



**ANALISIS PROTEKSI EDTA
TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGIS
GINJAL TIKUS YANG DIPAPAR Pb ASETAT**

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

Oleh
Debi Anantiasara
4411413013

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2018**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Analisis Proteksi EDTA Terhadap Struktur Histopatologis Ginjal Tikus yang Dipapar Pb Asetat” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 25 Januari 2018



Debi Anatasara
4411413013

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

Analisis Proteksi EDTA Terhadap Struktur Histopatologis Ginjal Tikus yang
Dipapar Pb Asetat disusun oleh

Nama : Debi Anatiarsara

NIM : 4411413013

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 1 Februari
2018.



Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.

NIP 196511161991032001

Penguji Utama

Prof. Dr. Ir. Priyantini Widyaningrum, M.S.

NIP 196004191986102001

Anggota Penguji I/
Pembimbing I

Dr. Aditya Marianti, M.Si.

NIP 196712171993032001

Anggota Penguji II/
Pembimbing II

Dr. Wiwi Isnaeni, M.S.

NIP 195808021985032001

ABSTRAK

Anatiasara, D.2018.Analisis Proteksi EDTA terhadap Struktur Histopatologis Ginjal Tikus yang Dipapar Pb Asetat.Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.Dr. Aditya Marianti, M.Si. dan Dr. Wiwi Isnaeni, M.S.

Kata kunci: EDTA, Pb, struktur histopatologis

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan EDTA sebagai senyawa pengkkelat logam berat terhadap ginjal tikus yang dipapar Pb asetat secara per oral. Telah diketahui bahwa senyawa Pb memiliki efek toksik apabila masuk kedalam tubuh dalam waktu yang lama. Sifat Pb yang toksik ini menimbulkan stres oksidatif mampu menyebabkan kerusakan struktur organ salah satunya organ ginjal. Pemberian EDTA dalam penelitian ini untuk menurunkan kadar Pb darah serta melindungi struktur ginjal tikus yang dipapar Pb asetat.

Penelitian ini menggunakan *Post Test Control Group Design*. Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar dan sapel yang diambil sebanyak 25 ekor. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok Kontrol (K), Kontrol Negatif (KN) diberi Pb asetat 175 mg/kg BB, Kelompok Perlakuan (KP1,KP2,KP3) dipapar Pb asetat 175 mg/kg BB dan EDTA masing-masing 50, 150 dan 250 mg/kg BB. Perlakuan diberikan selama 30 hari, pada hari ke-31 dilakukan pengambilan darah untuk diukur kadar Pb darah, setelah itu tikus dideterminasi dan diambil organ ginjal dibuat preparat histopatologis untuk diamati tingkat kerusakan selnya. Metode pengumpulan data kuantitatif hasil kadar Pb darah dan skoring tingkat kerusakan ginjal dari semua kelompok perlakuan. Data kualitatif dengan interpretasi preparat histopatologis ginjal tikus secara deskriptif.

Hasil analisis menggunakan Anova dan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) menunjukkan adanya penurunan kadar Pb darah dan penurunan kerusakan sel ginjal pada kelompok tikus yang dipapar Pb asetat dan diberi EDTA dibandingkan dengan kelompok tikus yang dipapar Pb asetat tanpa diberi EDTA. Dosis yang paling efektif pada EDTA untuk menurunkan kadar Pb darah adalah 250 mg/kg BB namun banyak ditemukan kerusakan sel pada ginjal tikus, sehingga dosis efektif EDTA yang baik dalam mengkkelat Pb dalam darah adalah 150 mg/kg BB. Dosis EDTA yang efektif dalam melindungi organ ginjal adalah 150 mg/kg BB karena pada dosis ini minim terjadi kerusakan sel pada organ ginjal tikus.

Simpulan penelitian ini adalah EDTA mampu mengkkelat kadar Pb darah tikus pada dengan dosis 150 mg/kg BB dan memproteksi organ ginjal tikus pada dosis 150 mg/kg BB, sedangkan pada dosis 250 mg/kg BB EDTA bersifat toksik sehingga merusak sel ginjal.

MOTTO

“Hanya kepada Engkaulah kami menyembah dan hanya kepada Engkaulah kami mohon pertolongan” (QS 1:5).

“Berdoalah kepada-Ku, niscaya akan Aku perkenankan bagimu.” (QS 40:60)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk
Kedua orangtua, Ibu Sugiana dan Bapak
Suyanto
Adikku, Sevia Syaharani
Teman-teman selama kuliah disini
Anda yang membaca skripsi ini

PRAKATA

Dengan mengucapkan puji syukur kehadrat Allah SWT, yang telah memberikan nikmat iman, nikmat islam serta rahmat dan hidayah-NYA. Shalawat dan salam senantiasa tercurah limpahkan kepada Rasulullah SAW yang senantiasa memberikan inspirasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Proteksi EDTA terhadap Struktur Histopatologis Ginjal Tikus yang Dipapar Pb Asetat”.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Namun dengan segala upaya, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh studi S1 di Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberi izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi yang memudahkan jalan penulis dalam menyusun skripsi.
4. Dr. Aditya Marianti, M.Si. dosen pembimbing I atas bimbingan, pengarahan dan dorongannya selama ini.
5. Dr. Wiwi Isnaeni, M.S. dosen pembimbing II untuk dukungan, ilmu dan perhatiannya.
6. Prof.Dr.Ir. Priyantini Widiyaningrum, M.S. dosen penguji untuk waktu dan kesabaran yang sangat berarti, karena tanpanya penulisan skripsi ini tidak menjadi lebih baik.
7. Mbak Kartika Widiyaningrum, S.Pd., Mas Solikhin, S.Pd. dan segenap pengurus Laboratorium Biologi FMIPA Unnes atas bantuannya.

8. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang telah diberikan.
9. Ummi, Bapak, dek Sevia, dan Mbak Narni serta saudara-saudaraku tercinta untuk kasih sayang, doa, kesabaran dan dukungannya.
10. Bapak dr. Noor Yazid, SpPA, terimakasih untuk kebaikan dan kesabarannya mengajari penulis tentang ilmu *pathology* anatomi.
11. Teman- teman Biologi 1 2013, Bioteknologi 2013, Kos Hijau, BEM FMIPA dan saudara-saudaraku seperjuangan di kampus tercinta, terimakasih untuk semangat kebersamaan, pengingatan dan tegurannya.
12. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis senutkan satu persatu.

Penulis menyadari akan adanya kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka segala kritik maupun saran yang bersifat membangun akan penulis terima dengan senang hati.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, 25 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	I
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	Ii
PENGESAHAN	iii
ABSTRAK	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
1.5 Penegasan Istilah	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sifat Plumbum (Pb/ Timbal)	7

2.2 Efek Negatif Pb Terhadap Ginjal	12
2.3 Ginjal	13
2.4 EDTA	16
2.5 Kerangka Penelitian	19
2.6 Hipotesis Penelitian	23
BAB 3 METODE PENELITIAN	24
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.3 Desain Penelitian	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.5 Alat dan Bahan	25
3.6 Prosedur Penelitian	26
3.7 Data dan Metode Pengumpulan Data	29
3.8 Metode Analisis Data	31
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil Penelitian	32
4.2 Pembahasan	41
BAB 5 PENUTUP	52
5.1 Simpulan	52
5.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA	57
Lampiran	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Alat Penelitian	25
3.2 Bahan Penelitian	26
3.3 Kriteria Penilaian Kerusakan Ginjal Tikus	30
4.1 Rerata kadar Pb darah pada tikus	33
4.2 Data skoring kerusakan organ ginjal tikus	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Sistem ekskresi manusia	14
2.2	Histopatologis ginjal tikus	16
2.3	Struktur Kimia EDTA (<i>Ethylendiaminetetraacetic</i>)	17
2.4	Mekanisme Pengikatan EDTA dengan Logam	18
2.5	Kerangka Teori Penelitian	21
2.6	Kerangka Berpikir Penelitian	22
2.7	Kerangka Konsep Penelitian	23
4.1	Grafik Kadar Pb Darah Tikus	32
4.2	Histopatologi ginjal tikus Kontrol	35
4.3	Histopatologi ginjal tikus Kontrol Negatif	36
4.4	Histopatologi ginjal tikus Kelompok Perlakuan 1	37
4.5	Histopatologi ginjal tikus Kelompok Perlakuan 2	38
4.6	Histopatologi ginjal tikus Kelompok Perlakuan 3	39
4.7	Mekanisme ROS di dalam mitokondria	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Ringkasan Uji Normalitas, Homogenitas, Anova <i>one way</i> dan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) kadar Pb darah tikus	57
2	Ringkasan Uji Normalitas, Homogenitas, Anova <i>one way</i> dan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) skoring kerusakan ginjal tikus	58
3	Data hasil skoring organ ginjal tikus	59
4	SK Dosen Pembimbing	60
5	Surat ijin penelitian	61
6	Dokumentasi Penelitian	62

