

PENGARUH TIMBAL ASETAT TERHADAP AKTIVITAS ENZIM KATALASE HATI TIKUS PUTIH JANTAN

Asterina, Endrinaldi

Bagian kimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
email : endrinaldi29@yahoo.co.id

Abstrak

Timbal (Pb) dapat ditemukan di berbagai media lingkungan seperti udara, air, debu dan tanah. Logam Pb atau bentuk persenyawaannya berasal dari pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor, emisi industri dan dari penggunaan cat bangunan yang mengandung Pb. Toksisitas Pb menghambat sebahagian besar enzim yang terlibat dalam biosintesis heme dan merusak sel hati

Tujuan studi ini adalah untuk melihat pengaruh timbal (Pb) terhadap aktivitas enzim katalase hati tikus putih jantan. Desain penelitian ini adalah eksperimental menggunakan 25 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol, dan kelompok perlakuan dengan pemberian Pb asetat dengan dosis konsentrasi 5 mg, 10 mg, 20 mg, dan 40 mg/kg BB selama 26 hari.

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan rerata aktivitas katalase hati dan serum secara bermakna ($p < 0,05$), setelah pemberian Pb asetat selama 26 hari. Penurunan aktivitas katalase hati dan serum tikus secara bermakna ($p < 0,05$) terjadi antara kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi dosis 40 mg/kg BB.

Kesimpulan yang dapat diambil dari studi ini ialah bahwa pemberian Pb asetat dapat menurunkan aktivitas katalase hati dan juga mempengaruhi aktivitas katalase serum tikus.

Kata kunci : Pb asetat, katalase

Abstract

Lead (Pb) can be found in various environmental media such as air, water, dust and dirt. Pb in the form of compounds derived from burning motor vehicle fuel, industrial emissions and from the use of paints containing Pb buildings. Pb toxicity partly inhibit the enzymes involved in the biosynthesis of heme and damage the liver cells.

The purpose of this study was to observe the effect of lead (Pb) on the enzyme activity of rat liver catalase white male. Experimental research design was used 25 white male rats were divided into five groups, namely the control group and the

group treated with the administration of Pb acetate at a dose concentration of 5 mg, 10 mg, 20 mg, and 40 mg / kg body weight for 26 days.

The results showed an average decrease in liver catalase activity, after administration of Pb acetate for 26 days were significantly ($p < 0.05$). Decrease in catalase activity of rat liver and serum were significantly ($p < 0.05$) occurred between the control group compared with the group of mice given a dose of 40 mg / kg.

The conclusion from this study is that the administration of Pb acetate can decrease the liver catalase activity and also affects the activity of serum catalase mice.

Key word : Pb Acetate, Catalase

PENDAHULUAN

Timbal (Pb) dapat ditemukan di berbagai media lingkungan seperti udara, air, debu dan tanah. Logam Pb atau bentuk persenyawaannya berasal dari pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor, emisi industri dan dari penggunaan cat bangunan yang mengandung Pb. Timbal (Pb) di alam terdapat dalam dua bentuk yaitu gas dan partikel. Pb yang terbanyak di udara adalah Pb organik dan terutama berasal dari pembakaran *tetra ethyl lead* (TEL) dan *tetra methyl lead* (TEMEL) yang terdapat dalam bahan bakar kendaraan bermotor. Selain sumber-sumber di atas, logam berat ini juga terdapat pada gelas berwarna, keramik, pipa, pelapis kaleng tempat makanan, beberapa obat tradisional dan kosmetik.⁽¹⁾ Pakar lingkungan sependapat bahwa Pb merupakan kontaminan terbesar dari seluruh debu logam di udara.⁽²⁾

Pencemaran timbal (Pb) di lingkungan merupakan hasil pembakaran Pb-alkil sebagai zat adiktif pada bahan bakar kendaraan bermotor merupakan bagian terbesar dari seluruh emisi Pb ke atmosfer berdasarkan estimasi sekitar 80%–90% Pb di udara ambien berasal dari pembakaran bensin. Kandungan Pb tidak sama antara satu tempat dengan tempat lainnya karena tergantung pada kepadatan kendaraan bermotor dan efisiensi upaya untuk mereduksi kandungan Pb pada bensin.⁽³⁾

