

VARIASI DOSIS SUPLEMENTASI ZN MEMPERBAIKI HEMATOPOESIS PADA TIKUS YANG TERPAJAN PLUMBUM (PB)

Budi Santosa

Analisis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan Unimus.

email: budisantosa.unimus@gmail.com

Abstract

Zinc supplementation increases metallothionein was binding of lead, so the impact exposed to lead that cause hematopoiesis inhibition and G-6PD deficiency at rats can be inhibited. Objective: Zn supplementation can repair hematopoiesis at rats exposed to lead. The research method was randomized post-test only control group design. Twenty eight rats are divided 4 groups: one control group, three treatment groups supplemented zinc 0.2; 0.4; 0.8 mg via sonde until 3 week. Control and treatment exposed Pb 0.5 g/kg/Weight/day until 13 week. End of week 13 examined Hb using Cyanmethemoglobin and erythrocytes count using hematology analyzer, and reticulocytes using BCB staining. Differences between groups of hemoglobin, erythrocytes, reticulocytes test used one way ANOVA and Bonferroni. Results showed levels of hemoglobin and erythrocytes increased count of treatment group to the control group, while the number of reitukosit decreased. Based on statistical test of differences between treatment groups with the control of the 2nd and 3rd ($p = 0.00$). Conclusion, zinc supplementation of 0.4 and 0.8 mg able to repair hematopoiesis in rats exposed to lead

Keywords: hematopoiesis, exposed to lead, supplementation Zn

1. PENDAHULUAN

Sumber utama keracunan Pb dapat berasal dari sayur-sayuran, baterai, cat, kosmetik, perhiasan, mainan anak-anak, gasolin, dan lain-lain. Beberapa kota besar seperti di Jakarta, Bandung, Semarang, Surabaya, Medan dan beberapa kota lain memiliki potensi cukup besar untuk terjadinya keracunan Pb.⁽¹⁾ Di Jawa Barat dan Jawa Tengah penggunaan pupuk fosfat, pestisida dan herbisida mengalami peningkatan yang berpotensi dapat meningkatkan pajanan Pb. Plumbum (Pb) merupakan salah satu bahan pencemar udara berbahaya yang dapat menimbulkan masalah kesehatan dan mengancam jiwa manusia. Risiko terbesar keracunan Pb terjadi pada anak-anak, wanita hamil dan pekerja Industri. Gangguan kesehatan yang dapat ditimbulkan antara lain gangguan hematopoiesis sampai terjadi anemia.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pajanan 0,5 g/kg/BB/oral/hari pada tikus selama 16 minggu terjadi gangguan

hematopoiesis⁽²⁾, kandungan Pb 20-40 µg/dl menjadi risiko anemia pada anak, anak-anak dengan kadar Pb ≥ 10 µl/dl memiliki risiko anemia 1,7 kali dibandingkan kadar Pb ≤ 10 µl/dl⁽³⁾, kadar Pb ≥ 7 µg/dl dapat menimbulkan hambatan aktivitas enzim untuk sintesis hemoglobin⁽⁴⁾. Pajanan Pb dapat menimbulkan gangguan hematopoiesis dan menurunkan enzim *glucose-6 phosphate dehidrogenase* (G-6PD).

Proses hematopoesis terganggu oleh karena Pb dapat menyebabkan hambatan enzim ALAD yang ada di awal sintesis heme, enzim *coproporphirinogen oksidase*, dan enzim ferrokkelatase yang ada di akhir biosintesis heme, gangguan ini dapat menyebabkan penurunan sintesis heme sebagai komponen hemoglobin sehingga menimbulkan anemia. Defisiensi enzim *glucose-6 phosphate dehidrogenase* (G-6PD) juga terjadi pada pajanan Pb yang menyebabkan umur eritrosit menjadi pendek dan gangguan pematangan eritrosit yang berakibat pada peningkatan proses

hematopoiesis. Peningkatan jumlah retikulosit terjadi sebagai akibat homeostasis tubuh yang disebabkan adanya proses hematopoiesis yang berlebihan. ^(5,6,7,8)

Upaya untuk menangani keracunan Pb, diantaranya melalui bahan pengkelat menggunakan EDTA. Fungsi bahan pengkelat adalah untuk mengikat Pb membentuk ikatan kompleks yang bersifat polar (hidrofilik) dan dikeluarkan dari tubuh melalui ginjal. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ni Made Suaniti, 2007, toksisitas Pb dapat diturunkan menggunakan EDTA dan tingkat keberhasilannya baru mencapai 4,91%⁽⁹⁾. Oleh karena itu perlu dipikirkan upaya preventif menggunakan bahan lain untuk mengurangi toksisitas Pb.