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran Timbal (Pb) dilingkungan secara kronis memiliki dampak yang dapat mengganggu kesehatan. Timbal (Pb) ini berasal dari berbagai macam sumber pencemar. Beberapa sumber pencemarnya bisa dari limbah hasil buang industri, pertambangan, transportasi hingga bahan kimia seperti cat mobil dan sebagainya. Dari berbagai sumber pencemar yang ada dan terlalu sering kita terpapar menyebabkan Pb terakumulasi didalam tubuh kita.

Apabila Pb didalam tubuh sudah terakumulasi maka keadaan ini dapat mengganggu karena Pb memiliki dampak negatif terhadap tubuh kita. Dampak negatif yang terjadi mengakibatkan kerusakan organ, karena Pb dapat masuk melalui ingesti, inhalasi maupun subkutan. Jika Pb yang ada didalam tubuh sudah bersifat akumulatif maka akan berdampak sangat merugikan, sebab Pb sulit untuk dieliminasi dari tubuh. Menurut Palar (2004) yang mengemukakan bahwa absorpsi Pb udara pada saluran pernafasan $\pm 40\%$ dan pada saluran pencernaan $\pm 5-10\%$, kemudian Pb didistribusikan ke dalam darah + 95% terikat pada sel darah merah, dan sisanya terikat pada plasma. Sebagian Pb di simpan pada jaringan lunak dan tulang. Ekskresi terutama melalui ginjal dan saluran pencernaan. Pb dapat masuk ke saluran pencernaan melalui makanan dan minuman secara per oral. Sehingga sangat memungkinkan Pb masuk kedalam sistem peredaran darah hingga fisiologis tubuh sangatlah besar.

Seperti yang dikemukakan oleh Kosnett *et al.* (2012) bahwa pada orang dewasa Pb yang diabsorpsi lewat usus sekitar 5-15%, baik Pb anorganik dan organik akan terdistribusi ke beberapa jaringan yaitu jaringan lunak, susunan saraf pusat dan jaringan tulang. Menurut Marianti *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Paparan Pb tingkat rendah pada tikus bisa mengubah metabolisme spesifik dopamin dan serotonin. Kadar timbal dalam darah tinggi menurunkan kadar serotonin di

nucleus acumbens, frontal cortex, dan medulla. Namun, tidak ada serotonin pada striatum, hipotalamus, atau hippocampus. Metabolit serotonin, asam asetat 5-hidroksiindol (5HIAA) menurun pada korteks frontal, ketika kadar timbal dalam darah tinggi. Penurunan tingkat serotonin mungkin diproses melalui jalur metabolisme serotonin. Tingkat timbal darah tinggi telah mendorong peningkatan tingkat MAO A. Peningkatan kadar MAO A akan menyebabkan penurunan serotonin karena MAO A adalah enzim yang menurunkan kadar serotonin.

Hal ini memiliki efek pada tubuh, efek klinik dari Pb anorganik adalah defisit susunan saraf pusat, neuropati, periferal anemia, nefropati dan hipertensi. Sedangkan efek dari Pb organik adalah ensefalopati. Mekanisme toksikokinetik Pb anorganik adalah inhibisi enzim, berinterferensi dengan kation-kation esensiil, dan mengubah struktur membran dan reseptor. Sementara Pb organik mekanismenya adalah hepatic dealkilasi (cepat) membentuk metabolit trialkil (lambat) kemudian berdisosiasi menjadi Pb.

Akumulasi efek negatif Pb terhadap kesehatan sangat merugikan. Karena berdampak mengganggu kerja fungsi organ – organ dalam tubuh antara lain adalah organ ginjal. Bahkan dari hasil penelitian terakhir yang dikemukakan oleh Sakkir (2008) menyebutkan bahwa logam timbal memiliki sifat karsinogenik yang dapat menyebabkan terjadinya kanker pada manusia. Selain dapat memicu kanker, timbal dalam tubuh dapat terakumulasi didalam beberapa organ seperti hati, otak dan ginjal.

Dari hasil sebuah studi yang dilakukan oleh Cadkova *et al.* (2013) menyatakan bahwa Timbal (Pb) yang masuk secara per oral dapat terakumulasi dalam tubuh. Timbal (Pb) didalam tubuh dapat masuk hingga pembuluh darah bahkan beredar keseluruhan tubuh. Jika kadar Pb didalam tubuh sudah terlalu banyak maka akan keluar tubuh melalui sistem ekskresi salah satunya feses. Jika didalam feses mengandung Timbal (Pb) dalam kadar yang tinggi maka dapat diperkirakan bahwa sudah terjadi hiperakumulasi Timbal (Pb) didalam tubuh. Apabila sudah terjadi hiperakumulasi didalam tubuh maka Timbal (Pb) akan mengganggu fungsi tubuh dengan menimbulkan efek toksisitas pada setiap sistem kerja tubuh.

Terakumulasinya logam berat didalam organ ini dapat mengganggu proses fisiologis secara langsung maupun tidak langsung pada tingkat molekuler. Karena timbal mampu menimbulkan kerusakan oksidatif pada jaringan dan meningkatkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA serta meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) Komousani (2011). Seperti yang dikemukakan oleh Yushui (2012) bahwa logam – logam berat yang bersifat toksik meningkatkan produksi dari radikal bebas. Proses terjadinya kerusakan akibat timbal disebabkan berbagai faktor timbal secara langsung dapat menghambat kerja enzim. Timbal juga dapat menghambat proses penyerapan mineral dalam tubuh. Pernyataan Yushui ini didukung oleh Wang Lin (2010) bahwa selain dua hal diatas timbal juga dapat menurunkan kadar antioksidan dan meningkatkan produksi radikal bebas. Ketidak seimbangan antara serangan oksidan dan pertahanan antioksidan pada jaringan maupun sel dapat mengarah pada terjadinya kerusakan organ.

Oleh karena itu keracunan timbal ini harus segera diatasi. Salah satu caranya untuk mengeluarkan timbal dari dalam tubuh adalah dengan menaikkan tingkat ekskresi tubuh. Hal ini dapat dilakukan dengan memberikan pengkhelat. Zat khelat yang dipakai untuk membuang logam beracun (timbal) harus dapat membentuk senyawa yang stabil dengan ion logam tersebut. Menurut Setiani (2010), zat khelat yang cocok digunakan adalah kalsium disodium EDTA (CaNa_2EDTA) karena zat ini mampu mengkhelat timbal didalam tubuh. Di dalam tubuh, kalsium (Ca) akan digantikan oleh timbal (Pb) karena dapat membentuk senyawa yang lebih stabil dengan EDTA. Kalsium disodium EDTA (CaNa_2EDTA) ini biasanya diberikan dalam bentuk infus melalui intravena kepada penderita keracunan timbal (Pb).

Hasil penelitian Flora *et al.*, (2003) menyimpulkan bahwa pemberian EDTA dalam bentuk HEDTA dan asam sitrat untuk mengkelat Pb dalam darah menunjukkan hasil optimal, tetapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Pernyataan ini dijawab dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hininger *et al.*,(2005) yang menyebutkan bahwa asam askorbat (vitamin C) yang ditambahkan pada EDTA pada saat proses khelasi melauai intravena dengan dosis yang tinggi

memiliki resiko tinggi meningkatkan stres oksidatif oleh lemak, protein bahkan memunculkan DNA oksidatif.

