



**Analisis Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase
dalam Darah Operator SPBU di Semarang**

Skripsi

**sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi
Program Studi Biologi**

Oleh
Siti Rofiatus Sa'adah
4411412043

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2016**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya berjudul "Analisis Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase dalam Darah Operator SPBU di Semarang" disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 7 November 2016



Siti Rofiatus Sa'adah

4411412043

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

“Analisis Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase dalam Darah Operator SPBU di Semarang”

disusun oleh

Nama : Siti Rofiatus Sa'adah

NIM : 4411412043

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 14 November

2016.



NIP. 196412231988031001

Panitia Ujian

Sekretaris

A handwritten signature in black ink.

Dra. Endah Peniati, M.Si.

NIP. 196511161991032001

Pengaji Utama

A handwritten signature in black ink.

Dr. Aditya Marianti, M.Si.

NIP. 196712171993032001

Anggota Pengaji I/

Pembimbing I

A handwritten signature in black ink.

Dr. Ari Yuniaستuti, S.Pt., M.Kes.

NIP. 196806021998032002

Anggota Pengaji II/

Pembimbing II

A handwritten signature in black ink.

Dr. drh. R. Sulisti, M.P.

NIP. 196903231997032001

ABSTRAK

Sa'adah, SR. 2016. Analisis Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase dalam Darah Operator SPBU di Semarang. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Dr. Ari Yuniastuti, S.Pt., M.Kes. dan Dr. drh. R. Susanti, M.P.

Semarang merupakan kota dengan penggunaan kendaraan bermotor sebagai alat transportasi yang selalu mengalami peningkatan pada setiap tahunnya. Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat dalam gas buang hasil pembakaran kendaraan bermotor. Timbal yang masuk dalam tubuh menyebabkan peningkatan produksi *nitric oxide* (NO) sehingga terjadi inaktivasi enzim glutation peroksidase yang merupakan antioksidan endogen akibat peningkatan tersebut. Sampel dalam penelitian ini adalah darah dari 24 operator SPBU di Semarang. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang. Kadar NO diukur menggunakan metode ELISA sedangkan aktivitas glutation peroksidase diukur menggunakan metode spektrofotometri. Data diuji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Rerata kadar NO yang diperoleh sebesar 2,3962 mmol/l dan aktivitas glutation peroksidase sebesar 74,2096 U/g. Hubungan kadar NO dan aktivitas glutation peroksidase diuji menggunakan uji korelasi *r-Spearman* dengan hasil koefisien korelasi (*r*) sebesar 0,797 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan antara kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase darah operator SPBU di Semarang.

Katakunci: Glutation peroksidase, *Nitric oxide*

MOTTO DAN PERSEMPAHAN

MOTTO

LILLAH maka tak akan pernah lelah

PERSEMPAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

- ✓ *Orang tuaku terkasih ibu Maknawiyah dan Bapak Marjiyan beserta keluarga besar yang selalu mendo'akan, memberikan semangat dan mencurahkan kasih sayang tiada tara.*
- ✓ *Alm. Umi Hj. Musyafa'ah, AH dan Abi Ainur Rofiq yang selalu membimbing, menasehati dan menjadi panutan dalam hidup saya.*
- ✓ *Alm. Abah kyai Masrokan dan segenap keluarga dalem yang senantiasa memberikan nasihat dan motivasi.*
- ✓ *Sahabatku Intan Rachmawati, Rizqi Amalia, Retno Ika Sari, Ida Fitriani dan Siti Faiqotul Ulya yang selalu memberi semangat, keceriaan, dukungan, bantuan dan motivasi.*
- ✓ *Teman-teman Biologi UNNES 2012 yang memberikan motivasi dan inspirasi.*
- ✓ *Segenap santri Durrotu Ahlu Sunnah Wal Jama'ah. Khususnya anggota kamar*

AL-KHOLIQ

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi robbil'alamin, puji syukur penulis limpahkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah dan inayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase dalam Darah Operator SPBU di Semarang”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi dalam rangka menyelesaikan studi S1 untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi Universitas Negeri Semarang.

Selama penyelesaian skripsi ini penulis mendapatkan bimbingan, bantuan, motivasi, dukungan serta do'a dari berbagai pihak yang mendukung dari awal pembuatan skripsi, saat melaksanakan penelitian skripsi, hingga akhir dan selesaianya pembuatan skripsi ini. Pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
4. Bapak Andin Irsadi, S.Pd., M.Si. dosen wali yang selalu memotivasi dan memberikan arahan.
5. Ibu Dr. Ari Yuniaستuti, S.Pt., M.Kes. dan Ibu Dr. drh. R. Susanti, M.P. selaku dosen pembimbing yang telah mencerahkan perhatian, waktu, kritik dan saran yang membangun serta memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
6. Dr. Aditya Marianti, M.Si. selaku dosen penguji yang memberikan kritik dan saran yang membangun serta memberikan bimbingan dengan penuh ketelitian dan kesabaran.
7. Mbak Fitri selaku teknisi Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan saran dan bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian.

8. Orang tuaku terkasih Ibu Maknawiyah dan Bapak Marjiyan dan keluarga yang telah memberikan cinta kasih, dukungan, semangat serta do'a.
9. Alm. Umi Hj. Musyafa'ah, AH. Dan Abi Ainur Rofiq yang telah memotivasi dan memberikan nasihat, dukungan serta arahan.
10. Alm. Abah Kyai Masrokan dan segenap keluarga dalem yang telah memotivasi dan memberikan nasihat.
11. Sahabat-sahabatku tercinta: Retno Ika Sari, Intan Rachmawati, Rizqi Amalia dan Siti Faiqotul Ulya yang telah memberikan semangat, dukungan, nasihat, saran serta bantuan saat melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
12. Mbak Behe, Mbak Nimas, Mbak Erni, Mbak Fera yang telah membantu dalam melaksanakan proses penelitian.
13. Teman-teman Biologi angkatan 2012 terimaksih atas persahabatan, dukungan, bantuan, saran, serta kebersamaan selama berada di Universitas Negeri Semarang.
14. Segenap santri Durrotu Ahlusunnah Wal Jama'ah khususnya kamar al-kholiq.
15. Pihak SPBU Kota Semarang yang telah bersedia bekerja sama dalam penelitian.

Semoga amal baiknya mendapat balasan pahala berlimpah dari Allah SWT. Sesungguhnya skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk memperbaiki karya-karya selanjutnya. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Semarang, 7 November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | ii |
| PENGESAHAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| MOTTO DAN PERSEMBAHAN | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xii |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 3 |
| C. Penegasan Istilah | 4 |
| D. Tujuan Penelitian | 4 |
| E. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Tinjauan Pustaka | 6 |
| 1. Stress Oksidatif | 6 |
| 2. <i>Nitric Oxide</i> | 8 |
| a. <i>Nitric Oxide</i> Eksogen | 8 |
| b. <i>Nitric Oxide</i> Endogen | 10 |
| 3. Glutation Peroksidase | 14 |
| 4. Polutan | 16 |
| 5. Pencemaran Pb di Kota Semarang | 20 |
| 6. Kerangka Teori | 22 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 7. Kerangka Konsep | 24 |
| B. Hipotesis | 24 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| A. Waktu dan Lokasi Penelitian | 25 |
| B. Populasi dan Sampel | 25 |
| C. Variabel | 26 |
| D. Rancangan Penelitian | 26 |
| E. Alat dan Bahan Penelitian | 26 |
| F. Prosedur Penelitian | 28 |
| G. Pengumpulan Data | 30 |
| H. Analisis Data | 30 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil | 31 |
| B. Pembahasan | 33 |
| C. Keterbatasan Penelitian | 37 |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN | |
| A. Simpulan | 38 |
| B. Saran | 38 |
| DAFTAR PUSTAKA | 39 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN | 44 |

DAFTAR TABEL

| Tablel | Halaman |
|---|----------------|
| 1 Kandungan senyawa Pb dalam gas buang kendaraan bermotor | 17 |
| 2 Alat penelitian | 26 |
| 3 Bahan penelitian | 27 |
| 4 Prosedur pengukuran aktivitas glutation peroksidase | 29 |
| 5 Hasil pengukuran <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase | 30 |
| 6 Kadar <i>nitric oxide</i> dan kadar glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang | 31 |
| 7 Rerata kadar Pb, kadar <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator pada lima sampel SPBU | 32 |
| 8 Korelasi kadar nitric oxide dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang | 33 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 1 Sintesis <i>nitric oxide</i> dari L-Arginin | 10 |
| 2 Pembentukan <i>peroxynitrite</i> | 12 |
| 3 Efek langsung dan tak langsung NO | 12 |
| 4 Formasi pentakoordinat kompleks pada heme | 13 |
| 5 Kerusakan DNA yang bersumber dari dalam tubuh | 13 |
| 6 Struktur wilayah aktif glutation peroksidase | 15 |
| 7 Siklus katalis GSH-Px | 15 |
| 8 Peningkatan ROS dan penurunan antioksidan endogen akibat Pb | 18 |
| 9 Efek timbal pada metabolism GSH | 19 |
| 10 Kerangka teori hubungan glutation peroksidase dengan <i>nitric oxide</i> dalam darah operator SPBU di Semarang | 23 |
| 11 Kerangka konsep hubungan glutation peroksidase dengan <i>nitric oxide</i> dalam darah operator SPBU di Semarang | 24 |
| 12 Difusi NO dari dalam sel menuju aliran darah | 36 |
| 13 Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi ... | 37 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|----------------|
| 1 Pembuatan larutan untuk pegukuran glutation peroksidase | 45 |
| 2 Kadar <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Semarang | 46 |
| 3 Analisis statistik deskriptif dengan SPSS versi 23 data kadar <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Semarang | 47 |
| 4 Analisis korelasi dengan SPSS versi 23 antara kadar <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase | 51 |
| 5 Surat keputusan dosen pembimbing skripsi | 52 |
| 6 Surat ijin penelitian | 53 |
| 7 Surat hasil uji <i>nitric oxide</i> dan glutation peroksidase | 54 |
| 8 <i>Informed Consent</i> | 55 |
| 9 Dokumentasi penelitian | 58 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kota Semarang merupakan pusat pemerintahan di Jawa Tengah. Perkembangan Kota Semarang dalam bidang industri, perdagangan, jasa, dan pendidikan menyebabkan urbanisasi dan peningkatan jumlah penduduk mencapai 1.527.433 jiwa pada tahun 2010 dan mengalami peningkatan laju pertumbuhan 1,4% pertahunnya. Peningkatan jumlah penduduk diikuti dengan peningkatan penggunaan kendaraan bermotor sebagai alat transportasi (Sudalma & Purwanto 2012).

Tingginya penggunaan transportasi menyebabkan kenaikan konsumsi bahan bakar fosil (minyak). Hal ini berbanding lurus dengan tingginya pencemaran udara oleh gas buang dari hasil pembakaran tersebut (Basri 2010). Gas buang kendaraan bermotor mengandung senyawa yang dapat meningkatkan oksidan dalam tubuh seperti *toluene*, *benzene*, *xylene* dan hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) serta logam berat seperti timbal (Pb). Senyawa-senyawa tersebut akan dimetabolis oleh tubuh dan menghasilkan radikal bebas sebagai turunan radikal bebas karbon (C), nitrogen (N), dan oksigen (O). Radikal bebas yang merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen bersifat sangat reaktif yang disebut ROS (*Reaktive Oksigen Species*). ROS terdiri atas anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-), hidrogen peroksida (H_2O_2). Selain dari turunan oksigen radikal bebas juga dapat berasal dari turunan nitrogen *nitric oxide* (NO_x), nitrogen dioksida (NO₂) dan peroksinitrit (ONOO⁻) (Saxena & Chirashree 2012).

Nitric oxide dapat bersumber dari dalam dan luar tubuh. *Nitric oxide* yang bersumber dari luar tubuh disebut NO eksogen. *Nitric oxide* eksogen merupakan salah satu gas pencemar udara yang berasal dari gas buang kendaraan bermotor (Basri 2010). Menurut Latif (2006), melaporkan kadar NO di wilayah SPBU Sampangan Semarang mencapai 0,076 ppm dari nilai ambang batas normal yang

telah ditetapkan oleh pemerintah sebesar 0.05 ppm. Tingginya kadar NO menyebabkan 70% responden mengalami gangguan fungsi paru ringan dan 25% mengalami gangguan fungsi paru berat. *Nitric oxide* eksogen merupakan pencemar udara yang dapat masuk dalam tubuh dengan cara inhalasi yaitu masuknya bahan pencemar udara ke dalam tubuh manusia melalui sistem pernafasan. NO yang masuk dalam tubuh dapat mengganggu saluran pernafasan, selain itu NO ini kemudian akan masuk dalam peredaran darah dan menimbulkan gangguan pada alat tubuh lain (Budiono 2001).

Nitric oxide yang bersumber dari dalam tubuh disebut dengan NO endogen. *Nitric oxide* endogen merupakan senyawa yang bersifat toksik dan berumur pendek, berupa molekul gas yang disintesis dari *L- arginine* oleh enzim *nitric oxide syntase* menjadi NO dan *L-Citrulin*. Proses pembentukan NO melalui *constitutive NOS* (cNOS) yaitu Ca^{2+} masuk ke dalam sel membentuk kompleks dengan calmodulin (CM) yang terikat di cNOS sehingga menyebabkan aktivasi cNOS (Gunawijaya & P Arhana 2000). Tingginya *nitric oxide* dalam sel dapat menginaktivasi glutation peroksidase dengan mengikat langsung residu asam amino yang ada dalam molekul glutation peroksidase (Asahi *et al.* 1995).

Glutation peroksidase merupakan suatu antioksidan endogen yang berperan dalam mencegah pembentukan senyawa radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul reaktif. Enzim glutation peroksidase berperan dalam mengubah H_2O_2 yang dihasilkan oleh superoksid dimutase menjadi bentuk air (Sugianto 2011).

Efek paparan logam berat seperti Pb, Cd dan Hg menyebabkan terjadinya perubahan aktivitas antioksidan endogen serta menimbulkan terjadinya stres oksidatif (Setiawan & Eko 2005). Stres oksidatif adalah keadaan yang ditandai oleh ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan di dalam tubuh (Setiawan & Eko 2005). Stres oksidatif disebabkan antara lain oleh radiasi sinar UV, infeksi virus, toksin, limbah kimia, logam berat, dan gas pencemar lainnya (Sugiyanto 2010). Akibat stress oksidatif menimbulkan kerusakan biomolekul dan dapat

menyebabkan beberapa penyakit seperti hiperglikemia, kanker, aterosklerosis, endokrin, sendi, terganggunya sistem imunitas, dan sistem saraf (Sugiyanto 2010; Kunwar & Priyadarsini 2011).

Timbal (Pb) merupakan salah satu polutan utama yang dihasilkan oleh gas buang kendaraan bermotor sehingga dapat mencemari lingkungan. Berdasarkan hasil penelitian Yuniastuti (2016; belum dipublikasikan), rata-rata kandungan logam berat Pb pada sampel darah operator SPBU di wilayah Kota Semarang sebesar 56,29 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Angka tersebut menunjukkan kadar Pb darah yang tinggi. Kadar normal Pb dalam darah yang dapat ditolerir tubuh sekitar 10-25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Suciani 2007). Timbal (Pb) yang terhirup pada saat pernafasan masuk ke dalam pembuluh darah paru-paru. Timbal akan diabsorpsi oleh saluran pernapasan dengan tiga proses yaitu deposisi, pembersihan mukosiliar dan pembersihan alveolar. Timbal yang diabsorpsi melalui saluran pernafasan akan masuk dalam aliran darah dan kemudian diedarkan keseluruh jaringan dan organ tubuh (Suciani 2007). Timbal (Pb) yang masuk ke dalam sel mengakibatkan peningkatkan Ca^{2+} yang dapat menstimulus enzim *nitric oxide synthase* untuk memproduksi *nitric oxide* yang ada di dalam sel (Kim *et al.* 2011).