Protein *metallothionein* kaya akan gugus sulfidril yang dapat mengikat Pb dalam jaringan.⁽⁵⁾ Protein *metallothionein* dapat disintesis di hati maupun dinding saluran cerna melalui absorpsi seng dalam jumlah optimal.⁽¹⁰⁾ penelitian yang telah dilakukan oleh Santosa B, 2012 menunjukkan bahwa Suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg, dan 0,8 mg per hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan protein *metallothionein*.⁽¹¹⁾ Dosis-dosis tersebut adalah hasil konversi dari yang biasa diberikan kepada manusia yaitu 10 mg, 20 mg, dan 40 mg⁽¹¹⁾. Perlu diteliti upaya preventif yaitu suplementasi seng dalam menurunkan toksisitas Pb terhadap hematopoiesis. Dalam penelitian ini tidak lagi diteliti dampak Pb terhadap hematopoiesis yang berupa penurunan kadar Hb, jumlah eritrosit, dan peningkatan retikulosit melainkan bagaimana variasi dosis suplementasi seng dapat memperbaiki gangguan hematopoiesis yang ditandai dengan peningkatan kadar hemoglobin, jumlah eritrosit dan penurunan jumlah retikulosit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suplementasi seng terhadap hematopoiesis yang ditandai dengan peningkatan kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan jumlah retikulosit pada tikus *Rattus norvegicus* terpajan Pb.

2. KAJIAN LITERATUR

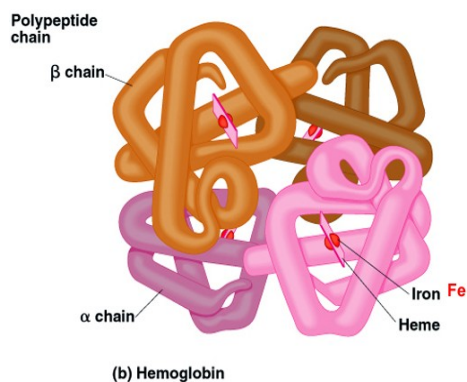
Suplementasi Zn sebagai preventif pengaruh Pb terhadap hematopoiesis

Suplementasi Zn pada berbagai dosis dapat meningkatkan kadar *metallothionein*. *Metallothionein* berfungsi sebagai protein pengikat logam. Logam berat termasuk Pb dalam jaringan berikatan dengan protein pengikat logam yaitu *metallothionein* pada gugus sulfidril dari protein tersebut.⁽¹²⁾ Hambatan biosintesis heme yang disebabkan oleh pajanan Pb dimungkinkan dapat dicegah dengan adanya *metallothionein*. *Metallothionein* dapat disintesis di hati maupun dinding saluran cerna melalui absorpsi seng dalam jumlah optimal.¹¹ Suplementasi seng yang diberikan sebanyak 50 mg/hari pada subyek laki-laki muda dapat meningkatkan protein *metallothionein* pada eritrosit dan monosit.⁽¹⁷⁾ *Metallothionein* yang terbentuk ini pada pajanan Pb yang akan terjadi dapat menghambat intoksikasi Pb terhadap biosintesis heme, sebab sebelum Pb berikatan dengan beberapa enzim pada proses biosintesis heme, akan berikatan terlebih dahulu dengan *metallothionein*. Ikatan Pb dengan *metallothionein* akan menyebabkan Zn terlepas dari *metallothionein*, karena afinitas Pb lebih tinggi dari pada Zn. Bila tidak di preventif terlebih dahulu dengan Zn maka yang akan terjadi adalah mekanisme intoksikasi Pb terhadap biosintesis heme, hal ini akan menghambat hematopoiesis yang berpengaruh pada kadar Hb, jumlah eritrosit, dan jumlah retikulosit.