Dalam hal ini ginjal memainkan peranan penting dalam fungsi tubuh, tidak hanya dengan menyaring darah dan mengeluarkan produk sisa, namun juga dengan menyeimbangkan elektrolit dalam tubuh, mengontrol tekanan darah, menstimulasi produksi dari sel-sel darah merah. Menurut Ganong (2013) mengatakan jika organ ginjal mempunyai kemampuan untuk memonitor jumlah cairan tubuh, konsentrasi dari elektrolit- elektrolit seperti sodium dan potassium hingga keseimbangan asam basa dari tubuh. Ginjal bekerja menyaring produk-produk sisa dari metabolisme tubuh, seperti urea dari metabolisme protein dan asam urat dari uraian DNA. Dua produk sisa dalam darah yang dapat diukur adalah *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin (Cr).

Jika terjadi kerusakan pada organ yang sangat penting ini maka fungsi tubuh lainnya akan terganggu. Untuk menanggulangi efek kerusakan organ ginjal yang terjadi digunakanlah senyawa pengikat Pb dalam darah yang memiliki keamanan pada saat bereaksi didalam tubuh. Senyawa yang dapat bekerja sebagai zat pengikat logam berat ini sering disebut sebagai senyawa pengkhelat. Salah satu senyawa yang sering digunakan sebagai bahan pengkhelat adalah EDTA. Namun masih sangat diperlukan penelitian untuk mengetahui keefektivannya.

Oleh karena itu masih perlu mempertimbangkan tingkat efektivitas daya mengkhelat Pb oleh EDTA. Serta kemampuannya dapat melindungi organ ginjal dari kerusakan akibat paparan logam berat ini pun juga masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Dengan alasan tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengkonfirmasi keefektifan EDTA dalam mengkhelat logam berat serta memproteksi organ tubuh (ginjal). Sehingga digunakan beberapa macam dosis EDTA dalam penelitian, yang diantaranya 50 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, serta 250 mg/kgBB. Dari ketiga dosis ini akan diketahui dosis yang paling efektif mengkhelat logam berat dan memproteksi organ ginjal.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah efektivitas EDTA dalam mengkhelat Pb darah tikus putih yang dipapar Pb asetat ?
2. Apakah EDTA efektif memproteksi ginjal tikus putih yang dipapar Pb asetat ?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui efektivitas kerja EDTA sebagai pengkelat Pb dalam darah tikus yang dipapar Pb asetat.
2. Menganalisis tingkat proteksi EDTA pada organ ginjal dengan mengamati preparat histopatologi tikus yang dipapar Pb asetat.

1.4 Manfaat

Untuk masyarakat :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat EDTA sebagai pemproteksi kesehatan dari bahaya Pb (timbal) yang ada dilingkungan.
2. Mendapatkan informasi tentang cara menanggulangi paparan Pb dengan EDTA.

Untuk peneliti :

1. Mendapatkan ilmu pengetahuan baru tentang manfaat EDTA.
2. Mendapatkan informasi untuk melakukan pengembangan penggunaan EDTA dalam bidang keilmuan Biologi.

1.5 Penegasan Istilah

1. EDTA

EDTA merupakan senyawa kimia jenis asam amina polikarboksilat yang sering digunakan sebagai titran dalam titrasi kompleksometri. Selain itu EDTA juga sering digunakan dalam pengkhelat logam berat baik dalam tubuh maupun di lingkungan.

2. Dosis EDTA

Dosis adalah takaran ukuran yang digunakan dalam suatu rancangan penelitian. Dalam hal ini dosis yang digunakan ada tiga macam yaitu 50 mg/KgBB, 150 mg/KgBB, dan 250 mg/KgBB.

3. Pengkhelat

Pengkhelat atau sering juga disebut pengikat adalah salah satu istilah yang biasa dipakai untuk senyawa kimia

4. Histopatologis Ginjal

Histopatologi sangat penting dalam mendiagnosis penyakit dan menjadi salah satu pertimbangan dalam mendiagnosis, melalui hasil pengamatan terhadap jaringan. Histopatologi ginjal yang akan diteliti pada penelitian ini merupakan kondisi ginjal pada tikus yang dipapar ogam berat Pb asetat. Kemudian histopatologi ginjal diamati. Pengamatan histopatologi ginjal berupa skoring yaitu: skor 1 jika tidak ada perubahan, skor 2 ada degenerasi parenkimatososa, skor 3 adadegenerasi hidropik, dan skor 4 adanya nekrosis sel (Tamad *et al.*, 2011).

5. Efektif

Efektif dalam penelitian ini adalah mampu mengkhelat dan meindungi organ terutama organ ginjal. Mengkhelat dengan baik jika mampu mengkhelat kadar Pb darah tikus dengan baik sehingga kadar Pb darah tikus rendah. Melindungi organ dengan baik jika meminimalisir kerusakan (sel ginjal yang mengalami kerusakan sedikit).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat Plumbum (Pb /Timbal)

Timah hitam yang memiliki nama ilmiah Plumbum adalah salah satu kelompok logam golongan IV A pada susunan tabel periodik unsur kimia. Plumbum memiliki nomor atom (NA) 82 dengan berat atom (BA) 207,2 merupakan logam berat yang berwarna kelabu berbentuk lunak dengan titik lebur 327°C dan titik didih 1.620°C . Plumbum dapat menguap dan membentuk oksigen di udara yang kemudian membentuk plumbum oksida. Bentuk oksida plumbum paling umum adalah Plumbum (II). Meskipun bersifat lunak dan lentur, Plmbum ini sangatlah rapuh bahkan mampu mengkerut pada saat didinginkan, sukar larut dalam air dingin, air panas maupun air asam tetapi Plumbum dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat, dan asam sulfat pekat. Plumbum ditambahkan pada bahan bakar kendaraan bermotor dalam bentuk senyawa organik *tetraalkhyllead*, yang terdiri dari *tetramethullead (TML)*, *tetraethyllead (TEL)* dan campuran *alkil Triethylmethyllead, diethylmethyllead* dan *ethyltrimethyllead*. Pada minyak tanah dan bahan bakar solar (diesel) tidak ditambahkan Plumbum. TEL dan TML ditambahkan kedalam bensin sebagai bahan adiktif anti ketukan mesin dan mampu menaikkan oktan bensin. TEL memiliki bentuk cairan berat yang kerapatannya 1,659 g/ml, titik didih $200^{\circ}\text{C} = 390^{\circ}\text{F}$ dan dapat larut dalam bensin (Kurniawan, 2008).

Sifat kimia Timbal yang lain yaitu ketahanan logam Timbal terhadap korosi atau karat, sehingga logam jenis ini sering dipakai sebagai bahan pelapis. Plumbum dalam bentuk organiknya Timbal (Pb) biasa digunakan dalam industri perminyakan, karena senyawa ini hampir tidak larut oleh air, namun dapat dengan mudah larut dalam pelarut organik seperti lipid. Waktu ketahanan Pb dilingkungan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti arus angin dan curah hujan. Pb tidak mengalami penguapan namun dapat ditemukan di udara sebagai partikel. Karena

Pb merupakan sebuah unsur maka tidak mengalami proses degradasi (penguraian) dan tidak dapat dihancurkan (Suciani, 2007).

2.1.1 Sumber Pencemaran Pb

Pencemaran dapat ditimbulkan oleh bahan-bahan kimia biasanya senyawa-senyawa yang bahan aktif dari logam-logam berat. Daya racun yang dimiliki oleh bahan aktif dari logam berat akan bekerja sebagai penghalang kerja enzim dalam proses fisiologis atau metabolisme tubuh. Salah satu logam berat tersebut adalah timbal atau timah hitam. Timbal (Pb) biasa digunakan sebagai campuran bahan bakar bensin, berfungsi untuk meningkatkan daya pelumasan dan meningkatkan efisiensi pembakaran. Bahan kimia ini bersama dibakar dalam mesin, sisanya $\pm 70\%$ keluar bersama emisi gas buang hasil pembakaran dan timbal yang terbang lewat knalpot merupakan salah satu diantara zat pencemar udara (Anggraini, 2012).