Operator SPBU merupakan salah satu objek yang memiliki kemungkinan besar terpapar gas buang kendaraan bermotor seperti timbal (Pb), mengingat dalam sehari-hari operator SPBU berhubungan dengan lingkungan yang tercemar oleh gas buang tersebut. Oleh karena itu dapat diidentifikasi beberapa masalah, pertama terkait kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang. Kedua, terkait kadar Pb dalam darah operator SPBU di Semarang. Ketiga, terkait kadar Pb udara di daerah sekitar SPBU di Semarang.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah yang telah dilakukan dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

Bagaimana kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang?

C. Penegasan Istilah

Untuk menghindari perbedaan pengertian dalam penelitian ini, maka perlu diberikan penjelasan terkait beberapa istilah sebagai berikut:

a. Kadar *Nitric Oxide*

Kadar *nitric oxide* yang diuji dalam penelitian ini adalah kadar *nitric oxide* dalam serum darah operator SPBU di Kota Semarang yang diukur menggunakan ELISA.

b. Aktivitas Glutation Peroksidase

Aktivitas glutation peroksidase yang diuji dalam penelitian ini adalah aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Kota Semarang yang diukur menggunakan spektfotometer dengan panjang gelombang 340 nm.

c. Operator SPBU

Operator SPBU yang dimaksud dalam penelitian ini yaitu petugas SPBU yang dalam bekerja terpapar langsung oleh gas buang kendaraan bermotor.

d. Kota Semarang

Kota Semarang merupakan Ibukota Jawa Tengah. Menurut Dinas Perindustrian dan Perdagangan Kota Semarang pada tahun 2015 Kota Semarang memiliki 63 SPBU yang tersebar di seluruh wilayah Kota Semarang. Lokasi SPBU yang dijadikan sampel dalam penelitian ini adalah Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu), Jl. Kaligawe (Sidomuncul), COCO Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron), Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan), dan Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo).

D. Tujuan Penelitian

Menganalisis hubungan kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang.

E. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi dan pengetahuan kepada operator SPBU khususnya dan masyarakat pada umumnya terkait bahaya dari logam berat yang terpapar dari hasil buangan kendaraan bermotor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan yang ditandai oleh ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan di dalam tubuh (Setiawan & Eko 2005). Halliwell (2006) mendefinisikan stres oksidatif sebagai suatu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, yang mana jumlah radikal bebas lebih banyak bila dibandingkan dengan antioksidan. Stres oksidatif disebabkan antara lain oleh radiasi sinar UV, infeksi virus, toksin, limbah kimia, logam berat, dan gas pencemar lainnya (Sugiyanto 2010). Suarsana *et al.* (2013) menyatakan bahwa stress oksidatif juga dapat disebabkan oleh akibat reaksi metabolismik yang menggunakan oksigen dan mengakibatkan gangguan pada keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sel. Akibat stres oksidatif menimbulkan kerusakan biomolekul dan dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti hiperglikemia, kanker, aterosklerosis, endokrin, sendi, terganggunya sistem imunitas, sistem saraf, dll (Sugiyanto 2010; Kunwar & Priyadarsini 2011).

Manusia merupakan organisme aerobik sehingga membutuhkan oksigen untuk menjalankan metabolisme basal, konsekuensi dari proses metabolisme tersebut adalah tubuh mampu menghasilkan radikal bebas sebanyak 2,5 % dari kebutuhan total oksigen sebanyak 3,4 kg/24 jam (Widayati 2012). Radikal bebas yang dihasilkan memiliki fungsi fisiologis dapat membunuh virus dan bakteri, namun bila diproduksi secara berlebih maka radikal bebas dapat merusak jaringan normal (Panjaitan *et al.* 2010).

Radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan dapat merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid dan nukleotida. Pada protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi sehingga mempercepat terjadinya proteolisis, pada lipid dapat

menyebabkan peroksidasi yang akan mencetus proses otokatalik dan pada nukleotida dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur DNA dan RNA yang dapat mengakibatkan mutase atau sitotoksitas (Gitawati 1995).

Reaktif oksigen spesies (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain ion OH⁻, superokksida, *nitric oxide* dan *peroxyl*. Sedangkan kelompok nonradikal meliputi ozon, singlet oksigen, lipid perokksida, dan hidrogen perokksida. Selain dari turunan oksigen radikal bebas juga dapat berasal dari turunan nitrogen seperti *nitric oxide*, perokksi nitrit dan ion nitroksil yang merupakan subklas dari ROS (Widayati 2012).

Tubuh mempunyai suatu sistem yang dapat mengatasi kerusakan oksidatif (stres oksidatif) yang disebut sebagai antioksidan (Yuniastuti 2013). Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif (Werdhasari 2014). Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa pemberi elektron, tetapi secara biologis, pengertian antioksidan lebih luas lagi. Pengertian antioksidan dalam arti biologis adalah semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk dalam penghambatan dan penghentian kerusakan oksidatif terhadap suatu molekul target (Setiawan & Eko 2007).

Tubuh memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan endogen intrasel terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh, berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel. Tubuh memiliki tiga enzim antioksidan endogen, yaitu superokksida dismutase (SOD), glutation perokksidase (GSH-Px) dan katalse (Cat) (Astuti 2008; Suarsana 2013).

Peningkatan jumlah radikal bebas yang terjadi secara terus menerus dapat meningkatkan penggunaan enzim antioksidan intraseluler (Wresdiyati et al. 2007). Tingginya radikal bebas dalam tubuh menyebabkan peningkatan penggunaan antioksidan endogen, sehingga kadar antioksidan endogen dalam tubuh mengalami penurunan. Tingginya *nitric oxide* di dalam tubuh dapat

mengakibatkan inaktivasi enzim glutation peroksidase yang merupakan antioksidan endogen, inaktivasi ini diinsuksi dengan ikatan langsung antara *nitric oxide* dengan residu asam amino yang ada dalam molekul enzim glutation peroksidase (Asahi *et al.* 1995). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam reaksi reduksi oksidasi menimbulkan terjadinya stres oksidatif (Winarsi 2011).

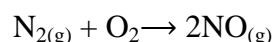
2. *Nitric Oxide*

a. *Nitric Oxide Eksogen*

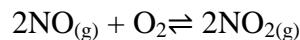
Nitric oxide atau nitrogen oksida (NOx) merupakan gas pencemar yang tersebar bebas di atmosfer. Gas nitrogen oksida dalam udara memiliki dua macam bentuk sifat yang berbeda yaitu nitrogen monoksida (NO) dan nitrogen dioksida (NO₂). Sifat dari gas NO tidak berwarna dan tidak berbau sehingga sulit diamati secara visual sedangkan sifat dari gas NO₂ berwarna merah kecoklatan dan memiliki bau yang sangat menyengat sehingga mudah untuk diamati. Udara yang memiliki kandungan NOx dalam batas yang normal relatif aman dan tidak berbahaya, namun bila kandungan NOx melebihi batas normal dapat menjadi berbahaya bagi kesehatan manusia (Utami 2011).

Pencemaran NOx tertinggi diproduksi dari aktivitas manusia terutama transportasi. Pencemaran udara di Indonesia sebagian besar disebabkan oleh adanya gas buangan dari kendaraan bermotor. Bertambahnya penggunaan kendaraan bermotor menyebabkan meningkatnya kebutuhan akan jumlah bahan bakar yang digunakan untuk menggerakkan motor tersebut (Dewi & Budiyanti 2010). Kenaikan konsumsi bahan bakar fosil (minyak) menyebabkan udara yang dihirup oleh masyarakat menjadi tercemar oleh gas-gas buangan dari hasil pembakaran tersebut. Gas pencemar udara yang paling dominan diantaranya adalah: karbon monoksida (CO), nitrogen oksida (NOx), belerang oksida (SOx), dan partikel molekular (debu, asam, pestisida, dll) (Basri 2010).

Pencemaran gas NOx dari emisi gas buangan kendaraan bermotor disebabkan karena proses pembakaran yang tidak sempurna pada mesin kendaraan, sehingga menyebabkan pembentukan NOx yang dipengaruhi oleh suhu pembakaran yang tinggi dan kelebihan udara yang tersedia (Dewi & Budiyanti 2010). Menurut Utami (2011), reaksi pembentukan gas NOx adalah sebagai berikut:



Bila gas NOx tersebut kontak dengan udara maka akan menghasilkan gas NO₂ dengan reaksi sebagai berikut:



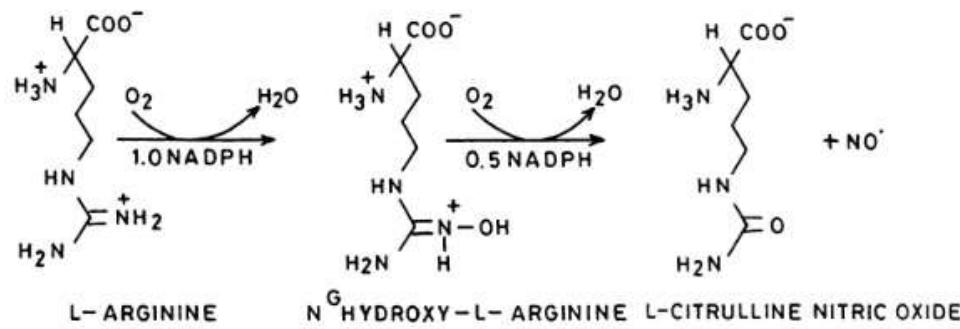
Menurut Wardhana dan Wisnu (2004), kadar NOx di udara tergantung pada intensitas cahaya matahari dan aktivitas kendaraan bermotor. Kadar NOx sebelum matahari terbit tetap stabil dengan kadar lebih tinggi dari kadar minimum. Kadar NOx akan meningkat sampai 1-2 ppm pada saat pukul 6-8 pagi karena terjadi peningkatan aktivitas manusia terutama peningkatan aktivitas lalu lintas. Setelah matahari terbit dan memancarkan sinar ultraviolet, kadar NO akan turun namun, kadar NO₂ akan naik. Pada saat intensitas cahaya matahari menurun (jam 5-6 sore) maka kadar NO akan meningkat kembali. Energi matahari tidak mengubah NO menjadi NO₂ namun O₃ yang terkumpul akan bereaksi dengan NO dan terjadilah kenaikan NO₂.

Menurut Jaya (2014), melaporkan kadar NOx lebih dari 100 ppm dapat menyebabkan kematian pada sebagian besar binatang percobaan, kematian tersebut 90% disebabkan gejala pembengkakan paru (edema pulmonari). Kadar NOx sebesar 800 ppm dapat mengakibatkan kematian pada seluruh binatangguji dalam waktu 29 menit atau kurang. Menurut Latif (2006), melaporkan kadar NOx di wilayah SPBU Sampangan Semarang mencapai 0.076 ppm dari nilai ambang batas normal yang telah ditetapkan oleh pemerintah sebesar 0.05 ppm. Tigginya

kadar NOx menyebabkan 70% responden mengalami gangguan fungsi paru ringan dan 25% mengalami gangguan fungsi paru berat.

b. Nitric Oxide Endogen

Nitric oxide atau nitrogen oksida (NO) di sintesis dari *L-Arginin* oleh *Nitric Oxide Syntase* (NOS) dan kofaktor. *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) merupakan kofaktor utama pembentukan NO, *N^Ghydroxy-L-Arginine* dibentuk sebelum membentuk *L-Citruline* dan NO, proses pembentukan NO dapat dilihat pada gambar 1. Selain NADPH terdapat kofaktor lain yaitu *Tetrahydrobiopterin*, *Flavin Adenine Dinucleotide* (FAD), *Flavin Mononucleotide* (FMN), dan heme. *Nitric Oxide Syntase* (NOS) selaku katalis pembentukan NO memiliki ikatan heme yang berfungsi untuk mengikat dan mengaktivasi O₂, mentransfer elektron, dan mengikat kembali NO yang terbentuk. Molekul NO dibentuk oleh 5 elektron nitrogen dan 6 elektron O, sehingga terdapat 1 elektron yang tak berpasangan, menjadikan NO sebagai molekul reaktif yang bersifat radikal bebas. Molekul NO mempunyai *lifetime* yang sangat singkat yaitu 3-5 detik karena dengan spontan NO akan bereaksi dengan O₂ membentuk ion NO₂ dan NO₃, oleh sebab itu NO hanya memiliki aktifitas biologis di sekitar daerah biosintesisnya saja (Gunawijaya & P Arhana 2000; Beckman & Koppenol 1996).



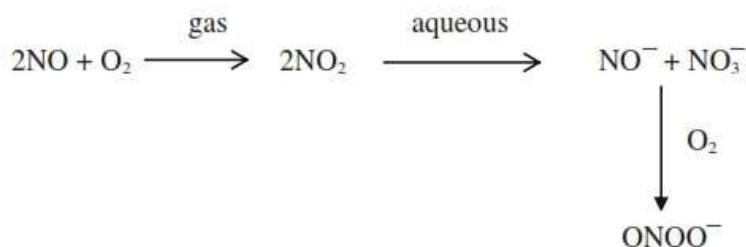
Gambar 1 Sintesis *Nitric Oxide* dari L-Arginin (Habib & Ali 2011).

Enzim *nitric oxide synthase* termasuk dalam sitokrom P450 memiliki tiga isoform yaitu *neuronal Nitric Oxide Syntase* (nNOS), *inducible Nitric Oxide Syntase* (iNOS), dan *endothelial Nitric Oxide Syntase* (eNOS). Ketiga isoform tersebut dikode oleh gen yang berbeda dan dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori sebagai *constitutive Nitric Oxide Syntase* (nNOS dan eNOS) dan *inducible Nitric Oxide Syntase*. *Constitutive Nitric Oxide Syntase* (cNOS) secara terus menerus diekspresikan oleh neuron dan sel endotelium, cNOS bergantung dengan adanya Ca^{2+} pada jaringan, oleh karena itu produksi NO oleh enzim ini sedikit atau tergolong pada konsentrasi rendah, sedangkan iNOS tidak bergantung dengan Ca^{2+} dan memproduksi NO secara terus menerus dalam konsentrasi tinggi yang dapat bertahan dalam beberapa jam bahkan beberapa hari (Boucher *et al.* 1999)

Proses pembentukan NO melalui *constitutive Nitric Oxide Synthase* (cNOS) yaitu Ca^{2+} masuk ke dalam intraselular endotelium membentuk kompleks dengan calmodulin (CM) yang terikat di *constitutive Nitric Oxide Syntase* (cNOS), menyebabkan aktifasi cNOS. Aktifitas cNOS mengkatalisis asam amino L-Arginine menjadi NO dan L-Citruline (Gunawijaya & P Arhana 2000). *Nitric oxide* berperan dalam dinding pembuluh darah yaitu dalam vasodilatasi endotelium, penghambatan aktivitas platelet dan proliferasi serta migrasi sel otot polos dan sebagai neurotransmitter (Libby 2000).

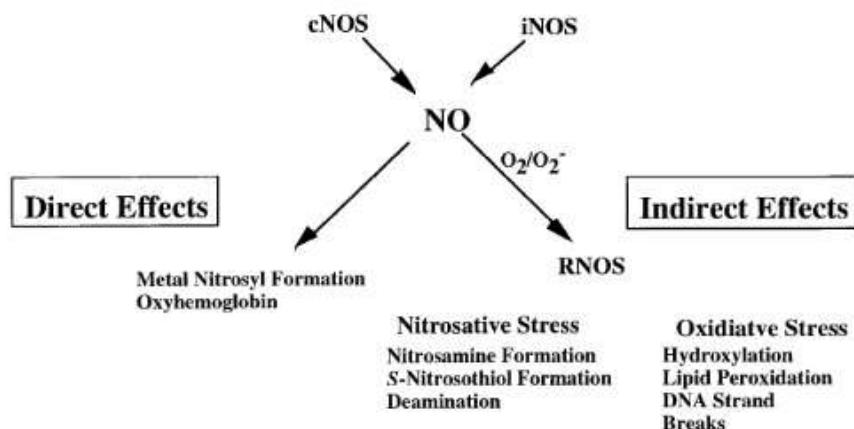
Waktu paruh nitrit lebih pendek daripada nitrat karena nitrat dapat direduksi menjadi nitrit kemudian cepat direduksi menjadi NO pada keadaan hipoksia. Kadar nitrat, nitrit dan NO dalam serum berbanding lurus dengan waktu paruhnya. NO yang disekresi oleh sel endotel dengan cepat dioksidasi membentuk nitrit, kemudian berikatan dengan hemoglobin membentuk nitrat. Kadar nitrat dan nitrit relatif stabil di dalam darah, sehingga total kadar nitrit dan nitrat serum (NOx) dipakai sebagai indikator sintesis NO tubuh (Lundberg & Eddie 2005).