Hemoglobin pada pajanan Pb

Hemoglobin terdiri dari molekul heme dan globin. Setiap molekul hemoglobin memiliki empat gugus heme identik yang melekat ke empat rantai globin. Sepasang rantai alfa tersusun di atas sepasang rantai non alfa (rantai beta pada hemoglobin dewasa). Molekul heme tersusun dari porfirin dan besi. Penggabungan besi dengan porfirin terjadi pada sintesis heme tahap akhir melalui bantuan enzim ferrokelatase.¹³ Enzim ini merupakan enzim tahap akhir pada proses biosintesis heme yang dapat dihambat oleh adanya Pb. Hambatan enzim ferrokelatase

menyebabkan kegagalan biosintesis heme sehingga menimbulkan gangguan penyusunan hemoglobin.¹⁴ Akibat gangguan penyusunan hemoglobin dapat menyebabkan penurunan Hb sebagai indikator anemia¹⁵ disamping asupan nutrisi lain yang berpengaruh terhadap nanemia¹⁵



Gambar 1. Hemoglobin (Sacher, 2000).⁽¹⁶⁾

Eritrosit pada pajanan Pb

Sel prekursor eritroid yang sudah *committed* merupakan asal dari sel eritrosit melalui proses pertumbuhan dan pematangan. Hormon eritropoietin yang dihasilkan oleh sel-sel interstisium peritubulus ginjal merangsang sel-sel progenitor *CFU-E* untuk mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan pematangan. Kadar eritropoietin dipengaruhi oleh penurunan penyaluran oksigen ke jaringan, anemia, dan gangguan hemoglobin. Semakin rendah oksigen di jaringan semakin meningkat kadar eritropoietinnya. Kapasitas eritropoietin untuk menghasilkan eritropoiesis bergantung pada kecukupan pasokan zat-zat gizi, mineral (besi, asam folat dan vitamin B12) ke sumsum tulang. Apabila sumsum tulang mampu berespons, produksi sel eritrosit meningkat.⁽¹⁶⁾

Eritropoietin mempercepat hampir semua tahap pembentukan sel eritrosit terutama *BFU-E* dan *CFU-E* untuk membelah diri dan berdiferensiasi ke arah produksi sel. Eritropoietin juga meningkatkan kecepatan pembelahan sel, mempercepat penggabungan besi ke dalam sel eritrosit yang sedang berkembang, mempersingkat waktu pematangan sel,

mempercepat masuknya sel eritrosit imatur (retikulosit) ke dalam sirkulasi yang dihitung sebagai hitung jumlah retikulosit. Dalam keadaan normal 10 sampai 15% sel eritrosit yang sedang berkembang mati di sumsum tulang yang disebut eritropoiesis inefektif, meningkat pada penyakit tertentu.⁽⁷⁾

Pb yang masuk ke dalam sirkulasi darah kira-kira 90% menuju ke eritrosit. Pada membran eritrosit terjadi senyawa atau reaksi kimia yang dapat menghasilkan spesies oksigen berpotensi toksik yang disebut pro-oksidan. Apabila jumlah pro-oksidan meningkat dapat menimbulkan stres oksidatif. Pb juga dapat menyebabkan defisiensi enzim *G-6PD* (*glucose-6 phosphat dehidrogenase*) dan menghambat enzim pirimidin-5'-nukleotidase yang dapat menimbulkan akumulasi *RNA* (*ribo nucleid acid*) serta ribosom eritrosit yang ditandai dengan adanya *basophilic stippling* pada eritrosit. Stres oksidatif akibat Pb dapat menimbulkan kerusakan membran dan memperpendek umur eritrosit, dan defisiensi *G-6PD* dapat menghambat pematangan eritrosit pada sumsum tulang.^(5,7)