Tetra ethyl lead (TEL) yang banyak pada bahan bakar terutama bensin, diketahui bisa menjadi racun yang merusak sistem pernapasan, sistem saraf, serta meracuni darah. Dari catatan Bank Dunia, terlihat bahwa dampak pencemaran udara oleh timbal di Indonesia telah menimbulkan 350 kasus penyakit jantung, 62.000 kasus tekanan darah

tinggi, serta angka kematian 340 orang per tahunnya.⁽⁴⁾

Pb yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh sebanyak 95%, Pb dalam darah diikat oleh eritrosit. Sebagian Pb plasma dalam bentuk yang dapat berdifusi dan diperkirakan dalam keseimbangan dengan pool Pb tubuh lainnya yang dibagi menjadi dua yaitu ke jaringan lunak (hati, ginjal, sumsum tulang, sistem saraf) dan ke jaringan keras (tulang, gigi, kuku, rambut).⁽⁴⁾

Efek hematoksisitas Pb adalah menghambat sebahagian besar enzim yang terlibat dalam biosintesis heme. Diantara enzim yang terlibat dalam biosintesis heme yang dihambat Pb adalah enzim δ -ALAD dan fero-kelatase.⁽⁵⁾

Penelitian tentang efek Pb terhadap aktivitas enzim δ -ALAD terhadap hewan percobaan telah banyak dilakukan. Pemberian Pb selama 14 hari pada tikus menyebabkan penurunan aktivitas enzim δ -ALAD secara signifikan dibandingkan dengan kontrol.⁽⁶⁾

Inhibisi aktivitas enzim δ -ALAD dan ferokelatase oleh Pb menyebabkan penurunan biosintesis heme. Heme yang disamping berperan untuk biosintesis hemoglobin, juga berperanan penting untuk biosintesis enzim katalase yang dibutuhkan untuk menguraikan H_2O_2 (*ROS, Reactive Oxygen Species*) yang bersifat oksidan di dalam tubuh.⁽⁷⁾

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh Timbal (Pb) terhadap Aktivitas Enzim Katalase hati dan darah (serum) pada tikus. Pada penelitian ini diukur aktivitas enzim katalase hati dan serum tikus yang diberi Timbal (Pb) dan yang tidak diberi Timbal (kontrol).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih jantan yang dibagi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok 5 ekor tikus. Kelompok tersebut antara lain K = kelompok kontrol (tikus tanpa diberi timbal), P1 = kelompok tikus yang diberi Pb asetat dengan dosis 5 mg/kg BB, P2 = kelompok tikus yang diberi Pb asetat dengan dosis 10 mg/kg BB, P3 = kelompok tikus yang diberi Pb asetat dengan dosis 20 mg/kg BB, dan P4 = kelompok tikus yang diberi Pb asetat dengan dosis 40 mg/kg BB. Setelah 4 minggu, perlakuan dihentikan. Satu hari setelah perlakuan dihentikan, dibunuh secara dislokasi leher, kemudian dilakukan pengambilan darah dan hati yang dipersiapkan untuk pengukuran aktivitas enzim katalase hati dan serum.

Hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan antara 200 – 250 gram.

Perlakuan hewan coba

Tikus yang digunakan untuk penelitian ini sebanyak 5 ekor, tikus ini diaklimatisasi dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dengan diberi makanan dan minuman yang cukup.

Perlakuan diberikan sesuai dengan kelompoknya. Sebelum perlakuan, lebih dulu dilakukan penimbangan berat badan tikus. Bahan uji diberikan secara oral dengan menggunakan sonde yaitu alat suntik dengan jarum yang ujungnya ditumpulkan. Sonde dimasukkan dengan hati-hati, kira-kira mencapai lambung. Pb asetat diberikan setiap hari selama 26

hari. Selama perlakuan tikus diberi makanan standar dan air minum *ad libitum*.