Timbal (Pb) adalah salah satu jenis logam berat yang mengalami peningkatan penggunaan pada industri akhir – akhir ini. Timbal berasal dari kerak bumi, karena proses alam dan penambangan menyebabkan timbal dapat dijumpai pada ekosistem makhluk hidup. Logam timbal banyak digunakan pada kehidupan sehari-hari, mulai dari kosmetik hingga bahan bakar kendaraan bermotor (Kurniawan, 2008). Dengan meningkatnya jumlah kendaraan bermotor dan industri dilingkungan kita maka akan meningkat pula kadar Timbal (Pb). Karena polusi udara semakin meningkat serta semakin banyak limbah industri yang mengandung cemaran logam berat baik Timbal (Pb) maupun logam berat lainnya.

Salah satu sumber cemaran logam berat adalah limbah industri percetakan memiliki potensi untuk mencemari lingkungan air dan tanah dengan cara melepaskan nitrat dan logam-logam berat. Salah satu industri percetakan yaitu industri percetakan koran. Limbah industri percetakan koran mengandung logam berat seperti Timbal (Pb), Krom (Cr), Cobalt (Co), Mangan (Mn), Tembaga (Cu) dan Timah (Sn) (Setiyono, 2002).

Sumber pencemaran timbal yang masuk ke tubuh manusia juga dapat berasal dari makanan laut yang dikonsumsi. Beberapa penelitian (Priyanto *et al.*, 2008,

Tarzan & Muchyidin, 2007) menunjukkan bahwa ikan yang dikonsumsi masyarakat juga mengandung Pb meskipun kadarnya masih dalam batas aman untuk dikonsumsi. Tetapi konsumsi dalam jangka waktu yang lama akan berpotensi untuk terjadinya bioakumulasi dan biomagnifikasi tubuh.

Timbal (Pb) merupakan salah satu pencemar udara yang beresiko di lingkungan. Data WHO menunjukkan bahwa lebih dari 22 juta orang beresiko terpapar timbal. Karena Timbal (Pb) dapat mengontaminasi air, tanah, dan udara mungkin juga pada jaringan tumbuhan maupun hewan. Akan lebih berbahaya jika hewan ataupun tumbuhan yang telah terpapar timbal dalam konsentrasi tinggi termakan oleh manusia. Ini dapat menyebabkan perpindahan timbal dari makanan ke tubuh manusia (WHO, 2011).

2.1.2 Absorpsi, Distribusi dan Ekskresi Plumbum

Absorpsi Plumbum melalui saluran pernafasan dipengaruhi oleh tiga proses yaitu deposisi, pembersihan mukosiliar, dan pembersihan alveolar. Deposisi terjadi di nasofaring, saluran trakeobronkial, dan alveolus. Deposisi tergantung pada ukuran partikel Plumbum, volume pernafasan dan daya larut. Partikel yang lebih besar banyak di tahan pada saluran pernafasan bagian atas dibanding partikel yang lebih kecil. Pembersihan mukosiliar membawa partikel di saluran pernafasan bagian atas ke nasofaring kemudian ditelan. Rata-rata 10% plumbum yang terinhalasi diabsorpsi melalui paru-paru, dan sekitar 5-1,0% dari yang tertelan diabsorpsi melalui saluran cerna. Fungsi pembersihan alveolar adalah membawa partikel ke eskalator mukosiliar, menembus lapisan jaringan paru kemudian menuju kelenjar limfe dan aliran darah. Sebanyak 30-40% Plumbum yang di absorpsi melalui saluran pernafasan akan masuk ke aliran darah. Masuknya plumbum ke aliran darah tergantung pada ukuran partikel daya larut, volume pernafasan dan variasi faal antar individu. Plumbum yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh sebanyak 95% plumbum dalam darah diikat oleh eritrosit. Sebagian plumbum di plasma dalam bentuk yang dapat berdifusi dan diperkirakan dalam keadaan seimbangan dengan jumlah plumbum di

bagian tubuh lainnya. Persebaran Plumbum dibagi menjadi dua yaitu ke jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, ginjal, hati) dan ke jaringan keras (tulang, kuku, rambut, gigi) (Palar, 2004).

Gigi dan tulang panjang mengandung Plumbum yang lebih banyak dibandingkan tulang lainnya. Pada gusi dapat terlihat lead line yaitu pigmen berwarna abu-abu pada perbatasan antara gigi dan gusi. Hal itu merupakan salah satu ciri khas keracunan Plumbum. Pada jaringan lunak sebagian Plumbum disimpan dalam aorta, hati, ginjal, otak, dan kulit. Plumbum yang ada di jaringan lunak bersifat toksik. Ekskresi plumbum dapat melalui beberapa cara, yang paling sering adalah melalui ginjal dan saluran cerna. Ekskresi Plumbum melalui urine sebanyak 75 - 80%, melalui feces 15% dan lainnya melalui empedu, keringat, rambut, dan kuku. Ekskresi melalui saluran cerna dipengaruhi oleh saluran aktif dan pasif kelenjar saliva, pankreas dan kelenjar lainnya di dinding usus, regenerasi sel epitel, dan ekskresi empedu. Sedangkan proses ekskresi plumbum melalui ginjal adalah melalui filtrasi glomerulus. Kadar plumbum dalam urine merupakan cerminan pajanan baru sehingga pemeriksaan plumbum urine dipakai untuk pajanan okupasional (Northberg, 1998).

2.1.3 Bahaya Pb bagi Kesehatan

Munculnya gejala klinis dari kasus keracunan plumbum memerlukan waktu beberapa jam, hari atau minggu setelah kontak dengan plumbum. Pada keadaan akut, sering tidak tertolong karena kematian terjadi sangat mendadak setelah gejala klinis muncul. Kerusakan organ dapat terjadi dalam waktu 12-24 jam dalam tubuh ketika plumbum masuk secara langsung berupa induksi. Efek-efek plumbum terhadap kesehatan dapat dijelaskan secara rinci sebagai berikut (Palar, 2004).

- a. Efek terhadap terjadinya anemia secara biokimiawi, keracunan plumbum dapat menyebabkan :
 1. peningkatan produksi ALA (Amino Levulinic Acid) plumbum akan menghambat enzim hemesintetase, yang mengakibatkan penurunan produksi

heme. Penurunan produksi heme ini meningkatkan aktivitas ALA sintetase, dan produksi ALA pada urin meningkat.

2. Peningkatan Protoporphirin yang mendukung perubahan protoporphirin IX menjadi heme, akan terhambat oleh plumbum. Hal ini akan menyebabkan terjadinya akumulasi dari protoporphirin IX pada plasma dan feses. Peningkatan Koproporphirin diakumulasi dari protoporphirin maka meningkatkan akumulasi dari koproporphirin III pada urin dan feses.

b. Efek terhadap sistem saraf pusat

Susunan saraf merupakan jaringan yang paling sensitif terhadap keracunan plumbum. Paparan tinggi dengan kadar plumbum darah di atas 80 µg/dl dapat terjadi ensefalopati. Ensefalopati merupakan bentuk keracunan plumbum yang sangat buruk dengan sindrom gejala neurologis yang berat. Terjadi kerusakan pada arteriol dan kapiler yang mengakibatkan oedema (adanya cairan) otak, meningkatnya tekanan cairan serebrospinal, degenerasi neuron dan perkembangbiakan sel glia. Kerusakan dapat pula mengenai saraf, kadar plumbum dalam darah 1–18 µg/dl menyebabkan gangguan pendengaran tipe sensorineural.

c. Efek terhadap ginjal

Keracunan berat plumbum akan menyebabkan penyakit renal progresif. Kerusakan ginjal berupa fibrosis interstitialis kronis, degenerasi tubuler, dan perubahan vaskuler pada arteri kecil dan arteriol. Akan ditemukan gambaran khas, yaitu penuhnya badan inklusi intranuklear pada sel dinding tubulus. Badan inklusi merupakan kompleks protein plumbum yang kemudian diekskresi melalui urine.

d. Efek terhadap sistem kardiovaskular

Pada keracunan plumbum akut beberapa pasien menderita kolik yang disertai peningkatan tekanan darah. Perubahan elektro kardiografi dijumpai pada 70 % penderita dengan gejala umum berupa takikardia, disritmia atrium.

e. Efek terhadap sistem reproduksi

Plumbum dapat menembus jaringan plasenta sehingga menyebabkan kelainan pada janin. Peningkatan kasus infertil wanita dan pria), abortus spontan, gangguan haid dan bayi lahir mati pada pekerja perempuan yang terpajan plumbum telah dilaporkan sejak abad 19.