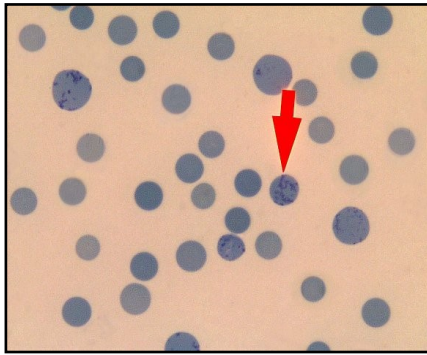


Gambar 2. Basophilic stippling (Sacher, 2000).⁽¹⁶⁾

Retikulosit pada pajanan Pb

Peningkatan jumlah retikulosit dapat disebabkan oleh jumlah eritrosit dalam sirkulasi mengalami penurunan. Penurunan jumlah eritrosit dapat disebabkan oleh umur eritrosit yang pendek akibat pajanan Pb yang dapat menimbulkan kerusakan membran. Sumsum tulang sebagai tempat eritropoiesis akan mengkompensasi penurunan jumlah eritrosit di sirkulasi melalui peningkatan

aktifitas eritropoiesis. Peningkatan aktifitas eritropoiesis menyebabkan eritrosit yang belum matang seperti retikulosit mengalami peningkatan di sirkulasi. Jumlah retikulosit dapat dihitung dengan pengecatan *brilliant creasyl blue* yang dapat mengecat sisa RNA dalam sitoplasma. Nilai normal retikulosit 0,4-2,5%.^(7,16)



Gambar 3. Retikulosit⁽¹⁶⁾

Berdasarkan kajian teori tersebut peneliti membuat hipotesis bahwa suplementasi seng dapat memperbaiki hambatan hematopoiesis yang ditunjukkan dengan kenaikan kadar Hb, jumlah eritrosit dan penurunan jumlah retikulosit.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan metode eksperimental, desain *Randomized post test only control-group design*. Hewan coba berupa tikus *rattus norvegicus* dipelihara dan diintervensi pada Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Waktu yang diperlukan semenjak masa seleksi sampai perlakuan berlangsung 13 minggu. Pengukuran parameter hematopoiesis yang berupa kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Analisis Kesehatan FIKKES UNIMUS.

Rumus penentuan jumlah sampel adalah : $BS = (t - 1) (r - 1) \geq 15$ "r" adalah Jumlah kelompok, "t" adalah Jumlah hewan coba tiap kelompok perlakuan. Penelitian terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, sehingga $t=4$, $(4-1)(r-1) \geq 15$ ---- $r \geq 6$. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 6 untuk masing-masing

kelompok (3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol) sehingga jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor. Sebagai cadangan jumlah tikus tiap-tiap kelompok ditambah 1 untuk mengantisipasi kemungkinan tikus ada yang mati, sehingga jumlah keseluruhan adalah 28 ekor. Jenis kelamin tikus dipilih jantan yang berusia 15 minggu.

Jumlah total tikus sebanyak 28 ekor kemudian dibagi dalam 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus yang dibagi secara acak. Mulai minggu pertama hingga minggu ke-3 kelompok perlakuan diberikan seng dengan dosis bertingkat sebesar 0,2 mg/hari (kelompok 1), 0,4mg/hari (kelompok 2), dan 0,8 mg/hari (kelompok 3) yang diberikan melalui sonde, sedangkan kelompok kontrol tidak diberikan seng. Minggu ke-4 sampai minggu ke 13 semua kelompok baik kontrol maupun perlakuan dipajan Pb dengan dosis 0,5 gr/kg/BB/hari.

Pada hari terakhir minggu ke-13 kelompok kontrol dan perlakuan diperiksa kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit. Kadar Hb dan jumlah eritrosit diukur menggunakan alat hematologi analyser dengan prinsip *cyanmethemoglobin* dan impedansi elektrik. Jumlah retikulosit diukur menggunakan pengecatan supravital *bryliant creasyl blue* (BCB) dan hasilnya dinyatakan dalam prosen (%) dengan nilai normal 0-1%. Spesimen yang digunakan adalah *whole blood* sebanyak 3 ml yang dicampur antikoagulan EDTA dalam vacutainer.

Untuk mengetahui hematopoiesis dilakukan dengan menguji perbedaan kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit antara kelompok kontrol dan perlakuan menggunakan *uji one way anova*, sedangkan untuk mengetahui perbedaan kelompok kontrol ndengan masing-masing perlakuan dilakukan uji *Bonferroni*.

