppb level as well as the use of δ ALA as a biomarker in chronic lead intoxication including its management should be implemented by the Department of Health of Republic of Indonesia, mapping of the locations that had ambient lead concentrations above the required standard was also suggested.

Keywords: lead intoxication, whole blood lead safe concentration, heme biosynthesis, biomarker, δ ALA, Zn protoporphyrin, protoporphyrin, porphyrin,.

Abstrak

Latar belakang: pemajanan kronik Pb dalam dosis rendah dapat menyebabkan gangguan pada berbagai aktivitas enzim dan mempengaruhi berbagai sistem organ, antara lain biosintesis heme. Gangguan akan menyebabkan terjadinya elevasi kadar δ ALA, Zn protoporfirin, protoporfirin dan porfirin, sehingga perlu diketahui nilai ambang Pb dalam darah untuk gejala keracunan awal serta penanda biologisnya.

Tujuan penelitian: (a) menentukan konsentrasi Pb terendah dalam darah yang memberi gejala keracunan awal; (b) menunjukkan δ ALA plasma, Zn protoporfirin dan protoporfirin eritrosit serta porfirin plasma sebagai penanda biologis secara awal pada pemajanan kronis Pb lingkungan; (c) menunjukkan penanda biologis yang muncul paling awal di antara penanda-penanda biologis di atas.

Metoda penelitian: penelitian dirancang secara *cross-sectional*, jumlah sampel 54 anak, umur antara 5-10 tahun, berasal dari Gebang Sari, Sekaran, dan Moro Demak. Variabel independen adalah kadar Pb darah dan variabel tergantung kadar δ ALA plasma, Zn protoporfirin eritrosit, protoporfirin eritrosit, dan total porfirin plasma. Data dianalisis secara non-parametrik dengan menggunakan uji korelasi untuk mengetahui signifikansi korelasi antar variabel tergantung dengan kadar Pb terendah, uji regresi dan multivariat dilakukan untuk mengetahui signifikansi hubungan antar variabel. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui kadar Pb terendah dan untuk menentukan penanda biologis yang muncul paling awal.

Hasil penelitian: terdapat korelasi positif dan sangat signifikan ($p < 0,01$), serta log regresi yang signifikan antara kadar Pb darah dengan δ ALA dan Zn protoporfirin ($R > 0,5$) dimulai dari kadar Pb darah 3 ppb. Analisis probit menunjukkan kadar Pb darah terendah yang dapat menyebabkan elevasi kadar δ ALA, dan Zn protoporfirin masing-masing 3,18658 ppb dan 3,35554 ppb. δ ALA plasma dan Zn protoporfirin dapat digunakan sebagai penanda biologis pada awal keracunan kronis Pb lingkungan, sedangkan protoporfirin dan total porfirin tidak dapat digunakan.

Kesimpulan: kewaspadaan terhadap pemajanan kronis Pb harus sudah dimulai pada kadar Pb darah sekitar 3 ppb, δ ALA dan Zn protoporfirin dapat digunakan sebagai penanda biologis pada keracunan awal akibat pemajanan Pb lingkungan, dan di antara keduanya δ ALA merupakan penanda biologis yang muncul paling awal sehingga merupakan penanda biologis yang paling sensitif.

Saran: sudah saatnya Departemen Kesehatan RI untuk menetapkan nilai ambang Pb darah anak sebesar 3 ppb dan menggunakan δ ALA sebagai penanda biologis, berikut cara pengelolaannya pada keracunan awal Pb lingkungan, serta pemetaan daerah-daerah dengan cemaran Pb ambien yang telah melebihi baku mutu lingkungan.

Kata kunci: intoksikasi Pb, kadar Pb darah yang aman, biosintesis heme, penanda biologis, δ ALA, Zn protoporfirin, protoporfirin, porfirin.

**KAJIAN PEMAJANAN KRONIK Pb LINGKUNGAN TERHADAP
BIOSINTESIS HEME DENGAN PENANDA BIOLOGIS δ ALA, Zn
PROTOPORFIRIN, PROTOPORFIRIN DAN PORFIRIN PADA
ANAK**

Studi Kasus di Kota Semarang dan Kabupaten Demak

Disertasi

Untuk memperoleh gelar Doktor

Dalam Ilmu Kedokteran

Dipertahankan di hadapan

Rapat Senat Universitas Diponegoro

Pada tanggal 10 Juli 2007 jam 13.00 W.I.B

Oleh

Henna Rya Sunoko Abdurachim