2.2Efek Negatif Pb Terhadap Ginjal

Ginjal memainkan peranan penting dalam fungsi tubuh, tidak hanya dengan menyaring darah dan mengeluarkan produk sisa, namun juga dengan menyeimbangkan elektrolit dalam tubuh, mengontrol tekanan darah, menstimulasi produksi dari sel-sel darah merah. Ginjal mempunyai kemampuan untuk memonitor jumlah cairan tubuh, konsentrasi dari elektrolit- elektrolit seperti sodium dan potassium hingga keseimbangan asam basa dari tubuh. Ginjal menyaring produk produk sisa dari metabolisme tubuh, seperti urea dari metabolisme protein dan asam urat dari uraian DNA. Dua produk sisa dalam darah yang dapat diukur adalah blood urea nitrogen (BUN) dan kreatinin (Cr) (Ganong, 2013).

Hasil penelitian Yu *et al.* (2004) menyimpulkan bahwa paparan timbal dilingkungan pada dosis rendah dalam jangka waktu lama telah mempercepat memburuknya insufisiensi ginjal kronis. Hingga nefropati akut, yang ditandai dengan munculnya sindrom Fanconi dan adanya perubahan degeneratif di epitel tubular namun efek ini biasanya reversible dengan terapi khelasi. Oleh karena itu perbandingan antara gambaran Histologis ginjal normal dan ginjal yang dipapar Pb sangat diperlukan. Biasanya gambaran Histologis ginjal normal, menunjukkan gambaran glomerulus, setiap nefron terdiri atas bagian yang melebar yakni korpuskel renalis, tubulus kontortus proksimal, segmen tipis, dan tebalansa henle, tubulus kontortus distal, dan duktus koligentes (Junquieraet al., 2007). Hasil penelitian Hariono (2005) dengan pemberian 0,5 g Pb asetat netral/kgBB/oral/hr pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) selama 16 minggu terjadi penurunan BB yang signifikan ($P < 0,05$). Begitu pula rata-rata berat absolut hati, ginjal, dan limpa terjadi penurunan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol (Hariono,2005). Pada penelitian tersebut juga dihasilkan kadar plumbum dalam

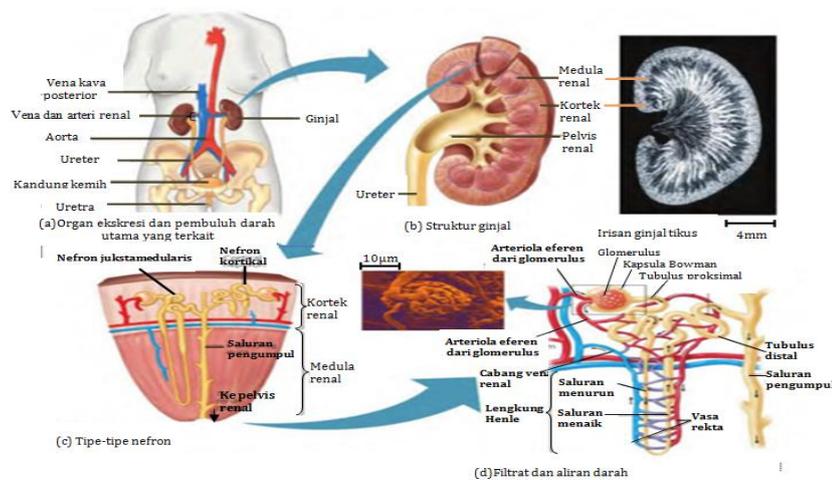
ginjal lebih tinggi dari hati dan limpa. Hal ini dapat menyebabkan ginjal lebih beresiko daripada jaringan tubuh lain (Hariono, 2005).

Plumbum yang terakumulasi pada ginjal dapat merusak ginjal, kerusakan yang dapat terjadi pada ginjal berupa pelebaran lumen, akumulasi sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi hiperplasia, perdarahan dan benda-benda inklusi (Anggraini, 2008)

2.3 Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ ekskresi tubuh. Ginjal bekerja memisahkan zat sisa metabolisme dengan cara menyaring darah. Penyaringan darah di dalam ginjal hingga terbentuk urin melalui beberapa tahapan. Menurut Junqueira & Carneiro (1980) ginjal mengatur susunan kimia lingkungan internal dengan proses-proses kompleks yang terdiri atas filtrasi, absorpsi aktif, absorpsi pasif, dan sekresi. Menurut Campbell *et al.* (2008) bahwa kapiler yang berpori-pori dan sel-sel darah kapsula yang terspesialisasi bersifat permeabel terhadap air dan zat-zat terlarut yang kecil, namun tidak terhadap sel darah atau molekul besar seperti protein plasma. Filtrat dalam kapsula Bowman mengandung garam, glukosa, asam amino, vitamin, zat buangan bernitrogen, dan molekul-molekul kecil lainnya. Jalur filtrate yang dimulai dari kapsula Bowman, filtrat mengalir ke dalam tubulus proksimal. Bagian berikutnya adalah lengkung Henle, suatu belokan yang terdapat saluran menurun dan saluran menaik.

Tubulus distal, wilayah terakhir dari nefron dan mengalirkan isi ke dalam saluran pengumpul yang menerima filtrat yang telah di proses dari berbagai nefron. Filtrat tersebut mengalir dari semua saluran-saluran pengumpul pada ginjal ke dalam pelvis renal, kemudian urin keluar dari setiap ginjal melalui ureter. Kedua ureter mengalir ke dalam kandung kemih (*urinary bladder*) yang sama. Selama kencing, urin dibuang dari kandung kemih melalui saluran yang disebut uretra (lihat Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Sistem Ekskresi Manusia.

(a) organ ekskresi dan pembuluh darah utama yang terkait; (b) struktur ginjal; (c) tipe nefron; (d) filtrat dan aliran darah (Campbell *et al.* 2008).

2.3.1 Struktur Histologis Ginjal

Ginjal merupakan bagian dari sistem urinaria yang terdiri atas 2 uah ginjal dan ureternya, kandung kemih serta uretra. Ginjal berjumlah sepasang kanan dan kiri, masing masing ginjal mendapat cabang langsung dari aorta abdominalis (Lesson *et al.*, 1990). Ginjal sendiri terletak di posterior abdomen dan terbagi menjadi dua bagian yaitu, korteks dan medula. Bagian korteks glomerulus dan tubulus renalis. Setiap berkas medula terdiri atas satu atau lebih duktus koligentes, yang memiliki bagian lurus disebut *nefron*, yaitu satuan fungsi ginjal (Junqueira *et al.*, 1998). Satu buah nefron tersusun atas kor[uskel ginjal (badan Malpighi), tubulus proksimal, ansa Henle (lengkung Henle), serta tubulus distal yang bermuara pada duktus kolektivus (Lesson *et al.*, 1990). Kurang lebih sepertujuh dari semua nefron terletak di dekat batas antara korteks- medula, dan nefron ini turut serta dalam proses filtrasi, absorpsi, hingga sekresi.

Setiap korpuskel terdiri dari seberkas kapiler yang disebut glomerulus, dan dikelilingi kapsula Bowman yang didalamnya terdapat kapiler glomerulus. Ruang diantara lapisan Bowman ini berisi urinarius yang mampu menampung cairan dari hasil saringan dinding kapiler dan lapisan visceral (Junqueira *et al.*, 1998). Ansal Henle sendiri adalah bagian ginjal yang terdiri atas ruas tebal desenden, ruas tipis

desende, ruas tebal asenden, dan ruas tipis asenden. Tubulus kontortus distal merupakan bagian ujung nefron yang dilapisi oleh sel kubus selapis. Serangkaian duktus koligentes tersusun dari sel yang tampak pucat tanpa pewarnaan (Junqueira *et al.*, 1998).