Penelitian mendapatkan *ethical clearance* dari komisi etik FK UNDIP/RS DR. Kariadi Semarang No. 339/EC/FK/RSDK/2012. Hasil *ethical*

clearance diberitahukan ke kepala Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dan disetujui untuk pelaksanaan penelitian.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat Badan

Setelah mendapatkan pajanan Pb asetat berat badan pada kelompok kontrol

mengalami penurunan mulai minggu ke-3 hingga minggu ke-13, sementara pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan meskipun mendapatkan pajanan Pb asetat dalam jumlah yang sama. Gambaran berat badan awal, akhir minggu ke-3, dan akhir minggu ke-13 pada kelompok kontrol dan perlakuan diperlihatkan pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Rerata Berat Badan Kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit

Kelompok	Rerata Berat Badan		
	Awal(gram)	Pra perlakuan/ minggu ke-3 (gr)	Pasca perlakuan/minggu ke-13 (gr)
Kontrol(n=7)	183,3 ± 7,44	257,8 ± 8,29	253,1 ± 46,35
ZincI (n=7)	199,1 ± 11,85	269,9 ± 11,97	333,1 ± 54,73
ZincII (n=7)	181,6 ± 3,22	253,3 ± 13,9	329,9 ± 30,54
ZincIII (n=7)	182,1 ± 3,62	264,2 ± 13,5	361 ± 26,87

Perbaikan hematopoesis diketahui dengan melihat perbedaan rerata kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah

akhir akhir minggu ke-13. Berikut adalah gambaran rerata kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2, dan 3, tertera pada Tabel 2:

Tabel 2. Rerata kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit akhir minggu ke-13 berdasarkan kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	Perlakuan			
	Kontrol (n=7)	PI (n=7)	PII (n=7)	PIII (n=7)
Kadar Hb (gr%)	9,18 ± 0,88	10,63 ± 1,96	13,16 ± 1,13	14,05 ± 1,60
Jumlah eritrosit (juta/ μ l)	5,15 ± 0,70	6,04 ± 0,87	7,38 ± 0,44	7,66 ± 0,73
Jumlah retikulosit (%)	7,9 ± 1,5	7,9 ± 1,0	5,1 ± 1,2	1,6 ± 1,0

Rerata kadar Hb terendah pada kelompok kontrol (9,18 ± 0,88 g/dl), mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan pertama hingga ke-3, tertinggi pada kelompok ke-3 (14,05 ± 1,60 g/dl). Rerata jumlah eritrosit terendah pada kelompok kontrol dan berangsur-angsur mengalami kenaikan pada kelompok perlakuan ke-1, ke-2, dan ke-3, berturut-turut 5,15 ± 0,7; 06,04 ± 0,87; 7,38 ± 0,44; 7,66 ± 0,73 juta/ μ l. Berbeda dengan rerata jumlah retikulosit yang mengalami penurunan pada kelompok perlakuan, jumlah retikulosit tertinggi pada kelompok kontrol (7,9 ± 1,5 %) dan terendah pada kelompok perlakuan ke-4 (1,6 ± 1,0%).

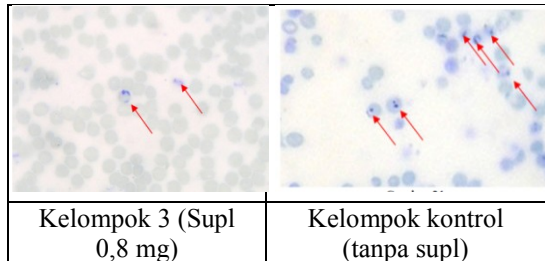
Berdasarkan uji ANOVA antara kelompok kontrol dan perlakuan pada kadar Hb, jumlah eritrosit, dan jumlah retikulosit didapatkan nilai *p value* 0,00 artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol yang tanpa suplementasi seng dengan kelompok perlakuan yang mendapatkan suplementasi seng bertingkat. Untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antara kelompok kontrol dengan ke-3 perlakuan telah dilakukan uji bonferoni pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Uji Bonferroni kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit akhir minggu ke-13 berdasarkan kelompok kontrol dan perlakuan

Parameter	Hb		Eritrosit		Retikulosit	
	Δ rerata	<i>p</i>	Δ rerata	<i>p</i>	Δ rerata	<i>p</i>
KC dan K1	1,4	0,60	0,89	0,24	0,5	1,00
KC dan K2	3,9	0,00	2,22	0,00	2,8	0,00
KC dan K3	4,8	0,00	2,51	0,00	6,3	0,00

Berdasarkan tabel 3, kadar Hb, jumlah eritrosit, dan jumlah retikulosit antara kelompok kontrol dengan perlakuan ke-1 yang hanya mendapatkan suplementasi seng 0,2 mg tidak terdapat perbedaan bermakna, berturut-turut *p value* 0,60; 0,89; 1,00. Perbedaan kelompok kontrol dengan perlakuan ke-2 (suplementasi seng 0,4 mg) dan perlakuan ke-3 (suplementasi seng 0,8 mg) terdapat perbedaan bermakna dengan *p value* 0,00.