Hasil reaksi NO berhubungan dengan spesies yang bereaksi secara biologi molekuler dan mungkin memiliki efek toksik. Sintesis NO pada level rendah dapat melindungi sel, namun sintesis NO yang berlebih dapat memicu adanya kanker (Choudari *et al.* 2013). *Nitric oxide* dapat bereaksi dengan molekul oksigen, menghasilkan hasil akhir berupa *peroxynitrite*, proses pembentukan peroksinitrit dapat dilihat pada gambar 2 (Habib & Ali 2011). Menurut Luiking *et al.* (2010) kadar normal NO berkisar antara 0.15-2.2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$.

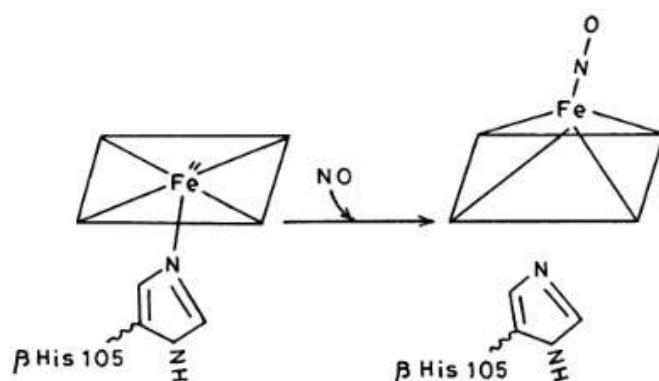


Gambar 2 Pembentukan *peroxynitrite* (Habib & Ali 2011)

Nitric oxide memiliki efek langsung dan efek tak langsung. *Nitric oxide* mengakibatkan efek tak langsung pada konsentrasi rendah dan menyebabkan efek langsung pada konsentrasi tinggi. Pada efek langsung NO bereaksi cepat dengan logam kompleks untuk membentuk *metal nitrosyls* seperti Fe-NO kompleks yang merupakan produk stabil. Pada heme ikatan Fe-NO membentuk pentakoordinat kompleks dengan menghilangkan gugus histidin. Formasi pentakoordinat kompleks ini dapat dilihat pada gambar 4. Efek tak langsung *nitric oxide* dimediasi oleh RNOS membentuk NO yang kemudian dapat bereaksi dengan molekul oksigen atau *superoxide*. Secara kimia efek tak langsung NO dapat dipisah menjadi dua yaitu secara nitrosasi dan oksidasi yang keduanya memiliki efek berbeda seperti dapat dilihat pada gambar 3 (Omer *et al.* 2012)

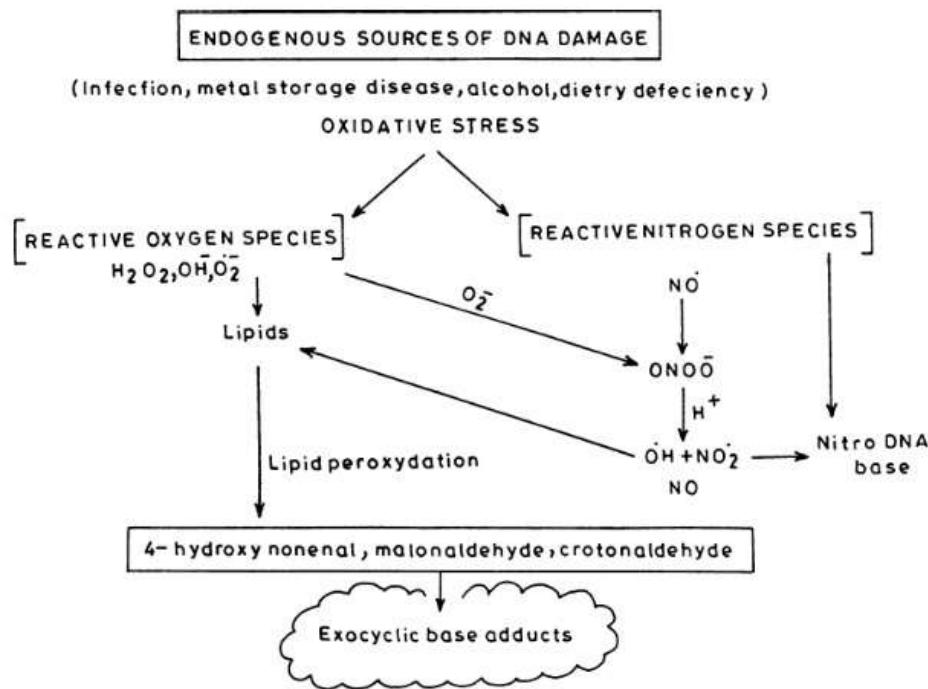


Gambar 3 Efek langsung dan tak langsung NO (Wink *et al.* 1998)



Gambar 4 Formasi pentakoordinat kompleks pada heme (Habib & Ali 2011)

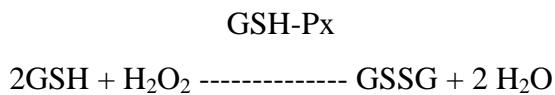
Efek tak langsung *nitric oxide* dapat menyebabkan terjadinya kerusakan DNA yang bersumber dari dalam tubuh yang mana melibatkan reaksi antara *superoxide* (O_2^-) dan NO yang membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit dilaporkan berperan sebagai pemain kunci terjadinya *hepatocyte injury* selama inflamasi dan penyebab kerusakan DNA, seperti dapat dilihat pada gambar 5 (Habib & Ali 2011).



Gambar 5 Kerusakan DNA yang bersumber dari dalam tubuh (Habib & Ali 2011).

3. Glutation Peroksidase

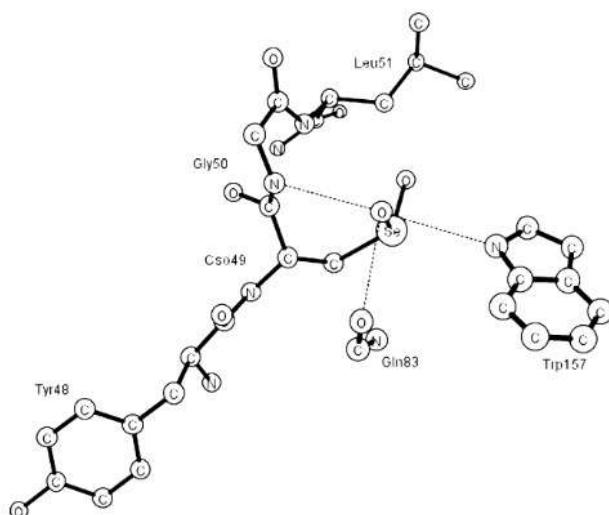
Manusia memiliki antioksidan yang secara alami sudah ada di dalam tubuh sejak lahir atau biasanya disebut dengan antioksidan endogen, salah satu dari antioksidan endogen tersebut adalah enzim glutation peroksidase (GSH-Px) (Sugiyanto 2010). Menurut Sugianto (2011), glutation peroksidase merupakan suatu enzim yang berperan dalam mekanisme proteksi terhadap organisme dari kerusakan oksidatif, enzim ini mengandung selenium (Se) pada bagian sisi aktifnya. Kerja dari enzim glutation peroksidase adalah dengan mengubah molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dihasilkan oleh Superoksid Dimutase (SOD) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air dengan reaksi sebagai berikut:



Glutation peroksidase aktivitasnya memerlukan adanya glutation sebagai kosubstrat dan enzim glutation reduktase untuk merestorasi glutation teroksidasi menjadi bentuk tereduksi (Sugianto 2011).

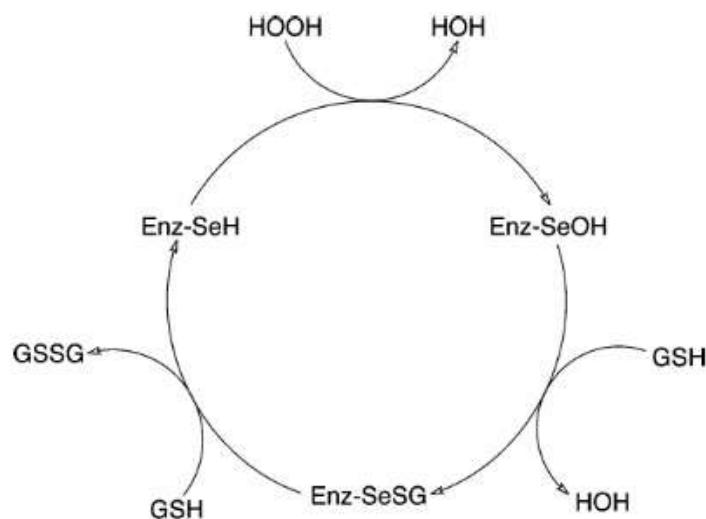
Glutation peroksidase termasuk dalam enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma, namun aktivitas dari enzim ini juga ditemukan dalam mitokondria dan jaringan lain. Enzim glutation peroksidase yang ditemukan dalam sitoplasma memiliki bentuk tetramer, dan mengandung selenosistein pada sisi aktifnya. Dalam sitoplasma enzim glutation peroksidase bekerja pada membran fosfolipid yang teroksidasi sehingga dikenal juga sebagai *hydroperoxide* glutation peroksidase. Enzim glutation peroksidase ini bersifat nukleofilik dan mudah terionisasi sehingga mengakibatkan terlepasnya proton (Sugianto 2011).

Aktivitas enzim glutation peroksidase juga ditemukan dalam mitokondria, plasma, dan saluran pencernaan. Konsentrasi GSH-Px tertinggi ditemukan di hepar dan eritrosit (Hastuti 2010). Aktivitas glutation peroksidase normalnya adalah 31 U/g (Lane *et al.* 1981).



Gambar 6 Struktur wilayah aktif glutation peroksidase (Prabhakar *et al.* 2005)

Reduksi hidrogen peroksida disertai dengan oksidasi dari selenol menjadi *selenic acid* (SeOH), *selenic acid* bereaksi dengan substrat GSH untuk memproduksi *seleno-sulfide adduct* (SeSG), kedua molekul GSH merangsang SeSG untuk beregenerasi aktif membentuk enzim (SeH) dan GSSG, proses katalis glutation peroksidase dapat dilihat pada Gambar 7 (Gavin *et al.* 2010).



Gambar 7 Siklus katalis GSH-Px (Gavin *et al.* 2010)

4. Polutan

Perkembangan teknologi membantu manusia dalam memudahkan segala urusan dalam berbagai bidang termasuk transportasi, namun disisi lain penggunaan kendaraan bermotor sebagai sarana transportasi menimbulkan dampak buruk terhadap lingkungan, terutama gas buang dari hasil pembakaran bahan bakar yang tidak terurai atau terbakar dengan sempurna. Salah satu zat pencemar udara yaitu logam berat timbal (Pb) dihasilkan dari pembakaran yang kurang sempurna pada mesin kendaraan (Gustina 2012).

Timbal atau sering disebut dengan timah hitam merupakan golongan IV A pada tabel periodik unsur yang mempunyai nomor atom (NA) 82 dengan berat sebesar (BA) 207.2. Timbal adalah suatu logam berwarna kebiru-biruan yang lunak, memiliki titik leleh 327 °C dan titik didih 1.620 °C. Timbal merupakan

hasil samping dari pembakaran yang berasal dari senyawa tetraetil-Pb yang ditambahkan dalam bahan bakar kendaraan bermotor. Fungsi timbal adalah sebagai anti ketuk pada mesin kendaraan bermotor, selain itu timbal juga berfungsi untuk meningkatkan angka oktan dalam produksi gasoline (Kurniawan 2008).

Jumlah Pb yang dibuang keudara melalui gas buangan kendaraan bermotor semakin meningkat dengan tingginya penggunaan sarana transportasi. Menurut Palar (2012), terdapat berbagai macam senyawa Pb yang terdapat dalam gas buang kendaraan bermotor.

Tabel 1 Kandungan Senyawa Pb dalam Gas Buangan Kendaraan Bermotor (Palar 2012).

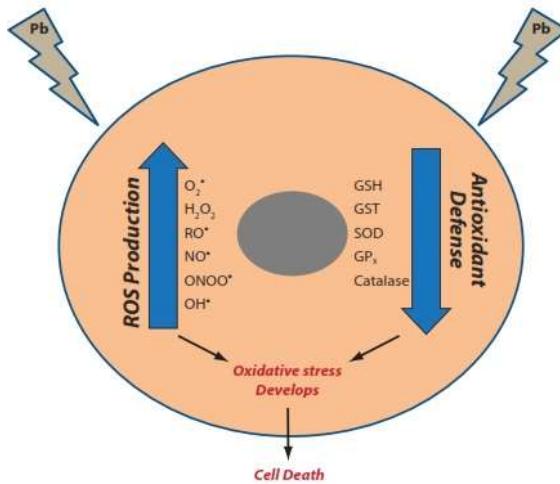
| Senyawa Pb (%) | 0 jam | 18 jam |
|-------------------------|-------|--------|
| PbBrCl | 32.0 | 12.0 |
| PbBrCl ₂ PbO | 31.4 | 1.6 |
| PbCl ₂ | 10.7 | 8.3 |
| Pb(OH)Cl | 7.7 | 7.2 |
| PbBr ₂ | 5.5 | 0.5 |
| PbCl ² PbO | 5.2 | 5.6 |
| Pb(OH)Br | 2.2 | 0.1 |
| PbOx | 2.2 | 21.2 |
| PbCO ³ | 1.2 | 13.8 |
| PbBr ² PbO | 1.1 | 0.1 |
| PbCO ₃ PbO | 1.0 | 29.6 |

Timbal (Pb) yang terhirup pada saat pernafasan masuk ke dalam pembuluh darah paru-paru. Timbal akan diabsorpsi melalui saluran napas dengan tiga proses

yaitu desposisi, pembersihan mukosiliar dan pembersihan alveolar. Deposisi dipengaruhi oleh ukuran partikel dari senyawa timbal, volume udara yang mampu dihirup pada saat bernafas dan daya larut. Semakin kecil ukuran partikel debu dan semakin besar volume udara yang mampu dihirup maka konsentrasi timbal yang diserap oleh tubuh akan semakin besar. Deposisi ini terletak pada nesofaring, saluran trakeobronkhial dan alveolus. Pembersihan mukosiliar membawa partikel ke faring kemudian ditelan. Partikel yang lebih besar lebih cepat dibersihkan daripada partikel yang kecil. Pembersihan alveolar berfungsi untuk membawa partikel ke eskalator mukosiliar, menembus lapisan jaringan paru dan menembus jaringan paru menuju kelenjar limfe dan aliran darah. Timbal yang diabsorpsi melalui saluran pernafasan akan masuk dalam aliran darah dan kemudian diedarkan keseluruh jaringan dan organ tubuh (Suciani 2007).