2.3.2 Fungsi Ginjal

Ginjal sebagai salah satu organ didalam tubuh yang memiliki peranan penting baik dalam fungsi fisiologi maupun anatomi. Secara garis besar fungsi ginjal adalah mengatur volume dan komposisi kimia darah dengan mengekskresikan air serta *solution* secara selektif. Fungsi ginjal antara lain :

1. Mengatur keseimbangan asam basa, dengan mengatur sekresi H⁺ dan elektrolit.
2. Mengekskresikan hasil akhir metabolisme protein yang mengandung nitrogen terutama urea, asam urat, kreatinin, dan zat-zat toksik.
3. Mengatur konsentrasi elektrolit dan tekanan osmotik cairan ekstraseluler.
4. Mengatur komposisi urin dengan tujuan untuk mengelminasi sisa metabolisme. Menghasilkan eritropoetin, rennin, dan mengaktifkan vitamin D.
5. Mensintesis glukosa dari asam amino dan precursor lainnya selama masa puasa yang panjang.
6. Mendegradasi insulin dan membuat prostaglandin.

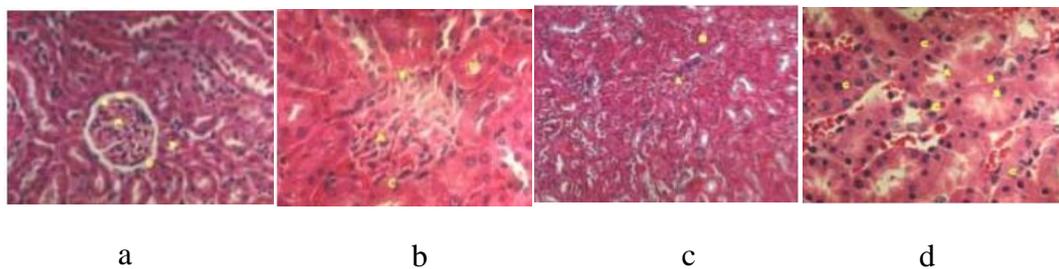
Jika terjadi satu kelainan dari fungsi diatas maka dapat menyebabkan terganggunya fungsi yang lain (Gibson, 2003).

2.3.3 Histopatologis ginjal

Apabila ginjal terpapar zat toksik terlalu lama dapat mengakibatkan kerusakan baik fungsi maupun morfologinya. Menurut Robin dan Kumar (1995) kerusakan ginjal dapat dibagi dalam empat komponen morfologi dasar seperti : glomerulus, tubulus, interstisial, dan pembuluh darah. Didalam glomerulus sering ditemukan peradangan. Pada tubulus sering memperlihatkan tanda-tanda degenerasi. Sedangkan interstitium sering mengalami radang dan penambahan jaringan ikat, dan pada dinding pembuluh darah mengalami proliferasi.

Kerusakan organ ginjal yang terjadi menyebabkan perubahan struktur ginjal secara mikroskopis. Perubahan ini terjadi karena terjadinya kerusakan yang

disebabkan oleh paparan zat toksik yaitu Pb asetat. Dari hasil penelitian terhadap tikus yang dipapar Pb asetat oleh Sari (2010) menyatakan bahwa Pb asetat berpengaruh pada terjadinya kerusakan tubulus ginjal. Semakin lama paparan Pb asetat yang diterima dan dosis yang diberikan semakin besar mengakibatkan kerusakan tubulus yang semakin parah. Dibawah ini adalah perbandingan gambaran histopatologis ginjal tikus yang tidak dipapar oleh Pb asetat dan dipapar Pb asetat :



Gambar 2.2 Histopatologis ginjal tikus a. Ginjal normal, b. Ginjal yang mengalami kerusakan pada kapsula dan glomerulus, c. Ginjal yang ruang kapsulanya tak tampak, d. Ginjal dengan kerusakan sel yang mengalami karioreksis (Ratnaningsih, 2004).

Selain Pb logam berat lain yang dapat mengakibatkan kerusakan morfologi organ ginjal antara lain Cd (Kadmium), CCl₄ (Karbon tetraklorida), dan Cu. Dari hasil penelitian Ratnaningsih (2004) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi kadmium yang masuk ke dalam tubuh serta semakin lama waktu pemaparannya, memperlihatkan kadar protein urin meningkat yang sebanding dengan akumulasi kadmium tinggi. Selain itu juga ditemukan bahwa perubahan struktur tubulus dan glomerulus ginjal.

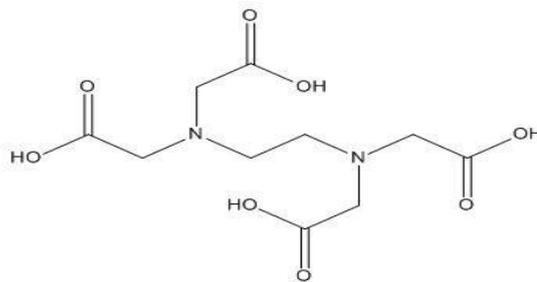
2.4 EDTA

2.4.1 Sumber EDTA

Asam etilen diamin tetra asetat atau yang lebih dikenal dengan EDTA, merupakan salah satu jenis asam amina polikarboksilat yang seringkali digunakan sebagai titran dalam titrasi kompleksometri. EDTA sebenarnya adalah ligan

seksidentat yang dapat berkoordinasi dengan suatu ion logam lewat kedua nitrogen dan keempat gugus karboksil-nya atau disebut ligan multidentat yang mengandung lebih dari dua atom koordinasi per molekul, misalnya asam 1,2-diaminoetanatetraasetat (asam etilendiamina tetraasetat, EDTA) yang mempunyai dua atom nitrogen penyumbang dan empat atom oksigen penyumbang dalam molekul (Rival, 1995)

2.4.2 Struktur Kimia EDTA dan Mekanisme Pengikatan EDTA dengan Logam

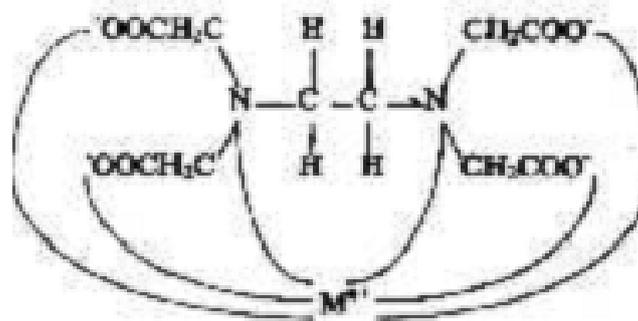


Gambar 2.3 Struktur Kimia EDTA (*Ethylendiaminetetraacetic*)

Interaksi logam dengan senyawa organik yang terjadi karena senyawa organik memiliki berat molekul tinggi dan afinitas yang tinggi terhadap logam akan membentuk kompleks logam yang tidak larut air (Aziz, 2015). Ion logam yang terikat pada molekul organik dengan pengkompleksan dan khelasi terjadi saat atom yang kaya elektron pada molekul organik berbagi sepasang elektron dengan elektron logam. Sehingga menghasilkan senyawa koordinat, khelasi terjadi pada dua atau lebih posisi koordinat yang dan ditempati oleh dua atau lebih donor molekul organik menghasilkan senyawa organo metalik yang stabil. Dalam hal ini senyawa yang berperan sebagai agen khelasi adalah EDTA, karena EDTA merupakan pelarut yang dapat melarutkan logam termasuk Pb.

Agen khelasi sendiri merupakan senyawa organik ataupun inorganik yang mampu mengikat ion logam. Karena memiliki ligan yang mengikat atom yang terbentuk dari dua ikatan kovalen maupun kovalen koordinat untuk membentuk multidentat ligan (*bidantate chelate*). Multidentat ligan ini membentuk struktur cincin dari ion logam dan 2 atom ligan yang terikat pada logam.