Dalam penelitian ini jumlah retikulosit dihitung dengan pengecatan *brilliant cresyl blue* yang dapat mengecat sisa RNA dalam sitoplasma. Hasil pengecatan dapat dilihat pada gambar 1 berikut:



Gambar 4. Perbandingan jumlah retikulosit kelompok kontrol dan perlakuan ke-3

Berdasarkan gambar 1, jumlah retikulosit pada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan suplementasi seng jumlahnya lebih banyak bila dibandingkan pada kelompok perlakuan, terutama pada perlakuan ke-3. Retikulosit tersebut merupakan seri sel eritrosit yang satu tahap lebih muda dari eritrosit dan sangat baik dipakai sebagai parameter untuk menilai proses eritropoiesis/hematopoesis.

Penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu mulai dari minggu pertama hingga minggu ke-13. Pada awal minggu pertama hingga minggu ke-3, berat badan

tikus mengalami kenaikan baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Semua tikus dipelihara dengan baik, pakan yang adekuat, dan tidak ada yang mengalami sakit. Setelah minggu ketiga, berat badan tikus pada perlakuan ke-1, 2, dan 3 terus mengalami kenaikan hingga minggu akhir minggu ke-13 dengan kenaikan tertinggi 96,8 (26,8%), sedangkan pada kelompok kontrol berat badan tikus mengalami penurunan sebesar -4,7 (-1,9%). Berdasarkan hasil penimbangan berat badan tersebut telah memberikan gambaran bahwa pajanan Pb dapat menurunkan berat badan dan suplementasi seng dapat memperbaiki berat badan padan tikus yang terpajan Pb. Detoksikasi Pb terjadi melalui ikatan protein *metallothionein* yang terdapat pada suplementasi seng dengan Pb⁽¹¹⁾, sehingga dapat mengurangi dampak pajanan Pb dan berat badan tidak terhambat.

Diperkuat oleh penelitian Hariono B pada tikus *Rattus norvegicus* yang diberi pajanan Pb asetat 0,5 g/kg/BB/hari dapat menurunkan berat badan dalam 10 minggu.⁽²⁾ hal yang sam telah dilakukan oleh Nabil menggunakan tikus albino jantan yang dibagi dalam 4 group yaitu kelompok kontrol, pajanan Pb 1/20, 1/40, 1/60, hasilnya terdapat penurunan berat badan pada tikus yang terpajan Pb.⁽¹⁷⁾

Dalam penelitian ini didapatkan kadar Hb, jumlah eritrosit, dan retikulosit berbeda secara bermakna antara kelompok kontrol dengan perlakuan ke-2 dan ke-3 yaitu pada suplementasi seng 0,4 mg dan 0,8 mg. Pada suplementasi seng tersebut didapatkan kadar *metallothionein* lebih tinggi bila hanya kelompok ke-1 yang hanya mendapatkan suplementasi seng 0,2 mg.⁽¹¹⁾ Kadar

metallothionein sangat berperan dalam mengikat logam Pb.^(6,10)

Beberapa penelitian yang dapat memperkuat hasil ini telah dilakukan oleh Arun JP, yang meneliti pajanan Pb pada pekerja batu baterai dibandingkan kelompok normal yang tidak terpajan Pb. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa kadar hemoglobin mengalami penurunan secara signifikan pada kelompok terpajan dibandingkan kontrol.⁽¹⁸⁾ Penelitian Hariono menunjukkan bahwa, penambahan Pb asetat 0,5 g/kg/BB tikus pada minggu ke-10 dapat menyebabkan penurunan kadar hemoglobin. Pb dapat menghambat beberapa enzim pada proses biosintesis heme sebagai komponen penyusun hemoglobin sehingga dapat menurunkan kadar hemoglobin. Beberapa enzim yang dihambat adalah delta ALAD, koproporfirin, dan enzim ferrokelatase⁽¹⁹⁾. Enzim ferrokelatase merupakan enzim terakhir pada proses biosintesis heme yang dihambat oleh pajanan Pb dan menyebabkan kegagalan infusi Fe kedalam porfirin sehingga heme tidak terbentuk sehingga terjadi penurunan kadar hemoglobin.^(14,15)