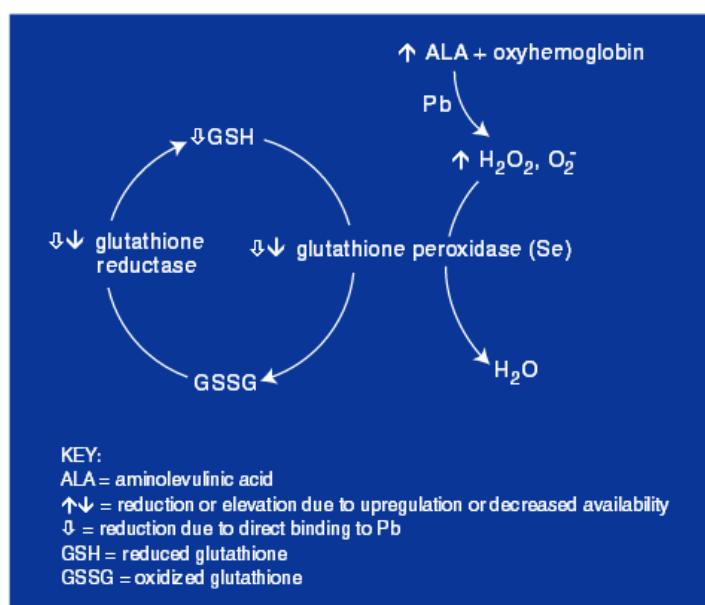
Senyawa Pb mempunyai sifat lipofilik yang menyebabkan Pb dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dengan cara berdifusi pasif melewati membran sel. Timbal (Pb) yang ada di dalam sel akan berinteraksi dengan komponen intra sel yang pada akhirnya akan menginduksi badan inklusi di dalam sel. Di dalam sel, senyawa Pb yang terakumulasi akan terdegradasi melepaskan ion Pb^{2+} (Aziz & Marianti 2014).

Timbal yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada beberapa molekul tubuh sehingga pada akhirnya beberapa fungsi tubuh akan terganggu. Kerusakan yang disebabkan oleh Pb dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas serta menurunkan produksi dan aktivitas antioksidan endogen (Gurer & Ercal 2000). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam reaksi reduksi oksidasi menimbulkan terjadinya stres oksidatif (Winarsi 2011). Pada gambar 8 menjelaskan mengenai jalur mekanisme toksitas Pb dalam menganggu sistem biologi tubuh yaitu dalam peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan. Menurut WHO konsentrasi normal timbal dalam darah berkisar antara 10 - 25 $\mu g/dl$ (Suciani 2007).



Gambar 8 Peningkatan ROS dan penurunan antioksidan endogen akibat Pb (Flora *et al.* 2012).

Timbal memiliki afinitas dan kereaktifan yang tinggi terhadap kompleks gugus sulfihidril. Glutation merupakan enzim terpenting sebagai antioksidan endogen yang memiliki kompleks gugus sulfihidril. Timbal yang berikatan dengan gugus sulfidril dapat menyebabkan glutation kehilangan fungsinya sebagai antioksidan (Flora *et al.* 2008). Gambar 9 menjelaskan terganggunya sintesis enzim glutation akibat timbal yang masuk ke dalam tubuh, sehingga menyebabkan sintesis enzim glutation menurun.



Gambar 9 Efek Timbal pada Metabolisme GSH (Patrick 2006).

Efek timbal terhadap enzim antioksidan glutation proksidase terjadi karena timbal memiliki reaktivitas yang tinggi terhadap selenium. Selenium merupakan salah satu komponen pada enzim glutation proksidase agar dapat berperan sebagai antioksidan. Tingginya konsentrasi timbal di dalam tubuh menyebabkan timbal berikatan dengan selenium, akibatnya selenium di dalam tubuh akan menurun. Ketidaktersediaannya selenium dalam glutation proksidase menyebabkan GPx tidak mampu berperan sebagai antioksidan (Ercal *et al.* 2001).

Timbal (Pb) yang masuk ke dalam sel mengakibatkan perubahan konsentrasi kalsium (Ca^{2+}) dan mengatur kalsium dalam proses biokimia tubuh. Timbal (Pb) meningkatkan kalsium intraseluler sehingga menstimulus enzim *nitric oxide synthase* untuk memproduksi *nitric oxide* yang ada di dalam sel (Kim *et al.* 2011). *Nitric oxide* berperan dalam dinding pembuluh darah yaitu dalam vasodilatasi endotelium, penghambatan aktivitas platelet dan proliferasi serta migrasi sel otot polos. Jika homoesitas NO terganggu akibat Pb di dalam darah maka vasodilatasi akan terganggu sehingga diameter endotelium tidak dapat melebar. Penyempitan endotelium akan memperparah keadaan aterosklerosis (Libby 2000).

5. Pencemaran Pb di Kota Semarang

Kota Semarang sebagai Ibukota Provinsi Jawa Tengah mengalami perkembangan dalam berbagai bidang seperti pada bidang industri, perdagangan, jasa, dan pendidikan. Hal ini menyebabkan adanya urbanisasi dan peningkatan jumlah penduduk yang mencapai 1.527.433 jiwa pada tahun 2010 dan mengalami peningkatan laju pertumbuhan 1.4% pertahunnya. Adanya peningkatan jumlah penduduk ini menyebabkan konsumsi bahan bakar untuk transportasi mengalami kenaikan (Sudalma & Purwanto 2012). Peningkatan konsumsi bahan bakar di Kota Semarang diimbangi dengan adanya sejumlah SPBU diberbagai wilayah di

Kota Semarang. Menurut Dinas Perindustrian dan Perdagangan Kota Semarang (2015) Kota Semarang memiliki 63 SPBU yang tersebar di seluruh wilayah Kota Semarang.

Dinas Perhubungan Komunikasi dan Informatika (Dishubkominfo) Semarang, mencatat kawasan jalan-jalan protokol selama lima tahun terakhir mengalami kemacetan yang sangat drastis. Antara volume kendaraan dengan kapasitas jalan sudah tidak sebanding. Seperti Jalan Kaligawe yang kapasitas jalannya hanya 5176,25 kendaraan, namun volumenya sudah mencapai 5750, 16 kendaraan per menit. Jalan yang ada sudah tidak mampu menampung jumlah kendaraan. Tidak hanya di Jl. kaligawe, Jl. Teuku Umur, Jl. Siliwangi, Jl. Sudirman, Jl. Walisongo, Jl Brigjen Sudiarto, Jl. Kompol Maksum, Jl Setiabudi juga mengalami peningkatan kapasitas yang drastis. Pertumbuhan jumlah kendaraan cukup pesat. Apalagi bila ditambah beban kendaraan dari luar kota. Diperkirakan setiap hari sebanyak 450 ribu orang masuk dan keluar Kota Semarang (Martuti 2011).

Menurut Sunoko *et al.* (2011), dari hasil pemantauan kadar Pb menunjukkan kadar tertinggi adalah $2,41 \mu\text{g}/\text{Nm}^3$, yaitu di daerah Perempatan Bangkong, dan keadaan ini adalah sesuai kondisi riil dilapangan bahwa arus transportasi daerah Bangkong padat dengan didominasi oleh kendaraan pribadi dan angkutan umum, serta posisi di dekat pusat kota (perlintasan menuju Simpang lima; jalan Majapahit dan jalan Dr. Cipto), sedangkan kadar Pb di Jl Kaligawe pada tahun 2013 sebesar $1,79 \mu\text{g}/\text{Nm}^3$. Sesuai PP No. 41 tahun 1999 tentang pengendalian pencemaran udara, nilai baku mutu Pb di udara 24 jam adalah sebesar $2 \mu\text{g}/\text{Nm}^3$ dan untuk satu tahun adalah sebesar $1 \mu\text{g}/\text{Nm}^3$, kadar Pb di Jl kaligawe Semarang masih dibawah nilai baku mutu pada tahun 2011, namun dari waktu ke waktu perlu diperhatikan karena kandungan Pb udara bersifat akumulatif.

Penelitian pencemaran timbal di lingkungan udara wilayah Semarang telah dilakukan Martuti (2011) dalam penelitian tersebut ditemukan bahwa kadar Pb

wilayah Tambaklorok Kecamatan Semarang utara, pada musim kemarau rata-rata $8,41 \mu\text{g}/\text{m}^3$ melampaui nilai ambang baku mutu lingkungan yang diterapkan oleh pemerintah.

6. Kerangka Teori

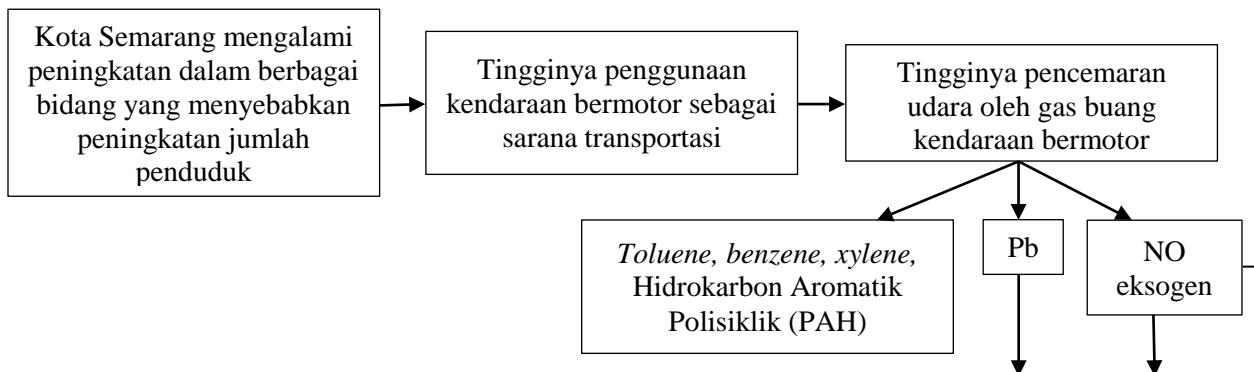
Gas buang kendaraan bermotor mengandung senyawa yang dapat meningkatkan oksidan dalam tubuh seperti *toluene*, *benzene*, *xylene* dan hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) serta logam berat seperti timbal (Pb) (Saxena & Chirashree 2012). *Nitric oxide* eksogen merupakan salah satu gas pencemar udara yang berasal dari gas buang kendaraan bermotor (Basri 2010). *Nitric oxide* eksogen merupakan pencemar udara yang dapat masuk dalam tubuh dengan cara inhalasi yaitu masuknya bahan pencemar udara ke dalam tubuh manusia melalui sistem pernafasan. NO yang masuk dalam tubuh dapat mengganggu saluran pernafasan, selain itu NO ini kemudian akan masuk dalam peredaran darah dan menimbulkan gangguan pada alat tubuh lain (Budiono 2001).

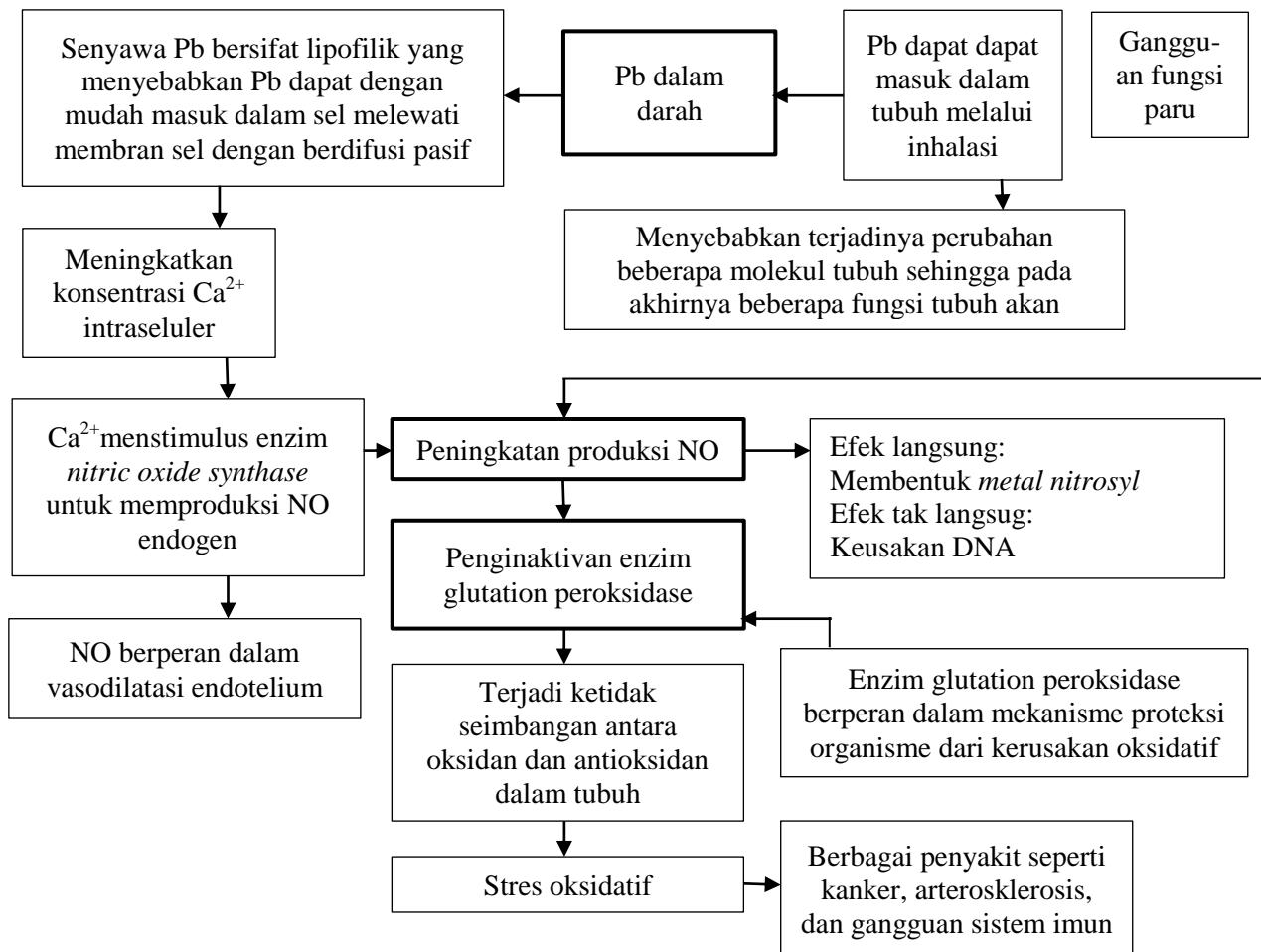
Timbal (Pb) yang masuk ke dalam sel mengakibatkan perubahan konsentrasi kalsium (Ca^{2+}) dan mengatur kalsium dalam proses biokimia tubuh. Timbal (Pb) meningkatkan kalsium intraseluler sehingga menstimulus enzim *nitric oxide synthase* untuk memproduksi *nitric oxide* yang ada di dalam tubuh (Kim *et al.* 2011).

Nitric oxide endogen (NO) di sintesis dari *L-Arginin* oleh *Nitric Oxide Syntase* (NOS) dan kofaktor (Gunawijaya & P Arhana 2000). Tingginya *nitric oxide* di dalam tubuh dapat mengakibatkan inaktivasi enzim glutation peroksidase yang merupakan antioksidan endogen, inaktivasi ini diinsuksi dengan ikatan langsung antara *nitric oxide* dengan residu asam amino yang ada dalam molekul enzim glutation peroksidase (Asahi *et al.* 1995).

Glutation peroksidase merupakan suatu enzim yang berperan dalam mekanisme proteksi terhadap organisme dari kerusakan oksidatif, enzim ini mengandung selenium (Se) pada bagian sisi aktifnya. Kerja dari enzim glutation peroksidase adalah dengan mengubah molekul hidrogen peroksid (H₂O₂) yang dihasilkan oleh Superokida Dimutase (SOD) dan berbagai hidro serta lipid peroksid menjadi air (Suganto 2011).