Penetapan Kadar Enzim Katalase

- a. Persiapan sampel
Satu gram hati tikus dicuci dengan NaCl 0,9% dingin, hati tikus dihomogenasi dan tambahkan 1 ml Triton X-100 1% dan NaCl 0,9% sampai 10 ml, setrifus. Supernatan diambil 1 ml untuk uji aktivitas katalase
- b. Uji aktivitas
 1. Masukkan 800 mikromol (0,0008 mol) H_2O_2 ke dalam tabung. Ini sama dengan 4 ml larutan H_2O_2 0,2 M.
 2. Tambahkan 5 ml buffer Phospat.
 3. Tambahkan 1 ml homogenat dan inkubasi satu menit.
 4. Ambil 1 ml dari hasil reaksi ini, dan tambahkan ke dalam 2 ml dichromate/asetat glacial. Dengan tabung yang berbeda ulangi prosedur ini dengan interval 60 detik.
 5. Panaskan tabung selama 10 menit pada air mendidih untuk menghilangkan presipitat biru dan menghasilkan larutan hijau.
 6. Ukur absorban pada panjang gelombang 570 nm.
 7. Gunakan kurva standar untuk menentukan berapa banyak H_2O_2 yang tersisa di dalam serum saat reaksi dihentikan oleh asam asetat.
 8. Setelah didapatkan jumlah H_2O_2 (mikromol) yang tersisa, maka untuk mendapatkan berapa banyak H_2O_2 yang telah dihan-curkan oleh katalase adalah: H_2O_2

yang direaksikan (800 mikromol)-
H₂O₂ yang tersisa.

9. Aktivitas katalase (unit/mg) =

$\frac{{}_2\text{O}_2 \text{ yang dihancurkan katalase/menit}}$

$\frac{\text{Kadar Protein serum (mg/ml)}}{\text{Kadar Protein serum (mg/ml)}}$

5. Absorban yang didapat dimasukkan ke dalam rumus :

$$\text{Kadar protein sampel (mg/ml)} = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standar}} \times \text{Kadar protein standar (mg/ml)}$$

Analisis Statistik

Data diolah dengan menggunakan Anova satu jalan dengan derajat kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan bermakna antara kelima kelompok perlakuan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan Post Hoc Test.

Hasil

Hasil yang diperoleh pada pengujian aktivitas katalase hati dan serum adalah sebagai berikut :

Penentuan Kadar Protein

1. Masukkan 0,005 ml serum ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 3 ml larutan Kingsley dan homogenkan dengan perlahan dan dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit.
3. Setelah 15 menit, baca absorbannya pada panjang gelombang 536 nm.
4. Lakukan juga prosedur ini pada serum standar yang telah diketahui kadar proteinnya sebagai perbandingan.

Tabel 1. Rerata aktivitas katalase hati (unit/mg) tikus pada ke lima kelompok

| Kelompok (N=5) | Rerata | SD | P |
|-------------------|--------|-------|-------|
| K | 58,658 | 8,880 | 0,004 |
| P1 | 58,584 | 6,360 | |
| P2 | 55,542 | 2,753 | |
| P3 | 54,846 | 2,374 | |
| P4 | 42,162 | 8,905 | |

Tabel 1 memperlihatkan adanya penurunan rerata aktivitas katalase hati pada kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Anova pada ke lima kelompok tikus menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok tikus (K, P1, P2, P3 dan P4).

Tabel 2. Tingkat Kemaknaan Hasil Uji Tukey HSD terhadap Aktivitas Katalase Hati Tikus

| Kelompok | Kelompok | Perbedaan rata-rata | P |
|----------|----------|---------------------|-------|
| K | P1 | 0,07400 | 1,000 |
| | P2 | 3,11600 | 0,940 |
| | P3 | 3,81200 | 0,883 |
| | P4 | 16,49600* | 0,006 |
| P1 | P2 | 3,04200 | 0,945 |
| | P3 | 3,73800 | 0,890 |
| | P4 | 16,42200* | 0,006 |
| P2 | P3 | 0,69600 | 1,000 |
| | P4 | 13,38000* | 0,029 |
| P3 | P4 | 12,68400* | 0,042 |

*. terdapat perbedaan bermakna pada $p < 0,05$

Tabel 2 menunjukkan penurunan rerata aktivitas katalase hati tikus secara bermakna antara kelompok K (kontrol) dengan kelompok P4, kelompok P1 dengan kelompok P4, kelompok P2 dengan kelompok P4, kelompok P3 dengan kelompok P4.