Dalam sirkulasi, sebagian besar plumbum ada dalam eritrosit yaitu 90% di sitoplasma eritrosit dan 10 % di membran lipid dan lipoprotein. Ikatan plumbum dengan unsur sitoplasma, transportasi melalui membran eritrosit, dan ekskresi melalui pompa kalsium menyebabkan adanya plumbum di plasma dan membran eritrosit. Plumbum dapat membentuk kompleks dengan ligan bermuatan negatif terutama gugus sulfidril, karboksil, dan kelompok enzim imidasole serta protein lain sehingga menimbulkan toksik pada eritrosit.⁽²⁰⁾

Produksi radikal bebas merupakan hasil mekanisme toksisitas plumbum telah banyak dilaporkan oleh peneliti sebelumnya. Spesies oksigen reaktif (ROS) bereaksi dengan makromolekul seluler (DNA, protein, lipid). Eritrosit sangat sensitif terhadap induksi stres oksidatif oleh karena adanya pajanan plumbum yang tinggi.⁽⁵⁾ Pada membran eritrosit terjadi senyawa atau reaksi kimia yang dapat menghasilkan spesies oksigen berpotensi toksik yang disebut pro-oksidan.

Apabila jumlah pro-oksidan meningkat dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif akibat plumbum dapat menimbulkan kerusakan membran dan memperpendek umur eritrosit, dan defisiensi *G-6PD* dapat menghambat pematangan eritrosit pada sumsum tulang.^(5,8)

Kerusakan membran eritrosit dapat mempengaruhi jumlah eritrosit dalam sirkulasi sehingga jumlah eritrosit mengalami penurunan, berakibat pada peningkatan proses hematopoiesis. Peningkatan proses hematopoiesis dapat ditandai dengan meningkatnya sel eritrosit muda dalam darah tepi diantaranya adalah retikulosit. Dalam penelitian ini setelah mendapatkan suplementasi seng jumlah retikulosit mengalami penurunan, hal ini menunjukkan adanya perbaikan proses hematopoiesis. Hasil penelitian ini telah diperkuat oleh Hariono, bahwa pajanan Pb 0,5 g/kg/BB pada tikus terbukti terjadi peningkatan jumlah retikulosit pada minggu ke-10.⁽²⁾ Peningkatan proporsi sel darah merah yang belum matang dalam darah (retikulosit dan sel basofilik stipling) disebabkan oleh keracunan plumbum.⁽²¹⁾ Sel darah merah yang belum matang diantaranya adalah retikulosit yang masih mengandung sisa-sisa *ribonucleic acid (RNA)*.^(2,22) Untuk menggambarkan eritropoiesis di sumsum tulang, hitung jumlah retikulosit dalam darah perifer merupakan indikasi yang sangat berguna untuk menunjukkan peningkatan aktifitas eritropoiesis.

5. SIMPULAN

Suplementasi seng memperbaiki hematopoiesis pada tikus yang terpajan plumbum yang dibuktikan dengan peningkatan kadar Hb, jumlah eritrosit, dan penurunan jumlah retikulosit secara signifikan. Saran: perlu penelitian lebih lanjut pada populasi manusia yang terpajan Pb.

REFERENSI

1. Suhermi. Lead poisoning in Indonesia. In: Robert A, O'Brien E, editors. The Global Lead Advice and Support (GLASS) provides information and