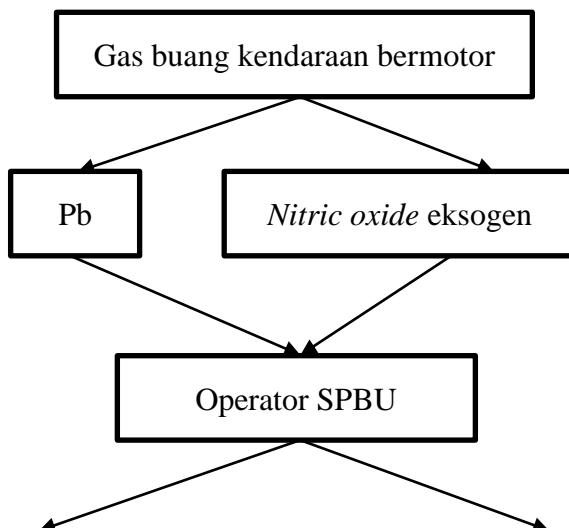
Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam reaksi reduksi oksidasi menimbulkan terjadinya stres oksidatif (Winarsi 2011). Akibat stres oksidatif menimbulkan kerusakan biomolekul dan dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti hiperglikemia, kanker, aterosklerosis, endokrin, sendi, terganggunya sistem imunitas, dan sistem saraf (Kunwar & Priyadarsini 2011). Kerangka teori dapat dilihat secara skematis yang disajikan pada gambar 10.

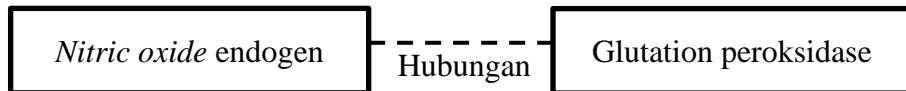




Gambar 10 Kerangka teori hubungan glutation peroksidase dengan *nitric oxide* dalam darah operator SPBU di Semarang

7. Kerangka Konsep





Gambar 11 Kerangka konsep hubungan glutation peroksidase dengan *nitric oxide* dalam darah operator SPBU di Semarang

B. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Terdapat adanya hubungan antara kadar *nitric oxide* dengan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di SPBU Kota Semarang. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Biomolekular Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang, Pengukuran kadar *nitric oxide*, aktivitas glutation peroksidase dan kadar Pb dilakukan di Laboratorium PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Waktu penelitian dilaksanakan selama 5 bulan.

B. Populasi dan Sampel

a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh operator SPBU di Kota Semarang.

b. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah operator SPBU di Kota Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia ikut penelitian ini serta menandatangani *informed consent*. Kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu lama masa kerja ≥ 5 tahun dan pria atau wanita yang memiliki kisaran umur antara 20-50 tahun. Penentuan SPBU menggunakan metode *purposive sampling* yaitu SPBU yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 sampel yang diambil dari 5 SPBU di kota Semarang yang berlokasi di Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu), Jl. Kaligawe (Sidomuncul), COCO Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron), Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan), dan Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo). Menurut Martuti (2011), jalan-jalan protokol selama lima tahun terakhir mengalami kemacetan yang sangat drastis. Jalan yang ada sudah tidak mampu menampung jumlah kendaraan. diantaranya adalah Jl. kaligawe, Jl. Teuku

Umur, Jl. Siliwangi, Jl. Sudirman, Jl. Walisongo, Jl Brigjen Sudiarto, Jl. Kompol Maksum, Jl Setiabudi.

C. Variabel

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kadar *nitric oxide*.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas glutation peroksidase.

D. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan penelitian analitik observasional dengan rancangan potong lintang (*cross sectional study*), yaitu melakukan pengukuran atau pengamatan pada saat bersamaan atau sekali waktu (Sudijo & Sofyan 2011). Data yang diperoleh diuji menggunakan analisis korelasi untuk melihat hubungan antar variabel. Dalam penelitian ini akan dilihat adanya hubungan antara kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di kota Semarang.

E. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat

Tabel 2. Alat penelitian

| No | Tahapan Kegiatan | Alat |
|----|--------------------------|--|
| 1. | Pengambilan sampel darah | Spuit 5 cc (One Med) <i>Tube</i> (Extra gene) <i>Cool Box</i> (Teknis) <i>Glove</i> (Sensi glove) |
| 2. | Pemisahan serum darah | <i>Centrifuge</i> (Hettich zentrifugen) Mikropipet (Biohit) Tip (Extra gene) <i>Freezer -4 °C</i> (SHARP) |
| 3. | Pengukuran Kadar Pb | Spektrofotometri serapan atom (Analytik Jena) |

| | | |
|----|--|---|
| 4. | Pengukuran kadar <i>nitric oxide</i> | Tabung volumetric 10 mL (Pyrex) <i>Microplate Reader</i> (Labtech) <i>Well plate</i> (Merck) <i>Incubator</i> (Memmert) |
| 5. | Pengukuran aktivitas glutation peroksidase | Spektofotometer (Zenix) Kuvet (UniversalLAB) |

b. Bahan

Tabel 3. Bahan penelitian

| No | Tahapan Kegiatan | Bahan |
|----|--|--|
| 1. | Pengambilan sampel darah | Kapas alkohol steril (Oneswabs) Plaster (Plesterin) |
| 2. | Pengukuran kadar Pb | Triton X-100 (TX) (Merck) Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate (Merck) Methyl Isobutyl Ketone (MIBK) (Merck) Air deionisasi (Teknis) Standard Conditions (Merck) |
| 3. | Pengukuran kadar <i>nitric oxide</i> | Kit (Qayee-Bio) |
| 4. | Pengukuran aktivitas glutation peroksidase | Kit (Randox) |

F. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah Operator SPBU dilakukan di SPBU Kota Semarang yang berlokasi di Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu), Jl. Kaligawe (Sidomuncul), COCO Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron), Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan) dan Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo). Sampel darah diambil sebanyak \pm 5 ml dari vena median cubital dengan menggunakan *spuit* 5 cc dan dipindah ke dalam 4 *tube*, 3 *tube* sebagai whole blood untuk pengukuran kadar Pb dan 1 *tube* digunakan untuk pengukuran kadar *nitric oxide* dan glutation peroksidase .

2. Pengukuran Pb

Metode yang digunakan dalam pengukuran timbal adalah metode Perkin Elmer (1982). Sampel darah (*whole blood*) sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam 10 mL labu volumetrik, kemudian ditambah 0,5 mL Titron X-100 (TX) 10% dan 0,5 mL *Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate* (APDC) 2%. Mengaduk larutan yang telah dicampur. Menambah 0,75 mL MIBK (*water saturated*), kocok selama 5 menit dan kemudian ditambah 0,5 mL air dionisasi. Sampel darah di sentrifus dengan kecepatan 700 g selama 10 menit. Larutan standar yang digunakan disebut “*Standard Conditions*” untuk timbal, sedangkan blanko yang digunakan yaitu air deionisasi. Preparasi yang digunakan untuk membuat larutan standar dan larutan blanko sama dengan preparasi yang digunakan untuk sampel darah, kecuali untuk larutan standar dilakukan sentrifus selama 20 menit. Kandungan timbal dalam darah dibaca menggunakan *Atomic Absorbtion Spectrophotometry* (AAS) dengan panjang gelombang 283,3 nm.

3. Pemisahan Serum Darah

Pembuatan serum dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang. Sampel darah *disentrifuge* dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit, supernatan diambil dan dipindah dalam *tube* yang baru kemudian disimpan dalam *frezzer* -4 °C.

4. Pengukuran Kadar Nitric Oxide

Pengukuran kadar *nitric oxide* dilaksanakan di Laboratorium PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Alat yang digunakan *microplate reader*. Sampel, standar, dan HRP-Conjugate reagent ditambahkan dalam *well plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 60 menit. *Well plate* dicuci sebanyak lima kali menggunakan *wash solution*. *Chromogen solution A* dan *chromogen solution B* ditambahkan dalam *well plate*, kemudian diinkubasi

selama 10 menit pada suhu 37 °C. *Stop solution* ditambahkan dan diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

5. Pengukuran Aktivitas Glutation Peroksidase

Pengukuran aktivitas glutation peroksidase dilaksanakan di Laboratorium PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Alat yang digunakan yaitu spektofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

Tabel 4 Prosedur pengukuran aktivitas glutation peroksidase

| Semi mikro | | |
|-----------------------|---------|---------|
| Sampel | Sampel | Blanko |
| Sampel | 0.02 ml | - |
| Air Destilasi | - | 0.02 ml |
| Reagen | 1.00 ml | 1.00 ml |
| Cumene Hydroperoksida | 0.04 ml | 0.04 ml |

Mencampurkan, membaca absorbansi dari larutan.

Penghitungan aktivitas glutation peroksidase

$$\text{U/l of haemolysate} = 8412 \times \Delta A \text{ 340 nm/menit}$$

G. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan cara pengambilan sampel darah pada operator SPBU di Kota Semarang. Sampel darah kemudian diukur kadar *nitric oxide*, aktivitas glutation peroksidase dan kadar Pb di Laboratorium PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Data yang telah di dapat kemudian dimasukkan sedalam tabel berikut.

Tabel 5. Hasil pengukuran kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase

| No | SPBU | Kode Sampel | Kadar NOx | Aktivitas GSH-Px |
|----|---------------------------------------|-------------|-----------|------------------|
| 1. | Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu) | | | |
| 2. | Jl. Kaligawe (Sidomuncul) | | | |
| 3. | COCO Jl. Brigjen Sudiarto (penggaron) | | | |
| 4. | Jl. Brigjen Sudiarto | | | |

-
- (pedurungan)
5. Jl. Brigjen Sudiarto
(sendangguwo)
-

H. Analisis Data

Analisis data menggunakan *SPSS* versi 23. Analisis deskriptif statistik dilakukan untuk mengetahui sebaran data seperti mean dan standar deviasi. Selanjutnya untuk mengetahui normalitas dilakukan uji *Shapiro-Wilk*. Bila distribusi data normal ($p>0,05$) hubungan kadar *nitric oxide* dan glutation peroksidase diuji menggunakan uji korelasi *r-Pearson*, namun apabila data tidak normal ($p<0,05$) diuji menggunakan uji korelasi *r-Spearman* (Dahlan 2011).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan pada tahun 2015 di 5 SPBU Kota Semarang. Lokasi SPBU tersebut antara lain di Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu), Jl. Kaligawe (Sidomuncul), COCO Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron), Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan), dan Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo). Semua responden telah menyetujui untuk mengikuti penelitian dan memenuhi kriteria inklusi yang ditentukan. Responden yang mengikuti penelitian berada dalam keadaan sehat, berumur dalam kisaran 20-50 tahun serta telah bekerja sebagai operator SPBU lebih dari sama dengan 5 tahun lama bekerja menjadi kriteria inklusi karena semakin lama masa kerja responden sebagai operator SPBU maka semakin lama responden terpapar oleh polutan yang berasal dari gas buang kendaraan bermotor. Sampel darah diambil siang hari pada saat waktu istirahat yaitu dalam kisaran pukul 13.00 WIB. Jumlah operator SPBU yang mengikuti penelitian ini sebanyak 24 yang berasal dari 5 SPBU.

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah responden (operator SPBU di Kota Semarang) di laboratorium PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta diperoleh rerata kadar NO sebesar 2,3962 mmol/l dan rerata aktivitas glutation peroksidase adalah 74,2096 U/g. Selanjutnya data kadar NO dan aktivitas glutation peroksidase akan dianalisis statistik menggunakan program SPSS versi 23. Data hasil analisis deskriptif statistik disajikan pada tabel 6.

Tabel 6 Kadar *nitric oxide* dan kadar glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang

| Indikator | Kadar tertinggi | Kadar terendah | Rata-rata (n=24) |
|-----------------------------|-----------------|----------------|------------------|
| Nitric oxide (mmol/L) | 7,01 | 1,07 | 2,3962 |
| Glutation peroksidase (U/g) | 81,03 | 69,14 | 74,2096 |

Berdasarkan data yang telah dianalisis statistik diperoleh rerata kadar NO sebesar 2,3962 mmol/l, sedangkan pada data Luiking *et al.* (2010) menyatakan

bawa kadar normal *nitric oxide* berkisar antara 0,15-2,2 $\mu\text{mol/kg}$. Dengan demikian kadar NO dalam darah responden berada di atas normal. Data tersebut menunjukkan rerata aktivitas glutation peroksidase dalam darah responden sebesar 74,2096 U/g. Menurut Lane *et al.* (1981) aktivitas normal glutation peroksidase adalah 31 U/g, sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas glutation peroksidase dalam darah responden berada di atas normal.

Berdasarkan data yang diperoleh dapat dikelompokkan berdasarkan tempat pengambilan sampel yaitu pada tiap SPBU disajikan pada tabel 7.

Tabel 7 Rerata kadar Pb, kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator pada lima sampel SPBU

| SPBU | Rerata Kadar NO (mmol/l) | Rerata aktivitas Glutation peroksidase (U/g) | Rerata kadar Pb ($\mu\text{g/dl}$) |
|--------------------------------------|--------------------------|--|--------------------------------------|
| Jl Woltermonginsidi (Bangetayu) | 2,3525 | 75,0925 | 60,105 |
| Jl Kaligawe (Sidomuncul) | 1,86232 | 73,36 | 59,58 |
| COCO Jl Brigjen Sudiarto (Penggaron) | 1,855 | 74,375 | - |
| Jl Brigjen Sudiarto (Pedurungan) | 6,675 | 80,315 | - |
| Jl Brigjen Sudiarto (Sendangguwo) | 2,01429 | 73,00571 | - |

Berdasarkan hasil tersebut kadar NO dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator pada setiap SPBU berada di atas normal. Kadar Pb pada operator SPBU Jl woltermonginsidi dan Jl Kaligawe sebesar 60,105 $\mu\text{g/dl}$ dan 59,58 $\mu\text{g/dl}$, sedangkan menurut WHO (1995) konsentrasi normal timbal dalam darah berkisar antara 10-25 $\mu\text{g/dl}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar Pb berada diatas normal.

Hasil analisis normalitas *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa kadar *nitric oxide* tidak terdistribusi normal, sedangkan kadar glutation peroksidase terdistribusi normal. Hubungan korelasi dari kedua variabel tersebut diuji menggunakan uji *r-Spearman*.

Tabel 8 Korelasi kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang

| Korelasi <i>r-Spearman</i> | Koefisien korelasi (<i>r</i>) | Signifikansi |
|---|------------------------------------|--------------|
| Kadar <i>nitric oxide</i> dan aktivitas glutation peroksidase | 0.797 | 0.00 |

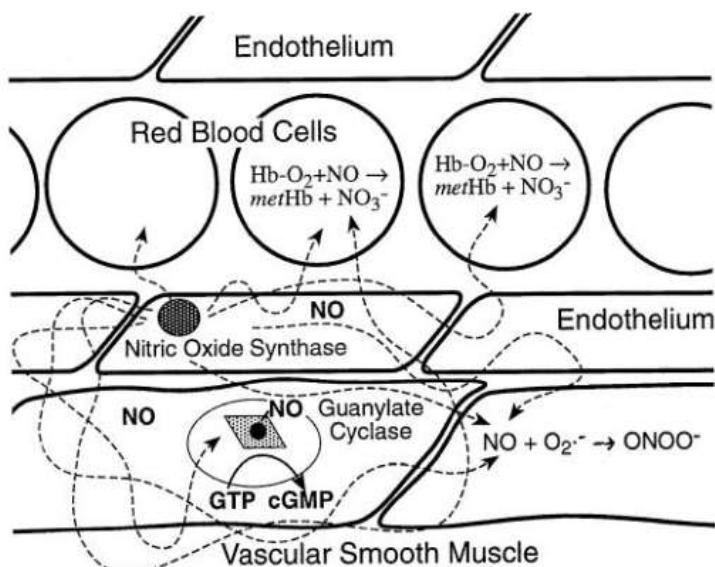
Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase memiliki hubungan yang signifikan dengan taraf signifikansi sebesar 0,00 atau lebih kecil dari 0,05 ($p<0,05$). Hasil analisis korelasi *r-Spearman* menunjukkan bahwa terdapat hubungan korelasi positif antara kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang dengan koefisien korelasi sebesar $r = 0,797$. Nilai *r* tersebut mencerminkan terdapat hubungan korelasi yang kuat antara kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Kota Semarang. Korelasi positif menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar *nitric oxide* maka semakin tinggi pula aktivitas glutation peroksidase.