Tabel 3. Rerata aktivitas katalase serum (unit/mg) tikus pada ke lima kelompok

| Kelompok (N=5) | Rerata | SD | P |
|----------------|--------|-------|-------|
| K | 9,792 | 0,477 | 0,003 |
| P1 | 9,946 | 0,173 | |
| P2 | 9,956 | 0,198 | |
| P3 | 9,668 | 0,357 | |
| P4 | 9,134 | 0,272 | |

Tabel 3 memperlihatkan adanya perbedaan rerata aktivitas katalase serum tikus pada kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Anova pada ke lima kelompok tikus menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok tikus (K, P1, P2, P3 dan P4).

Tabel 4. Tingkat Kemaknaan Hasil Uji Tukey HSD terhadap Aktivitas Katalase Serum Tikus

| Kelompok | Kelompok | Perbedaan rata-rata | p |
|----------|----------|---------------------|-------|
| K | P1 | -0,15400 | 0,936 |
| | P2 | -0,16400 | 0,921 |
| | P3 | 0,12400 | 0,970 |
| | P4 | 0,65800* | 0,026 |
| P1 | P2 | 0,01000 | 1,000 |
| | P3 | 0,27800 | 0,639 |
| | P4 | 0,81200* | 0,005 |
| P2 | P3 | 0,28800 | 0,609 |
| | P4 | 0,82200* | 0,004 |
| P3 | P4 | 0,53400 | 0,094 |

*. terdapat perbedaan bermakna pada $p < 0,05$ kelompok P4 dan kelompok P2 dengan kelompok P4

Tabel 4 menunjukkan perbedaan aktivitas katalase serum tikus secara bermakna antara kelompok K (kontrol) dengan kelompok P4, kelompok P1 dengan

Pembahasan

Penelitian yang dilakukan terhadap 25 ekor tikus putih jantan dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan yang

diberi Pb asetat konsentrasi 5 mg, 10 mg, 20 mg, dan 40 mg/kg BB selama 26 hari.

Berdasarkan tabel 1 terlihat bahwa rerata aktivitas katalase hati tikus kelompok kontrol lebih tinggi daripada kelompok perlakuan, dan menunjukkan juga bahwa aktivitas katalase hati menurun sejalan dengan peningkatan konsentrasi Pb yang diberikan dalam rentang tertentu. Terjadi penurunan aktivitas katalase hati ini disebabkan karena timbal (Pb) dapat menghambat biosintesis heme yang diperlukan untuk membentuk enzim katalase dengan cara menurunkan/menghambat aktivitas enzim δ -ALAD yang berperan dalam biosintesis heme tersebut.⁽⁵⁾ Berarti secara tidak langsung Pb dapat menghambat biosintesis enzim katalase.

Berdasarkan tabel 2 terlihat penurunan aktivitas katalase hati secara bermakna ($p < 0,05$) terjadi antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan yang diberi konsentrasi Pb asetat 40 mg/kg BB. Ini menunjukkan bahwa kelompok yang diberi konsentrasi 40 mg/kg BB berpengaruh terhadap penurunan aktivitas katalase hati. Sedangkan kelompok yang diberi Pb asetat konsentrasi 5 mg, 10 mg, dan 20 mg/kg BB berpengaruh terhadap penurunan aktivitas katalase hati secara tidak bermakna. Berarti pemberian Pb asetat konsentrasi 5 mg, 10 mg, dan 20 mg/kg BB merupakan konsentrasi yang belum efektif menghambat biosintesis katalase.