Menurut Allen dan Chen (1993) yang menyatakan bahwa EDTA adalah asam tetrapotik (H_4Y), H melambangkan asam dan Y melambangkan ion ethylene diamine tetraacetate ($EDTA^4$). EDTA sedikit larut dalam air dan memiliki konstanta disosiasi asam induk untuk menghasilkan H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} , dan Y^{4-} berturut-turut adalah 10^{-2} , $2,16 \times 10^{-3}$, $6,92 \times 10^{-7}$, dan $5,50 \times 10^{-11}$. Tiap ion EDTA dapat mengikat ion logam pada enam situs berbeda, empat untuk tiap ion asetat dan dua atom nitrogen sehingga memiliki tiga pasang elektron valensi yang dapat dipakai untuk membentuk ikatan koordinat seperti pada gambar berikut :



Gambar 2.4 Mekanisme Pengikatan EDTA dengan Logam (Aziz, 2015)

2.4.3 Penggunaan EDTA sebagai Pengkelat dan Pemproteksi

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) dikembangkan oleh Franz Munz in Germany pada tahun 1930 sebagai alternatif selain asam sitrat. Pada waktu yang hampir bersamaan Frederick Bersworth mensintesis EDTA di USA menggunakan teknik yang berbeda . EDTA digunakan sebagai tambahan zat aditif untuk makanan, herbisida, dan dalam farmasi, serta untuk berbagai produk konsumen, EDTA juga digunakan untuk preservasi darah dengan mengikat ion kalsium yang merupakan ion pemicu terjadinya pembekuan darah. EDTA memiliki kemampuan mengikat ion-ion Timbal (Pb) sehingga sering digunakan dalam kasus keracunan timbal maupun logam berat lainnya. EDTA juga sering digunakan untuk menangani berbagai penyakit kardiovaskuler. EDTA juga digunakan untuk kondisi darurat pada hiperkalsemia dan untuk mengontrol ritme jantung yang abnormal (*ventricular arrhythmias*) (Barton, 2014).

Hasil penelitian Flora *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa penggunaan EDTA dalam bentuk HEDTA yang dikombinasikan dengan Asam sitrat (*Citric Acid*) dan diberikan secara bersamaan (tidak dipisah) mampu mengurangi kadar aluminium di darah dan otak secara signifikan. Jadi dapat disimpulkan bahwa untuk mencapai efek optimal dari khelasi pemberian gabungan Asam sitrat dan HEDTA maka pemberiannya harus secara bersamaan (tidak dipisah).

Pada kasus pasien yang memiliki kadar Pb darah melebihi 50 µg/dl, akan dilakukan terapi pengkhelatan dengan kalsium disodium EDTA (CaNa_2EDTA), dimecarpol, D-penicillamin dan 2.3 *dimercaptosuccinic acid* (Bradberry & Vale 2009, Patrick 2006, Kalia & Flora 2005). CaNa_2EDTA dan dimecarpol biasanya digunakan dalam bentuk kombinasi untuk kasus Ensefalopati akibat Pb. EDTA diberikan dalam bentuk CaNa_2EDTA lewat infus intravena tidak lebih dari 3 jam (biasanya hanya sekitar 45 menit sampai dengan 1 jam). EDTA selanjutnya dieliminasi di ginjal (95%) dan sisanya (5%) dieliminasi melalui hepar (Sinicropi *et al.*, 2009).