B. Pembahasan

SPBU merupakan tempat pengisian bahan bakar bagi kendaraan bermotor sehingga sering dikunjungi dan dilalui oleh kendaraan bermotor yang menyebabkan SPBU memiliki potensi besar sebagai tempat yang tercemar oleh timbal yang berasal dari gas buang kendaraan bermotor. Operator SPBU memiliki risiko besar terhadap pencemaran gas buang kendaraan bermotor karena kesehariannya sering melakukan kontak dengan kendaraan bermotor sehingga operator SPBU merupakan subjek yang tepat dalam penelitian ini.

Paparan senyawa kimia dalam gas buang kendaraan bermotor seperti timbal (Pb) dapat masuk dalam tubuh operator SPBU dan masuk ke dalam sel mengakibatkan peningkatkan Ca^{2+} yang dapat menstimulus enzim *nitric oxide synthase* untuk memproduksi *nitric oxide* yang ada di dalam sel (Kim *et al.* 2011).

Nitric oxide (NO) disintesis dari *L-Arginin* oleh enzim *nitric oxide syntase* dan kofaktor. Proses pembentukan NO melalui constitutive NOS (cNOS) yaitu Ca^{2+} masuk ke dalam sel membentuk kompleks dengan calmodulin (CM) yang terikat di cNOS sehingga menyebabkan aktifasi cNOS (Gunawijaya & P Arhana 2000). Peningkatan komponen intraseluler dalam sel menyebabkan NO yang di produksi dalam sel endotelium akan terdifusi keluar dengan cepat. NO terdifusi ke luar dalam aliran darah dan masuk dalam sel darah merah maka NO akan bereaksi dengan oksihemoglobin membentuk nitrat (Beckman & Koppenol 1996).



Gambar 12 Difusi NO dari dalam sel menuju aliran darah (Beckman & Koppenol 1996).

Timbal merupakan senyawa logam berat yang banyak ditemukan dalam gas buang asap kendaraan bermotor. Emisi timbal dari gas buang asap kendaraan bermotor mempunyai dampak negatif, baik terhadap lingkungan maupun kesehatan manusia (Ati & Murbawani 2014).

Timbal yang masuk kedalam tubuh bersifat sebagai radikal bebas, tingginya radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan peningkatan penggunaan antioksidan endogen, sehingga kadar antioksidan endogen dalam tubuh mengalami

penurunan. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam reaksi reduksi oksidasi menimbulkan terjadinya stres oksidatif (Winarsi 2011).

Stres oksidatif juga meningkatkan proliferasi dan transformasi sel-sel otot polos pembuluh darah (Fujiwara *et al.* 1995) dan mengganggu homeostasis NO (Ding *et al.* 1998). NO berperan dalam dinding pembuluh darah yaitu dalam vasodilatasi endotelium, penghambatan aktivitas platelet dan proliferasi serta migrasi sel otot polos. Jika homoseitas NO terganggu akibat Pb di dalam darah maka vasodilatasi akan terganggu sehingga diameter endotelium tidak dapat melebar. Penyempitan endotelium akan memperparah keadaan aterosklerosis (Libby 2000).

Menurut Yuniastuti (2016; belum dipublikasikan) rerata kandungan logam berat Pb pada sampel darah operator SPBU di wilayah Kota Semarang sebesar 56,29 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Kadar timbal (Pb) darah operator SPBU kota Semarang tergolong tinggi karena telah melampaui ambang batas yang ditetapkan WHO (1995) yaitu sebesar 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Ditinjau dari setiap SPBU rerata Pb di SPBU Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu) adalah 60,105 $\mu\text{g}/\text{dl}$, sedangkan rerata Pb di SPBU Jl. Kaligawe (Sidomuncul) adalah 59,58 $\mu\text{g}/\text{dl}$, hasil tersebut menunjukkan kadar Pb dalam darah operator SPBU Jl. Woltermonginsidi dan SPBU Jl Kaligawe berada diatas normal. Palar (2012) menyatakan peningkatan Pb darah diakibatkan oleh keterpaparan Pb udara, ini dikarenakan Pb yang masuk ke dalam darah melalui saluran pernafasan, kulit dan ingesti akan terakumulasi 95% ke darah dan absorpsi Pb terbesar ialah melalui pernafasan sehingga Pb di udara menyumbangkan sebagian besar Pb di dalam darah (Palar 2012). Tingginya kadar Pb menyebabkan peningkatan Ca^{2+} yang dapat menstimulus enzim *nitric oxide synthase* untuk memproduksi NO di dalam sel, sehingga NO yang di produksi dalam sel akan terdifusi ke luar dalam darah.

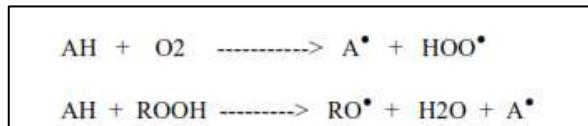
Penelitian ini menunjukkan rerata kadar NO dalam darah operator SPBU di Kota Semarang adalah 2,3962 mmol/l, sedangkan kadar normal NO dalam tubuh berkisar antara 0,15-2,2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (Luiking *et al.* 2010). Hasil tersebut menunjukkan kadar NO dalam darah operator SPBU di Kota Semarang berada di atas normal, rerata kadar NO pada setiap SPBU yang diteliti juga menunjukkan kadar NO dalam

darah operator SPBU berada diatas normal. Tingginya kadar Pb berhubungan dengan tingginya kadar NO dalam darah operator SPBU, bila kadar NO di dalam darah tinggi maka diduga NO yang berada di dalam sel rendah sehingga NO yang berada di dalam sel tidak menikatifikasi glutation peroksidase.

Tingginya kadar NO dalam darah selain karena dipengaruhi oleh tingginya kadar Pb dalam darah operator SPBU diduga juga di pengaruhi akibat adanya paparan *nitric oxide* eksogen yang bersumber dari gas buang kendaraan bermotor. *Nitric oxide* eksogen merupakan pencemar udara yang dapat masuk dalam tubuh dengan cara inhalasi yaitu masuknya bahan pencemar udara ke dalam tubuh manusia melalui sistem pernafasan. NO eksogen yang masuk dalam tubuh dapat mengganggu saluran pernafasan, selain itu NO eksogen ini dapat masuk dalam aliran darah menimbulkan gangguan pada alat tubuh lain (Basri 2010).

Glutation peroksidase merupakan suatu antioksidan endogen yang berperan dalam mencegah pembentukan senyawa radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul reaktif. Enzim glutation peroksidase berperan dalam mengubah H_2O_2 yang dihasilkan oleh superokida dismutase menjadi bentuk air (Sugianto 2011). Hasil penelitian rerata aktivitas enzim glutation peroksidase dalam tubuh adalah 74,2096 U/g, sedangkan umumnya aktivitas enzim glutation peroksidase dalam tubuh adalah 31 U/g (Lane *et al.* 1981). Hasil tersebut menunjukkan tingginya aktivitas enzim glutation peroksidase dalam operator SPBU di Semarang.

Berdasarkan hasil penelitian kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Semarang adalah di atas normal. Aktivitas enzim glutation peroksidase yang berada di atas normal menunjukkan adanya peningkatan enzim glutation peroksidase, sehingga menyebabkan enzim glutation peroksidase yang semula merupakan antioksidan dapat kehilangan fungsinya atau berubah menjadi prooksidan. Gordon (1993) menyatakan bahwa pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 13).



Gambar 13 Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon 1990).

Berdasarkan hasil penelitian kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang maka dapat diketahui bahwa hipotesis diterima yaitu terdapat hubungan antara kadar *nitric oxide* dengan aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang, bahwa semakin tinggi kadar *nitric oxide* maka semakin tinggi pula aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang.

C. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah pada saat pengambilan dan proses preparasi sampel terjadi kerusakan yang menyebabkan sampel tidak dapat dianalisis, sehingga dalam penelitian selanjutnya perlu penambahan sampel dan berhati-hati saat membawa sampel menuju laboratorium untuk dipreparasi. Selain hal tersebut, pada penelitian ini tidak diukur kadar Pb pada operator di tiga SPBU yaitu Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron), Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan), dan Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo), dikarenakan sampel yang diambil tidak mencukupi untuk dianalisis kadar Pb, sehingga perlu adanya pengukuran kadar Pb di SPBU tersebut.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Terdapat hubungan antara *nitric oxide* dengan glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Semarang yaitu semakin tinggi kadar *nitric oxide* maka semakin tinggi pula aktivitas glutation peroksidase dalam darah operator SPBU di Kota Semarang.

B. Saran

1. Perlu adanya penambahan jumlah sampel untuk mencegah terjadinya kekurangan sampel akibat dari kerusakan sampel.
2. Berhati-hati saat membawa sampel menuju laboratorium untuk dipreparasi.
3. Perlu dilakukannya penelitian terkait kadar Pb dalam darah operator SPBU di Kota Semarang dengan penentuan titik SPBU lebih banyak dan menyebar.

DAFTAR PUSTAKA

- Asahi M, Fujii J, Suzuki K, Seo HG, Kuyuza T, Hori M, Tada M, Fujii S & Tanaguchi N. 1995. Inactivation of glutathione peroxidase by nitric oxide. *The Journal of Biological Chemistry* 270(36): 21035-21039
- Astuti S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13(2): 126-136
- Ati PW & Murbawani EA. 2014. Hubungan kecukupan asupan zat besi dan kadar timbal darah dengan kadar hemoglobin anak jalanan usia kurang dari 8 tahun di kawasan Pasar Johar Semarang. *Journal of Nutrition College* 3(4): 530-537
- Aziz RA & Marianti A. 2014. Efek paparan kronik timbal (Pb) per oral pada struktur histopatologik lambung tikus putih. *Unnes J Life Sci* 3(2): 87-92
- Basri I. 2010. Pencemaran udara dalam antisipasi teknis pengelolaan sumberdaya lingkungan. *Jurnal Smartek* 8(2): 120-129
- Beckman JS & Koppenol WH. 1996. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Invited review*: 1424-1437
- Boucher J, Moali C & Tenu J. 1999. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol Life Sci* 55:1015-1028
- Budiono Afif. 2001. Pencemaran udara: dampak pencemaran udara pada lingkungan. *Berita Dirganta* 2(1): 21-27
- Choudari S, Chaudhary M, Bagde S, Gadbail A & Joshi V. 2013. Nitric oxide and cancer: a review. *World Journal of Surgical Oncology* 11: 1-11
- Dahlan MS. 2011. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: deskriptif, bivariate dan multivariate dilengkapi aplikasi dengan menggunakan SPSS*. Jakarta: Salemba Medika
- Dewi S & Budiyanti T. 2010. Pengaruh campuran kadar kerosin dalam premium terhadap emisi gas sulfur oksida dan nitrogen oksida pada kendaraan bermotor. *Jurnal Ilmiah Fakultas Teknik Limit's* 6(2): 1-7
- Dinas Perindustrian dan Perdagangan Kota Semarang. 2015. Daftar SPBU Kota Semarang. On line at <http://www.dinperindag.semarangkota.go.id/>. [12 April 2015]

- Ding Y, Vaziri ND & Gonick HC. 1998. Lead-induced hypertension. II. Response to sequential infusions of laeginine, superoxide dismutase, and nitroprusside. *Environmental Research* 76(2): 107-113
- Ercal N, Orhan HG & Burrs NA. 2001. Toxic metals and oxidative stress Part I: mechanism involved in metal induced oxidative damage. *Journal of Current Topic in Medicinal Chemistry* 1: 529-539
- Flora G, Deepesh G & Archana T. 2012. Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdiscip toxicol* 5(2): 47-58
- Flora S, Mittal M & Mehta A. 2008. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res* 128(1): 501-523
- Fujiwara Y, Kaji T, Yamamoto C, Sakamoto M & Kozuka H. 1995. Stimulatory effect of lead on the proliferation of cultured vascular smooth-muscle cells. *Toxicology* 98: 105-110
- Gavin S, C Heverly & B Russell. 2010. Reduction of hydrogen peroxide by glutathionine peroxidase mimics: reaction mechanism and energetics. *J Phys Chem* 114: 1996-2000
- Gitawati R. 1995. Radikal bebas sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. Dalam: Astuti S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13(2): 126-136
- Gordon M H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. *Food Antioxidants*: 1-18
- Gunawijaya E & P Arhana. 2000. Peran nitrogen oksida pada infeksi. *Sari Pediatri* 2(2):113-119
- Gurer H & Ercal N. 2000. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning?. *Free Radical Biology & Medicine* 29(10): 927-945
- Gustina Dessy. Pencemaran logam berat timbal (Pb) di udara dan upaya penghapusan bensin bertimbal. *Berita Dirgantara* 13(3): 95-101
- Habib S & Ali A. 2011. Biochemistry of nitric oxide. *Ind J Clin Biochem* 26(1):3-17
- Halliwell B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141: 312-322

- Hastuti R. 2010. Aktivitas enzim glutation peroksidase dan jumlah eritrosit penderita diabetes melitus tipe 2 yang mendapat suplemen susu protein kecambah kedelai. (*Tesis*). Surakarta: Universitas Jenderal Soedirman
- Jaya F. 2014. Adsorpsi emisi gas CO, NO, dan NOx menggunakan karbon aktif dari limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) pada kendaraan bermotor roda empat. (*Skripsi*). Makassar: Universitas Hasanuddin
- Kim Samki, Hyun Jiyoung, Kim Hyunji, Kim Younghée, Kim Eunju, Jang Jungae & Kim Kisok. 2011. Effects of lead exposure on nitric oxide-associated gene expression in the olfactory bulb of mice. *Biol Trace ElemRes* 142:683 -692
- Kunwar A & Priyadarsini. 2011. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J Med Allied Sci* 1(2): 53-60
- Kurniawan Wahyu. 2008. Hubungan kadar Pb dalam darah dengan profil darag pada mekanik kendaraan bermotor di kota pontianak. (*Tesis*). Semarang: Universitas Diponegoro
- Lane H W, Stanley D & Doris C W. 1981. Blood selenium levels and glutathione peroxidase activities in university and chronic intravenous hyperalimentation subjects. *Biology and Medicine* 167: 383-390
- Latif R. 2006. Hubungan lama bekerja dengan kapasitas vital paru operator SPBU Sampangan Semarang. (*Skripsi*). Semarang: Universitas Negeri Semarang
- Libby P. 2000. Changing concepts of atherogenesis. *Journal of Internal Medicine* 247: 349-358
- Luiking Y, Marlelle P & Nicolaas E. 2010. Regulation of nitric oxide production in health and disease. *NIH Public Acces* 13(1):97-104
- Lundberg J & Eddie W. 2005. NO generation from nitrite and its role in vascular control. *Arteroscler Thromb Vasc Biol* 25: 915-922
- Martuti NKT. (2011). Tingkat Kualitas Udara di Jalan Protokol Kota Semarang. *Laporan Penelitian*. Semarang: Lembaga Penelitian dan Pengabdian UNNES
- Omer N, Rohilla Ankur, Rohilla Seema & Kushnoor Ashok. 2012. Nitric oxide: role in human biology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 4(2):105-109
- Palar. 2012. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat Edisi Keempat*. Jakarta: Rineka Cipta