Berdasarkan analisis *Post Hoc Test* (tabel 4) menunjukkan bahwa rerata aktivitas katalase serum tikus memperlihatkan peningkatan aktivitas secara tidak bermakna pada pemberian Pb asetat konsentrasi rendah (5 mg dan 10 mg/kg BB) dan aktivitas katalase

menurun secara tidak bermakna pada pemberian konsentrasi 20 mg/kg BB dan menurun secara bermakna pada 40 mg/kg BB. Hal ini disebabkan karena Pb dapat menyebabkan kerusakan sel hati dan menghambat/menurunkan biosintesis katalase di hati. Meningkatnya jumlah enzim katalase di darah (serum) pada pemberian Pb asetat konsentarsi rendah (5 mg dan 10 mg/kg BB) disebabkan karena pada konsentrasi ini, Pb asetat telah dapat merusak sel hati,⁽⁸⁾ maka katalase di dalam sel akan berdifusi ke dalam darah, tetapi belum efektif menghambat biosintesis katalase, sehingga katalase meningkat jumlahnya di dalam darah. Sebaliknya jumlah enzim katalase akan menurun di darah (serum) pada pemberian Pb asetat dengan konsentrasi 20 mg dan 40 mg/kg BB (tabel 4), hal ini disebabkan karena pada konsentrasi Pb asetat ini disamping menyebabkan terjadinya kerusakan sel yang hebat juga terjadi penghambatan biosintesis katalase di hati secara bermakna (tabel 1), sehingga jumlah katalase di darah (serum) menurun setelah pemberian Pb asetat konsentrasi 10 mg/kg BB.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang pengaruh timbal (Pb) terhadap aktivitas enzim katalase hati tikus putih jantan yang telah dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh pemberian Pb asetat terhadap penurunan aktivitas enzim katalase hati tikus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.
2. Tidak terdapat pengaruh penurunan secara bermakna aktivitas enzim

katalase hati pada pemberian Pb asetat antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi dosis 5 mg, 10 mg dan 20 mg per kg BB.

3. Terdapat pengaruh penurunan secara bermakna aktivitas katalase hati tikus pada pemberian Pb asetat antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi dosis 40 mg per kg BB.
4. Terdapat pengaruh pemberian Pb asetat terhadap aktivitas enzim katalase serum tikus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.
5. Terdapat pengaruh penurunan secara bermakna aktivitas katalase serum tikus pada pemberian Pb asetat antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi dosis 40 mg per kg BB.

Saran

Telah diketahui dengan baik bahwa hati memainkan peranan yang penting pada proses detoksifikasi dan ketika ada zat yang bersifat toksik yaitu timbal (Pb) yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim katalase. Untuk itu disarankan penelitian lanjutan mengenai studi tentang zat kimia (obat) yang dapat meredam pengaruh Pb terhadap penurunan aktivitas enzim katalase

KEPUSTAKAAN

1. Tong, S., Von-schimming, Y.E., Prapamontol, T. 2000. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. Bull WHO 78: 1068-77.
2. Winarno, F.G. 1993. Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen. Jakarta. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama.
3. Noery A. 2006. Perbandingan Kadar Pb, Hb, Fungsi Hati, Fungsi Ginjal pada Karyawan BBTCL dan PPM Surabaya Bagian Sampling dan Non Sampling. Jurnal Kesehatan Lingkungan. Vol. 2 No. 2. Januari 2006
4. Heryanto P. 1994. *Pencemaran Dan Toksikologi Logam Berat*. : 20-30.
5. Goldstein, B.D. & Kipen, H.M. 1994. Hematologic Disorders in Levy and Wagmen. *Occupational Health Recognizing and Preventing World-Related Diseases 3rd*.
6. Hasan, M.Z. and Seth, T.D. 1981. Effect of lead and Zinc Administration of Liver, Kidney and Brain Levels of Copper, Lead, Mangan and Zinc on Erythrocyte ALA-D Activity In Rats. *Toxicology*, 353-8.
7. Murray RK. 2003. Biokimia Harper. Alih bahasa, Hartono, A., Ed-25, Jakarta: EGC, hlm 270-82.
8. Sipos, P., Szentmihalyi, K., Feher, E., Abaza, M., Szilagyi, M., Blazovics, A. 2003. Some effects of lead contamination on liver and gallbladder bile. *Acta Biologica Szegediensis*. 47(1-4): 139-42.