- referees on lead poisoning and lead contamination prevention and management. The LEAD Group Incorporated. Sydney: Australia;2010.p.1-16.
2. Hariono B. Efek pemberian plumbum (timah hitam) pada tikus putih anorganik (*Rattus norvegicus*). *J. Sain Vet.* 2006;24(1):125-33
 3. Jain NB, Laden F, Guller U, Shankar A, Kazani S, Garshick E. Relation between blood lead levels and childhood anemia in India. *Am J Epidemiol.* 2005;161(10): 968-73.
 4. Sunoko HR. Peran gen polimorfik α asam aminolevulinic acid dehidratase (ALAD) pada intoksikasi Pb. *MMI.* 2008;43:1-10.
 5. Murray RK. Porphyrin and Bile Pigments. In: Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry.* 27th ed. New York: McGraw-Hill;2006.p.279-93.
 6. Gugliotta T, Luca GD, Romano P, Rigano C, Scuter A, Romano P. Effects of lead chloride on human erythrocyte membranes and on kinetic anion sulphate and glutathione concentrations. *Cel Mol Biol Lett.* 2012;17:586-97.
 7. Luis TC, Weerkamp F, Naber BAE, Baert MRM, de Haas EFE, Nikolic T, et al. Wn3ta deficiency irreversibly impairs hematopoietic stem cell self-renewal and leads to defects in progenitor cell differentiation. *Blood.* 2009;113(3):546-54.
 8. Slobozhanina EI, Kozlova NM, Lukyanenko LM, Oleksiuk OB, Gabbianelli R, Fedeli D, et al. Lead-induced changes in human erythrocytes and lymphocytes. *Journal of Applied Toxicology.* 2005;25(2):109-14.
 9. Suaniti NM. Pengaruh EDTA dalam Penentuan Kandungan Timbal dan Tembaga Pada Kerang Hijau (*Mytilus Viridis*). *Ecotrophic.* 2007;2(1):1-7.
 10. Hijova E. Metallothionein and zinc: their functions and interactions. *Bratisl.lek listy* 2004;105:230-34.
 11. Santosa B, Subagio HW, Suromo L, Sunoko HR. Zinc Supplementation Dosage Variations to *Metallothionein* Protein Level of *Rattus norvegicus*. *Internat J of Sci and Eng.* 2013;5(2):15-17.
 12. Cheung RCK, Chan MHM, Ho CS, Lam CWK and Lau ELK. Heavy metal poisoning clinical significance and laboratory investigation. *Asia pasific Analyte Notes.* BD Indispensable to Human Health. Hong Kong 2001;7(1):22-34
 13. Atamna H, Killilea DW, Killilea AN, and Ames BN. Heme deficiency may be a factor in the mitochondrial and neuronal decay of aging. *Children's Hospital Oakland Research Institute, Oakland* 2001;26:94609
 14. Reedy CJ, Elvekrog MM, and Gibney BR. Development of a heme protein structure–electrochemical function database. *Columbia University.* 2008;36:307-13
 15. Gaweda AE, Nathanson BH, Jacobs AA, Aronoff GR, Germain MJ, Brier ME. Determining Optimum Hemoglobin Sampling for Anemia Management from Every-Treatment Data. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1939-45.
 16. Sacher RA, Richard AM. *Widmann's Clinical Interpretation of Laboratory tests, II/E.F.a.Davis Company, Philadelphia, Pennsylvania, USA* 2000
 17. Ibrahim NM, Eweis EA, Hossam SE, Yasmin EAM. Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012:41-6.
 18. Patit AJ, Baghwar VR, Patil JA, Dongre NN, Ambekar JE, Jaikhani R, et al. Effect of lead (Pb) exposure on the activity of superoxide dismutase and catalase in battery manufacturing workers of Western Maharashtra (India) with reference to heme biosynthesis. *Int J Environ Res Public Health.* 2006;3(4):329-37.
 19. Nilsson R, Schultz IJ, Pierce EL, Soltis KA, Naranuntarat A, Ward DM, et al. Discovery of Genes Essential for Heme

- Biosynthesis through Large-Scale Gene Expression Analysis. Elsevier Inc. Cell Metabolism. 2009;10: 119–30
20. Bosiacka B, Hlynczak AJ, Wiszniewska B, Marchlewicz M. Disorders of Purine Metabolism in Human Erythrocytes in the State of Lead Contamination. Pol J Environ Stud. 2004;13(5):467-76.
 21. Lu J, Kendrick CJ. Reticulocyte counts in sports medicine. N Z J Med Lab Sci. 2012; 66:36-8.
 22. Hegazy AA, Zaher MM, Abd el-hafez MA, MorsyAA, Saleh RA. Relation between anemia and blood levels of lead, copper, zinc and iron among children. BMC 2010; 3:133-8.