- Panjaitan T, Budhi P & Leenawaty L. 2010. Peranan karotenoid alami dalam menangkal radikal bebas di dalam tubuh. (*Artikel*). Universitas Sumatera Utara
- Patrick L. 2006. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alt Med Rev* 11(2): 114-127
- Prabhakar R, V Thom, M Keiji& M Djamaladdin. 2005. Elucidation of the mechanism of selenoprotein glutathionine peroksidase (GPx)-catalyzed hydrogen peroxide reduction by two glutathionine molecules: a density functional study. *Biochemistry* 44: 11864-11871
- Saxena P & Chirashree G. 2012. A review of assessment of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) concentration in urban atmosphere of delhi. *International Journal of The Physical Sciences* 7(6): 850-860
- Setiawan B & Eko S. 2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Maj Kedokt Indon* 55(2): 86-91
- _____. 2007. Peroksidasi lipid dan penyakit terkait stres oksidatif pada bayi rematur. *Maj Kedokt Indon* 57(1): 10-14
- Suarsana I, Wresdiyati T, dan Suprayogi A. 2013. Respon stres oksidatif dan pemberian isoflavon terhadap aktivitas enzim superoksid dismutase dan peroksidasi lipid pada hati tikus. *JITV* 18(2): 146-152
- Suciani S. 2007. Kadar timbal dalam darah polisi lalu lintas dan hubungannya dengan kadar hemoglobin. (*Tesis*). Semarang: Universitas Diponegoro
- Sudalma & Purwanto. 2012. Analisis sifat hujan asam di kota semarang. Dalam: Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Semarang. 11 September 2012
- Sudigjo S dan I Sofyan. 2011. *Metodologi penelitian klinis edisi ke 4*. Jakarta: Sagong Seto
- Sugianto N. 2011. Pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar glutation peroksidase darah pada mencit (*Mus musculus*) dengan aktivitas fisik maksimal. (*Tesis*). Denpasar: Universitas Udayana
- Sugiyanto. 2010. Peran Glutation sebagai master of antioksidan. *Biomedis* 1(1)

- Sunoko HR, Hadiyanto A & Santoso B. 2011. Dampak aktivitas transportasi terhadap kandungan timbal (Pb) dalam udara ambient di kota semarang. *Bioma* 1(2): 105-112
- Utami B. 2011. Oksida Nitrogen (NO dan NO₂). On line at <http://www.chem-is-try.org/>. [5 April 2015]
- Wardhana & Wisnu A. 2004. *Dampak PencemaranLingkungan*. Yogyakarta: Penerbit Andi Offset
- Wedhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* 3(2): 59-68
- [WHO] World Health Organization. 1995. *Environmental Health Criteria: 165 for Inorganic Lead*
- Widayati E. 2012. Oxidasi Biologi, Radikal bebas, dan antioxidant. (*Artikel*). Semarang: Unissula
- Winarsi H. 2011. *Pembentukan Senyawa Oksigen Reaktif dan Radikal Bebas in: Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Wink D, Vodototz Y, Laval J, Laval F, Dewhirst M& Mitchell J. 1998. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. *Carcinogenesis* 19(5): 711-721
- Wresdiyati T, Astawan M, Fitriani D, Adnyane IKM, Novelina S & SatyaningtjasAS. 2007. Pengaruh a-tokoferol terhadap profil superoksid dismutase (SOD) dan malondialdehida (MDA) pada jaringan hati tikus di bawah kondisi stres. *Jurnal Veteriner* 8(4):202-209.
- Yuniastuti A, Irawan Y, Muh N & Budu. 2013. Status antioksidan glutation pada pasien tuberculosis paru di Balai Kesehatan Paru (BPKM) Makassar. *Biosaintifika* 5(2): 50-57

LAMPIRAN

Lampiran 1 Pembuatan larutan untuk pengukuran glutation peroksidase

1. Reagen

Reagen dibuat dalam satu botol dengan bahan yang digunakan
6.5 ml untuk 8 x 6.5 ml kit (RS 504)
10 ml untuk 8 x 10 ml kit (RS 505)
30 ml unutk 8 x 30 ml kit (RS 506)

Reagen tersebut distabilkan selama 48 jam pada suhu 4 - 8 °C atau 8 jam pada suhu 15 – 25 °C.

2. Buffer

Buffer dapat langsung digunakan, buffer akan tetap stabil sampai batas *expired* bila disimpan pada suhu 2 – 8 °C.

3. *Cumene Hydroperoxide*

Cumene Hydroperoxide sebanyak 10 μ l diencerkan dengan 10 ml air destilasi kemudian divortex. Larutan ini harus baru bila dipakai atau harus menyiapkan yang baru setiap kali pemakaian. Konsentrasi larutan akan tetap stabil sampai batas *expired* bila disimpan pada suhu 2 – 8 °C.

4. *Diluting agent*

Diluting agent dibuat dalam 1 botol 4 ml dengan 200 ml air destilasi. Larutan tersebut kemudian distabilkan selama 4 minggu bila disimpan pada suhu 2 – 4 °C atau selama 3 hari pada suhu 15 – 25 °C.

Lampiran 2 Kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU di Semarang

| Nama SPBU | Kode sampel | Kadar NO (mmol/l) | Aktivitas GSH-Px (U/g) | Kadar Pb ($\mu\text{g}/\text{dl}$) |
|---|-------------|-------------------|------------------------|--------------------------------------|
| Jl. Woltermonginsidi (Bangetayu) | T1 | 4.81 | 78.83 | 62.29 |
| | T2 | 2.32 | 75.32 | 60.44 |
| | T3 | 1.19 | 74.19 | 59.41 |
| | T4 | 1.09 | 72.03 | 58,28 |
| Jl. Kaligawe (Sidomuncul) | T6 | 1.36 | 74.38 | 59,64 |
| | T7 | 1.88 | 74.90 | 59,83 |
| | T8 | 2.01 | 75.02 | 60,09 |
| | T9 | 1.07 | 72.32 | 59,82 |
| | T10 | 2.19 | 75.19 | 60,22 |
| | T11 | 4.30 | 77.32 | - |
| | T12 | 1.22 | 70.80 | - |
| | T13 | 1.58 | 69.44 | 57,32 |
| COCO Jl. Brigjen Sudiarto (Penggaron) Jl. Brigjen Sudiarto (Pedurungan) Jl. Brigjen Sudiarto (Sendangguwo) | T16 | 1.15 | 70.87 | - |
| | T18 | 1.26 | 73.28 | - |
| | T19 | 2.45 | 75.47 | - |
| | T20 | 6.52 | 79.60 | - |
| | T22 | 7.01 | 81.03 | - |
| | T24 | 1.88 | 69.14 | - |
| | T26 | 2.07 | 73.09 | - |
| | T27 | 2.57 | 75.59 | - |
| | T28 | 1.47 | 74.49 | - |
| | T29 | 1.72 | 69.30 | - |
| | T31 | 2.80 | 75.82 | - |
| | T32 | 1.59 | 73.61 | - |

Lampiran 3 Analisis statistik deskriptif dengan SPSS data kadar *nitric oxide*, aktivitas glutation peroksidase dalam sampel darah operator SPBU Kota Semarang.

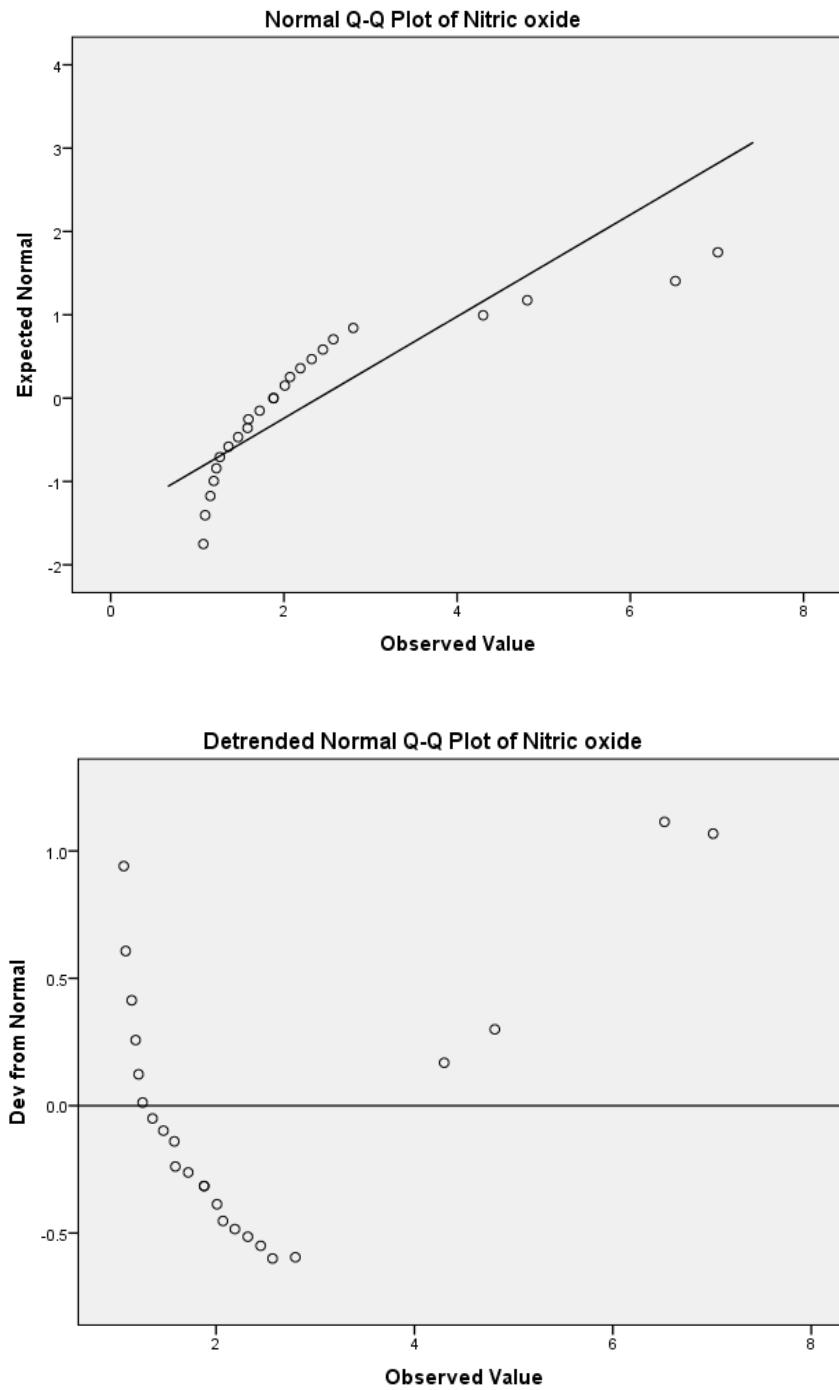
| Descriptives | | | Statistic | Std. Error |
|----------------------|----------------------------------|-------------|-----------|------------|
| Nitric oxide | Mean | | 2.3962 | .33414 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1.7050 | |
| | | Upper Bound | 3.0875 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 2.2180 | |
| | Median | | 1.8800 | |
| | Variance | | 2.680 | |
| | Std. Deviation | | 1.63692 | |
| | Minimum | | 1.07 | |
| | Maximum | | 7.01 | |
| | Range | | 5.94 | |
| | Interquartile Range | | 1.26 | |
| | Skewness | | 1.886 | .472 |
| Glutation peroxidase | Kurtosis | | 2.909 | .918 |
| | Mean | | 74.2096 | .63453 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 72.8970 | |
| | | Upper Bound | 75.5222 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 74.1241 | |
| | Median | | 74.4350 | |
| | Variance | | 9.663 | |
| | Std. Deviation | | 3.10855 | |
| | Minimum | | 69.14 | |
| | Maximum | | 81.03 | |
| | Range | | 11.89 | |
| | Interquartile Range | | 3.46 | |
| | Skewness | | .254 | .472 |
| | Kurtosis | | -.031 | .918 |

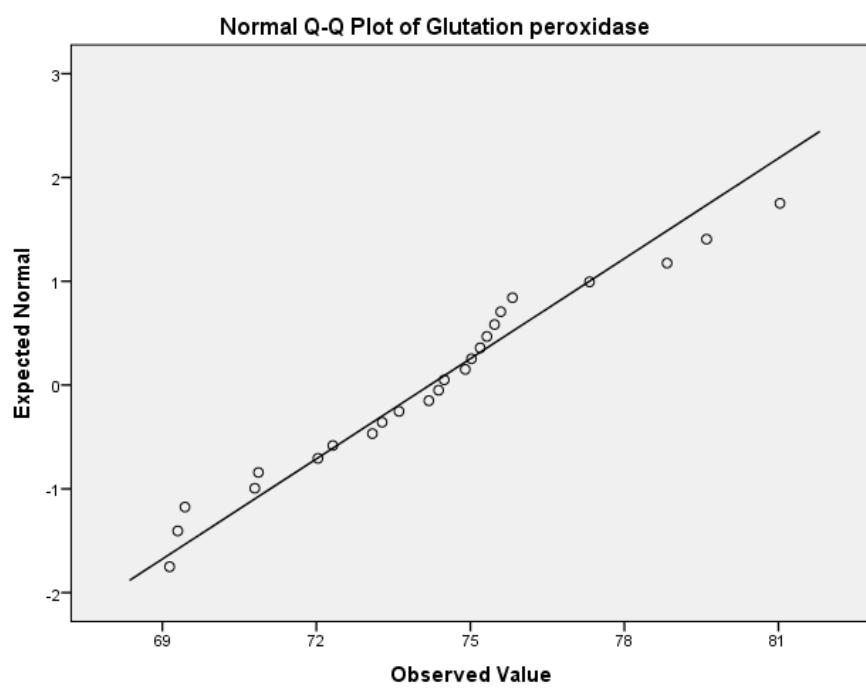
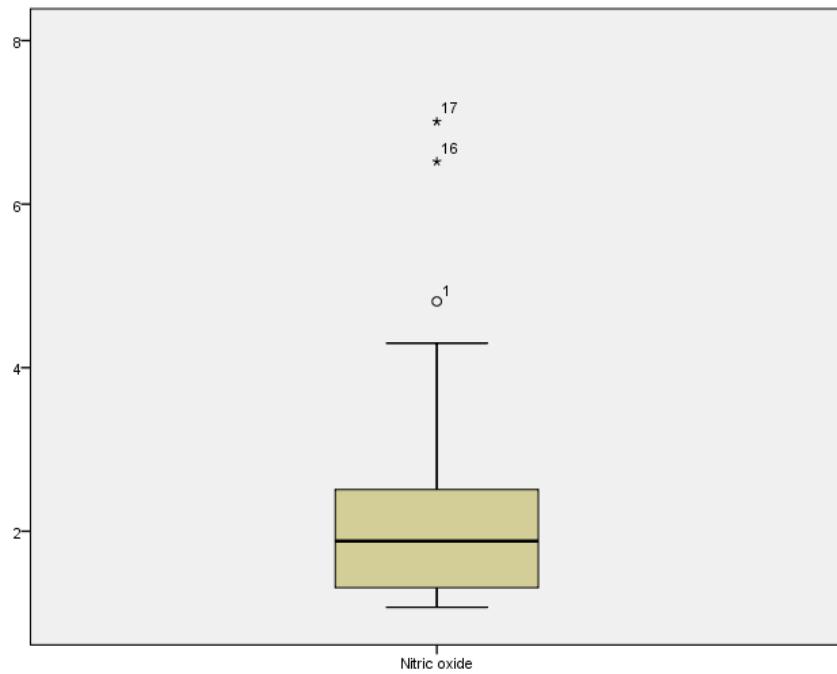
Tests of Normality

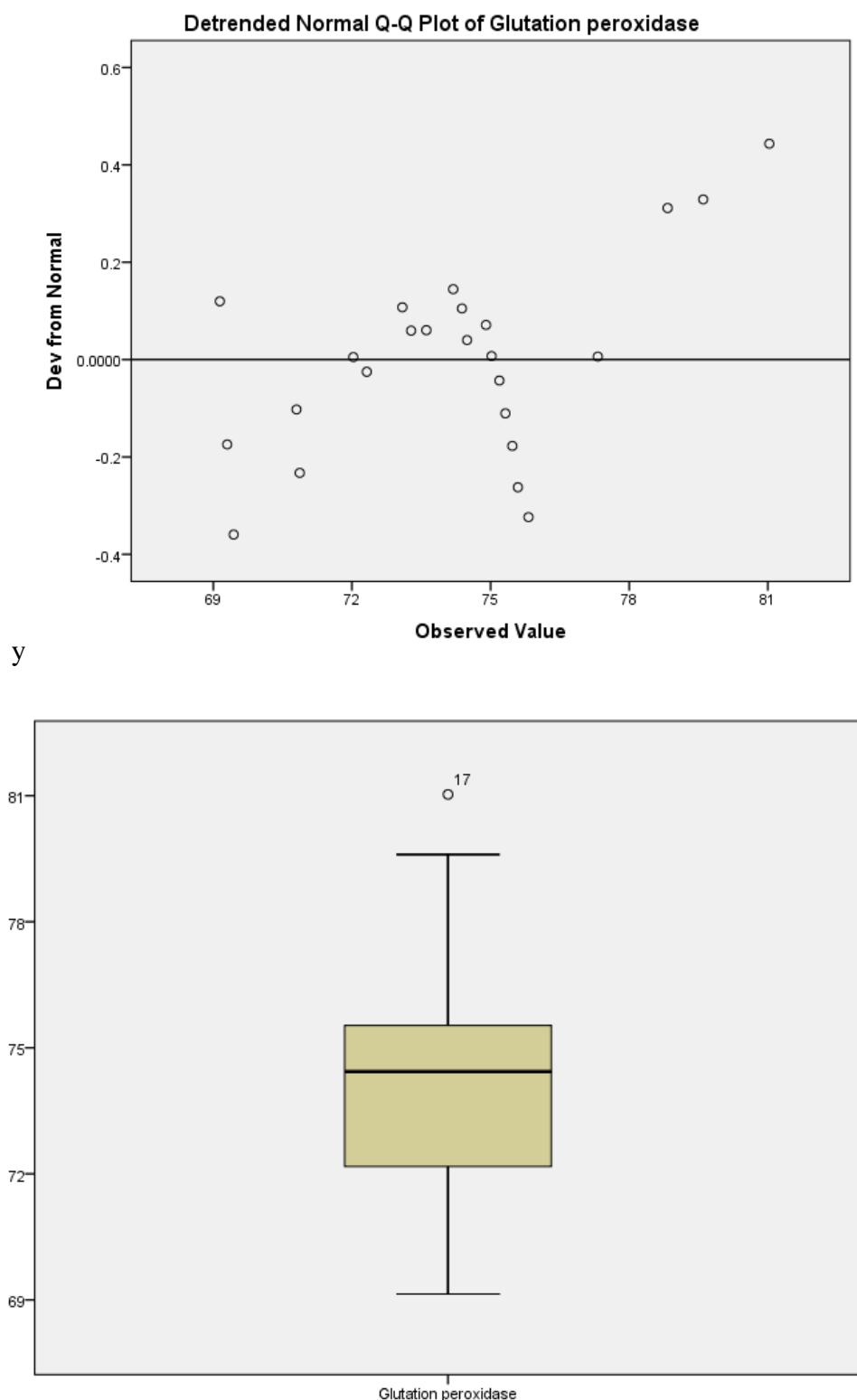
| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Nitric oxide | .249 | 24 | .000 | .738 | 24 | .000 |
| Glutation peroxidase | .136 | 24 | .200 [*] | .963 | 24 | .501 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction







Lampiran 4 Analisis korelasi dengan SPSS versi 23 antara kadar *nitric oxide* dengan aktivitas glutation peroksidase

| Correlations | | | |
|---------------------|----------------------|---|-----------------------|
| | | Nitric oxide | Glutation peroxidase |
| Spearman's rho | Nitric oxide | Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N | 1.000 .797** 24 |
| | Glutation peroxidase | Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N | .000 1.000 24 |

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 5 Surat keputusan dosen pembimbing skripsi



**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
Nomor: 1659 / p / 2015
Tentang
PENETAPAN DOSEN PEMBIMBING SKRIPSI/TUGAS AKHIR SEMESTER
GASAL/GENAP
TAHUN AKADEMIK 2015/2016**

Menimbang : Bawa untuk memperbaiki mahasiswa Jurusan/Prodi Biologi/Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam membuat Skripsi/Tugas Akhir, maka perlu menetapkan Dosen-dosen Jurusan/Prodi Biologi/Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNNES untuk menjadi pembimbing.

Mengingat : 1. Undang-undang No.20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Tambah Lembaran Negara RI No.4301, penjelasan atas Lembaran Negara RI Tahun 2003, Nomor 78)
2. Peraturan Rektor No. 21 Tahun 2011 tentang Sistem Informasi Skripsi UNNES
3. SK. Rektor UNNES No. 164/O/2004 tentang Pedoman penyusunan Skripsi/Tugas Akhir Mahasiswa Strata Satu (S1) UNNES;
4. SK Rektor UNNES No.162/O/2004 tentang penyelenggaraan Pendidikan UNNES;

Menimbang : Usulan Ketua Jurusan/Prodi Biologi/Biologi Tanggal 5 November 2015

MEMUTUSKAN

Menetapkan :

PERTAMA :

Menunjuk dan menugaskan kepada:

1. Nama : Dr. Ari Yuniaستuti, SPt, M.Kes
NIP : 196806021996032002
Pangkat/Golongan : IV/A
Jabatan Akademik : Lektor Kepala
Sebagai Pembimbing I
2. Nama : Dr. drh R. Susanti, M.P
NIP : 196903231997032001
Pangkat/Golongan : IV/A
Jabatan Akademik : Lektor Kepala
Sebagai Pembimbing II

Untuk membimbing mahasiswa penyusun skripsi/Tugas Akhir :

| | | |
|---------------|---|---|
| Nama | : | SITI ROFIATUS S |
| NIM | : | 4411412043 |
| Jurusan/Prodi | : | Biologi/Biologi |
| Topik | : | EFEK PAPARAN LOGAM BERAT DALAM ASAP KENDARAAN BERMOTOR TERHADAP KADAR NITRIC OXIDE DAN AKTIVITAS GLUTATHIONINE PEROXIDASE DALAM SERUM DARAH OPERATOR SPBU DI WILAYAH SEMARANG TIMUR |

KEDUA :

Keputusan ini mulai berlaku sejak ditandatangani di SEMARANG

Tembusan

1. Pembantu Dekan Bidang Akademik
2. Ketua Jurusan
3. Petinggal

PM-03-AKD-24/Rev. 00
— PM-03-AKD-24/Rev. 00 —



ZAINURI, S.E, M.Si,Akt
TNP 196412221968031001

Lampiran 6 Surat ijin penelitian



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Gedung D12 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang - 50229
Telp. +62248508112/+62248508005 Fax. +62248508005
Website: <http://mipa.unnes.ac.id> Email: mipa@unnes.ac.id

No : 2241 /UN37.1.4/LT/2016

Lamp : -

Hal : Izin Penelitian

Kepada

Yth Kepala Laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta

Di Yogyakarta

Dengan hormat,

Bersama ini, kami mohon izin pelaksanaan penelitian untuk penyusunan skripsi/Tugas Akhir oleh mahasiswa sebagai berikut:

| | | |
|--------|---|---|
| Nama | : | Siti Rofiatun S |
| NIM | : | 4411412043 |
| Prodi | : | Biologi |
| Judul | : | Kadar Nitric Oxide dan Aktivitas Glutathionine Peroxidase |
| Tempat | : | Laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta |
| Waktu | : | 30 Oktober – 15 Desember 2015 |

Atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.



FM-05-AKD-24

Lampiran 7 Surat hasil uji *nitric oxide* dan glutation peroksidase

| No | Kode | No mmol / l | GPH-PX U/g |
|-------|------|----------------|---------------|
| Timur | | | |
| 1 | 1 | 4,81 | 78,83 |
| 2 | 2 | 2,32 | 75,32 |
| 3 | 3 | 1,19 | 74,19 |
| 4 | 4 | 1,09 | 72,03 |
| 5 | 6 | 1,36 | 74,38 |
| 6 | 7 | 1,88 | 74,90 |
| 7 | 8 | 2,01 | 75,02 |
| 8 | 9 | 1,07 | 72,32 |
| 9 | 10 | 2,19 | 75,19 |
| 10 | 11 | 4,30 | 77,32 |
| 11 | 12 | 1,22 | 70,80 |
| 12 | 13 | 1,58 | 69,44 |
| 13 | 16 | 1,15 | 70,87 |
| 14 | 18 | 1,26 | 73,28 |
| 15 | 19 | 2,45 | 75,47 |
| 16 | 20 | 6,52 | 79,60 |
| 17 | 22 | 7,01 | 81,03 |
| 18 | 24 | 1,88 | 69,14 |
| 19 | 26 | 2,07 | 73,09 |
| 20 | 27 | 2,57 | 75,59 |
| 21 | 28 | 1,47 | 74,49 |
| 22 | 29 | 1,72 | 69,30 |
| 23 | 31 | 2,80 | 75,82 |
| 24 | 32 | 1,59 | 73,61 |

Yogyakarta, Desember 2015
Ketua Divisi Pelayanan Masyarakat



Prof. Dr. Ir Sutardi, Mapp.sc
NIP 19481103197411001

Lampiran 8 *Informant consent*

NASKAH PENJELASAN KEPADA SUBYEK UNTUK PERSETUJUAN

Selamat pagi Bapak/Ibu/Saudara(i).

Bagaimana keadaan Bapak/Ibu/Saudara(i). Perkenalkan nama saya Siti Rofiatus Sa'adah, Bapak/Ibu/Saudara(i) bisa memanggil saya Rofi', saya adalah mahasiswa jurusan Biologi FMIPA UNNES Semarang yang sedang melakukan penelitian. Saya ingin melakukan penelitian tentang Analisis Hubungan Kadar *Nitric Oxide* dan Aktivitas Glutation Peroksidase dalam Darah Operator SPBU di Semarang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase pada sampel darah operator SPBU yang terpapar polutan di wilayah Kota Semarang. Mengapa saya harus meneliti kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase pada sampel darah operator SPBU? Karena *nitric oxide* merupakan radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat terjadi jika kadar radikal bebas lebih tinggi dari antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas satu penyebabnya dapat berasal dari paparan polutan seperti logam Pb. Bapak/Ibu/Saudara(i) sebagai petugas SPBU memiliki risiko terjadinya stres oksidatif karena paparan Pb. Maka dari itu saya melakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui apakah pada diri Bapak/Ibu/Saudara(i) terjadi stres oksidatif. Pengambilan darah ini saya akan lakukan dengan menggunakan sputit baru (steril) dan akan dimasukkan kedalam vacucyte EDTA kemudian di bawa ke laboratorium untuk selanjutnya diperiksa dengan alat yang canggih yang dinamakan spektrofotometer . Nah begitulah proses penelitian ini.

Kami berharap bapak/ibu/sdr(i) bersedia ikut serta di dalam penelitian ini, dan apabila bersedia mohon agar memberikan pernyataan persetujuan secara tertulis. Keikutsertaan bapak/ibu/sdr(i) dalam penelitian ini bersifat sukarela tanpa paksaan, oleh karena itu bapak/ibu/sdr(i) berhak menolak atau mengundurkan diri tanpa risiko kehilangan hak untuk memperoleh pelayanan kesehatan yang seharusnya diberikan oleh bapak/ibu/sdr(i).

Apabila bapak/ibu/sdr setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian ini, maka kami akan menanyakan beberapa hal mengenai riwayat dan data pribadi bapak/ibu/sdr(i). Selanjutnya petugas puskesmas akan melakukan pengambilan darah sebanyak 5 cc (kira-kira 1 sendok teh) dari pembuluh dari di lipatan siku. Pengambilan darah akan menimbulkan sedikit rasa sakit sebagaimana rasanya bila disuntik. Kemungkinan juga timbul memar ringan atau terjadi infeksi, namun risiko ini dapat diminimalkan dengan prosedur pengambilan darah yang bebas bawa menggunakan jarum steril dan dilakukan oleh petugas yang terlatih.

Namun bila terjadi hal yang tidak diharapkan akibat pengambilan darah ini, bapak/ibu/sdr akan ditangani sebagaimana mestinya. Seluruh tindakan pengambilan darah ini tidak akan membahayakan atau memperberat kondisi penyakit bapak/ibu/sdr(i).

Semua Informasi hasil penelitian ini akan dirahasiakan dan disimpan serta hanya digunakan untuk pengembangan kebijakan dan pengembangan ilmu pengetahuan.

Bila Bapak/ibu memerlukan penjelasan lebih lanjut mengenai penelitian ini, dapat menghubungi: Siti Rofiatus Sa'adah, 085712420229, Karangrayung Grobogan

FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : ... Ari
 Umur : ... 31 th
 Alamat : ... Semarang

setelah mendengar/membaca dan mengerti penjelasan yang diberikan mengenai tujuan, manfaat apa yang akan dilakukan pada penelitian ini, menyatakan setuju untuk ikut dalam penelitian ini secara sukarela tanpa paksaan.

Saya mengerti bahwa dari semua hal yang dilakukan Siti Rofiatus Sa'adah pada saya berupa pengambilan darah saya sebanyak 5 cc yang bisa menyebabkan masalah, namun saya percaya kemungkinan tersebut sangat kecil karena dilakukan secara aseptik oleh petugas yang terlatih.

Saya tahu bahwa keikutsertaan saya ini bersifat sukarela tanpa paksaan, sehingga saya bisa menolak ikut atau mengundurkan diri dari penelitian ini tanpa kehilangan hak saya untuk mendapat pelayanan kesehatan. Juga saya berhak bertanya atau meminta penjelasan pada peneliti bila masih ada hal yang belum jelas atau masih ada hal yang ingin saya ketahui tentang penelitian ini.

Saya juga mengerti bahwa semua biaya yang dikeluarkan sehubungan dengan penelitian ini, akan ditanggung oleh peneliti. Demikian juga biaya perawatan dan pengobatan bila terjadi hal-hal yang tidak diinginkan akibat penelitian ini, akan dibiayai oleh peneliti.

Saya percaya bahwa keamanan dan kerahasiaan data penelitian akan terjamin dan saya dengan ini menyetujui semua data saya yang dihasilkan pada penelitian ini untuk disajikan dalam bentuk lisan maupun tulisan.

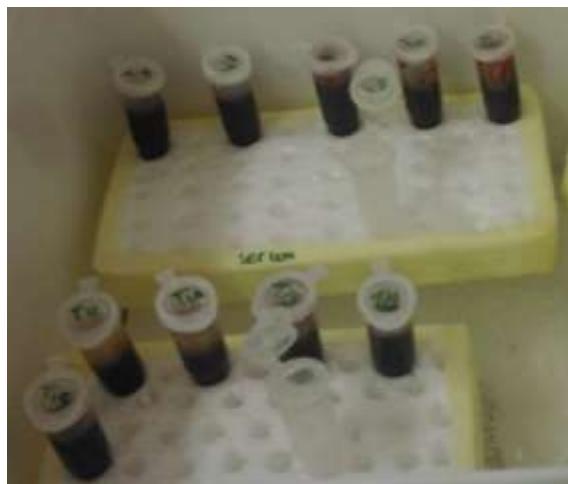
Bila terjadi perbedaan pendapat dikemudian hari kami akan menyelesaiannya secara keluargaan.

| | Nama | Tanda tangan | Tgl/Bln/Thn |
|--|---------------|--|-------------|
| Klien | <u>Ari</u> | <u>Owi</u> | 4 Juni 2015 |
| Saksi | <u>Sukawi</u> | <u>JH</u> | 4 Juni 2015 |
| Saksi 2 | <u>Iwan</u> | <u>MW</u> | 4 Juni 2015 |
| Penanggung Jawab Medik Rekan peneliti dr. H Masyhudi AM, M.Kes | | Penanggung Jawab Penelitian Peneliti Siti Rofiatus Sa'adah | |

Lampiran 9 Dokumentasi penelitian



Proses pengambilan sampel darah operator SPBU di Jl. Kaligawe (Sidomuncul), Semarang



Sampel darah operator SPBU di Semarang untuk dianalisis kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase



Preparasi sampel darah operator SPBU di Semarang untuk dianalisis kadar *nitric oxide* dan aktivitas glutation peroksidase



Serum dan whole blood operator SPBU