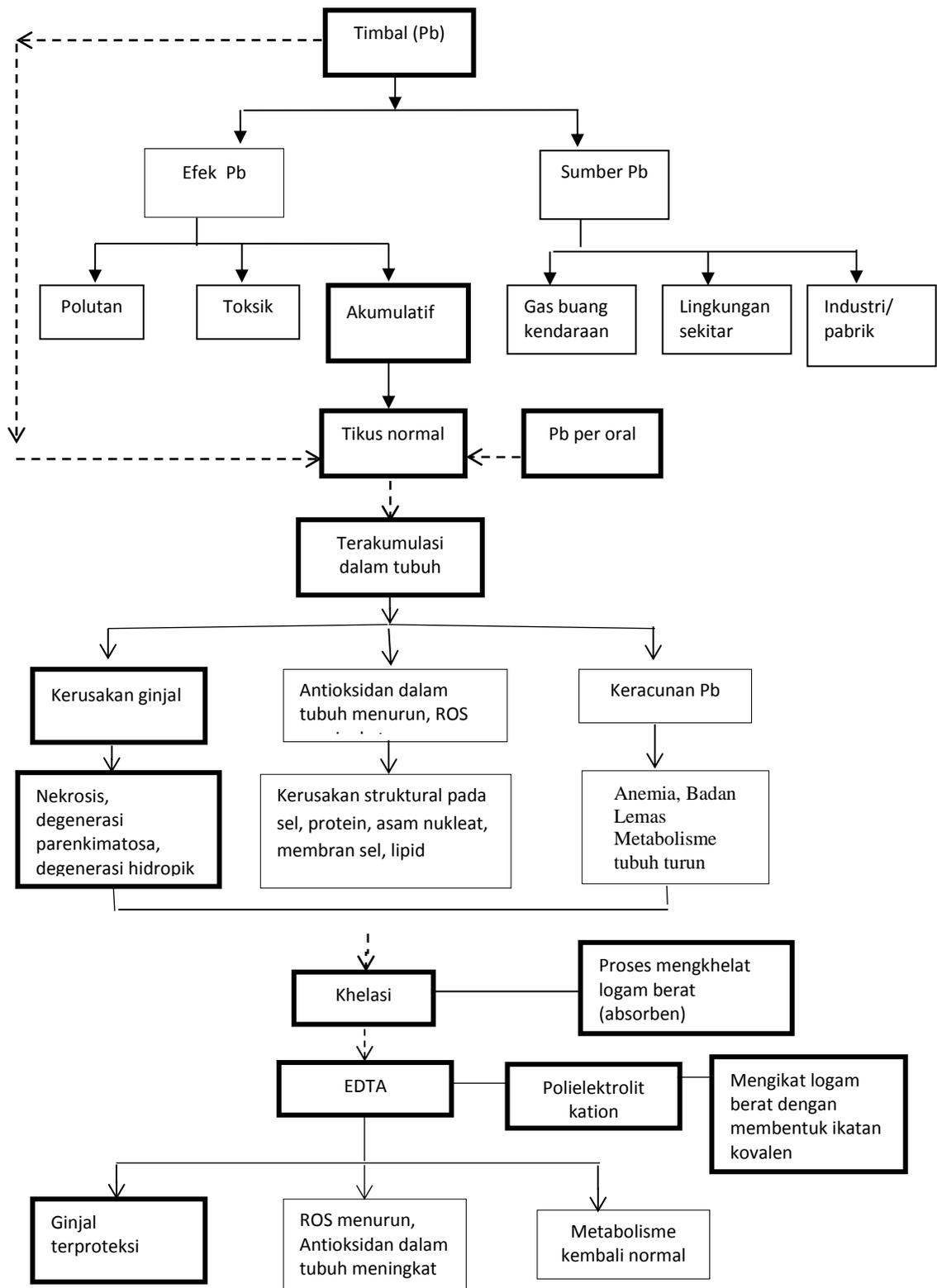
2.5 Kerangka Penelitian

2.5.1 Kerangka Teori

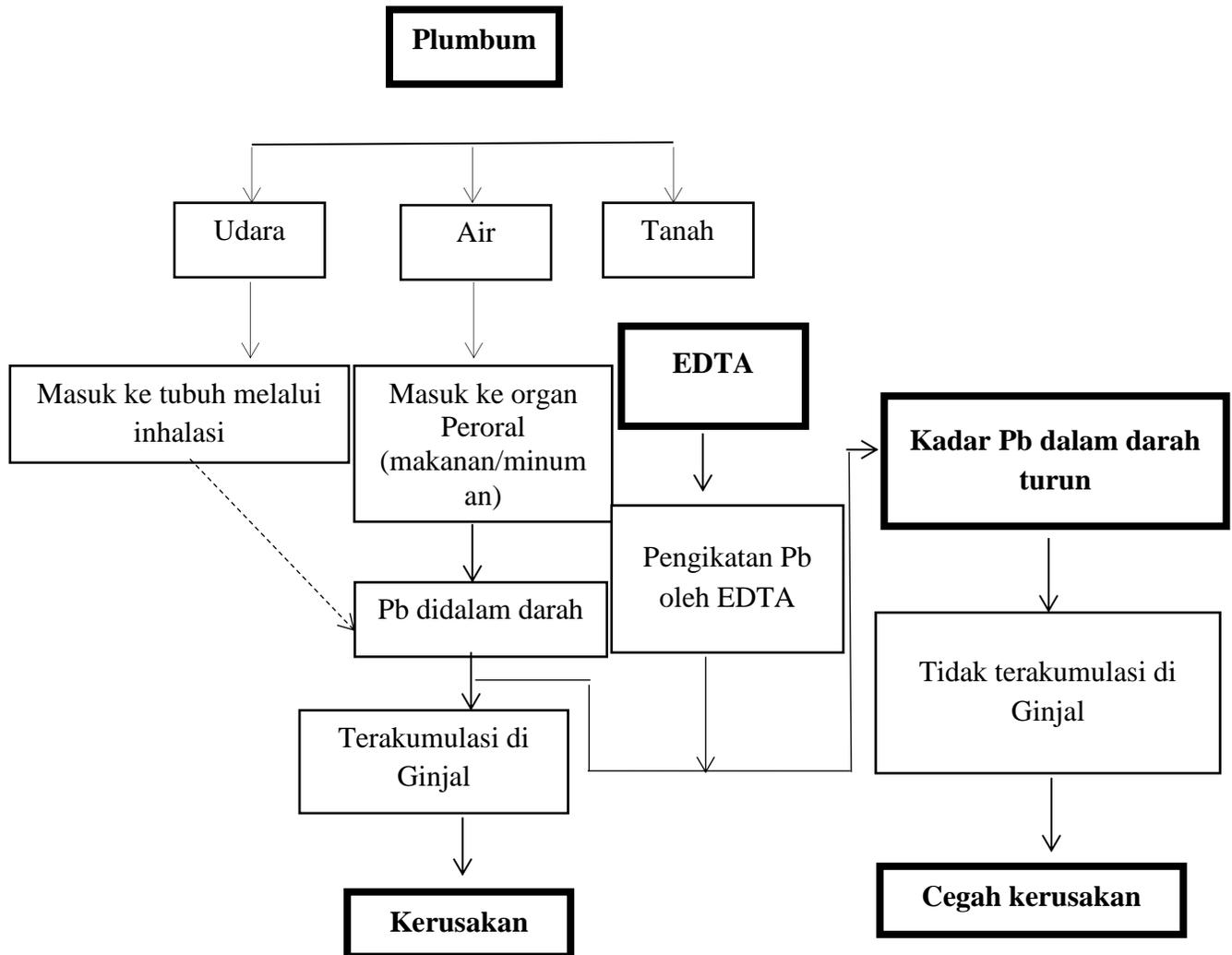
Plumbum merupakan logam berat yang dapat ditemukan di air, udara dan tanah. Tingkat pencemaran Plumbum yang semakin tinggi sepadan dengan aktivitas manusia yang padat. Plumbum masuk ke dalam organ melalui per oral dan inhalasi, kemudian akan terakumulasi di dalam organ khususnya ginjal. Karena ginjal merupakan tempat ekskresi Plumbum di dalam tubuh sebelum dikeluarkan dari tubuh bersama urin.

Plumbum yang terakumulasi di atas batas aman di ginjal dapat menyebabkan kerusakan ginjal, kerusakan yang dapat terjadi pada ginjal berupa pelebaran lumen, akumulasi debris dalam sel lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran dan kerusakan kapsula Bowman, degenerasi, hiperplasia, pendarahan, akumulasi cairan dan jaringan di lumen tubulus (Anggraini, 2008).

Kerusakan organ ginjal ini mengakibatkan biaya perawatan organ ginjal yang mahal karena pemeliharaan ginjal dengan dialisa membutuhkan biaya yang besar dan bersifat seumur hidup. Oleh karena itu diperlukan alternatif untuk mencegah kerusakan ginjal yang disebabkan paparan Plumbum yaitu dengan EDTA.



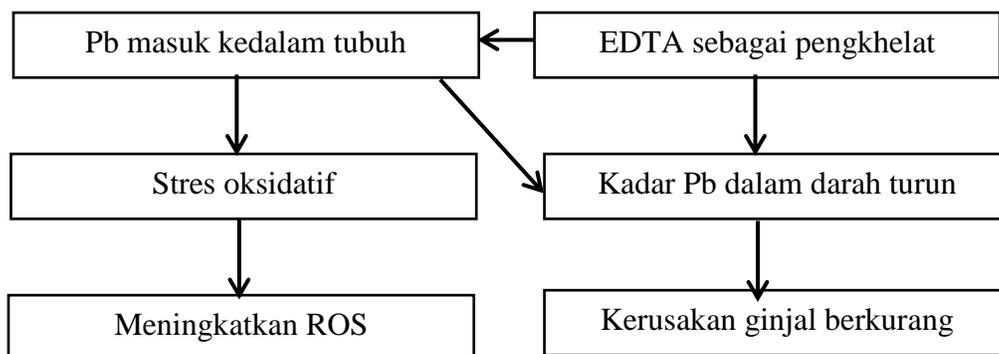
Gambar 2.5 Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.6 Kerangka Berpikir Penelitian

2.5.2 Kerangka Konsep Penelitian

Timbal (Pb) yang masuk ke dalam tubuh dapat berefek toksik. Bahkan dapat meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) yang berasal dari hasil sel yang mengalami stres oksidatif (Ostrovskaya *et al.*, 2011). Peningkatan ROS ini dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan radikal hidroksil. Hal tersebut mendukung proses terjadinya kerusakan sel (Ibrahim *et al.*, 2011), sehingga pemberian Pb asetat kepada hewan coba dimaksudkan untuk mengetahui efek kerusakan yang ditimbulkan oleh Timbal (Pb). Dan pemberian EDTA secara per oral pada hewan coba yang sebelumnya diberi Pb asetat dengan jeda 1 jam bertujuan mengikat Pb yang masuk kedalam tubuh bahkan yang sampai ke dalam organ ginjal.



Gambar 2.7 Kerangka Konsep Penelitian

2.6 Hipotesis Penelitian

Berdasar uraian pada latar belakang dan tinjauan pustaka, maka hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. EDTA efektif mengkhelat darah tikus putih yang dipapar Pb asetat.
2. EDTA efektif memproteksi ginjal tikus putih yang dipapar Pb asetat.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian EDTA dengan dosis 150 mg/kg BB efektif mengkhelat kadar Pb darah tikus yang dipapar Pb asetat dengan dosis 175 mg/kg BB.
2. Pemberian EDTA dengan dosis 150 mg/kg BB mampu memproteksi ginjal tikus yang dipapar Pb asetat dengan dosis 175 mg/kg BB.

5.2 Saran

Adapun saran yang perlu disampaikan terkait penelitian ini adalah:

1. Perlu kehati-hatian dalam penggunaan EDTA karena semakin tinggi dosis yang digunakan menimbulkan efek toksik, pada dosis 250 mg/kg BB sudah menimbulkan efek toksik/ merusak sel ginjal meskipun efektif mengkhelat Pb dalam darah.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek tingginya kadar Pb dalam darah tikus terhadap kerusakan organ lainnya baik struktur organ dan fungsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D R.2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat, Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara: 42-6.
- Anies. 2015. Penyakit Berbasis Lingkungan : *Berbagai Penyakit Menular dan Tidak Menular yang Disebabkan oleh Faktor Lingkungan*. Cetakan 1. Yogyakarta. Ar-ruzz Media: 61.
- Ardyanto, D. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat yang Terpajan Timbal (Plumbum). *JKL* 2(1): 67–77.
- Aziz, T, Rizky P A, Devah V. 2015. Removal Logam Berat Dari Tanah Terkontaminasi Dengan Menggunakan Chelating Agent (EDTA). *Jurnal Teknik Kimia* No. 2, Vol. 21.
- Barton C. 2014. EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid). Reference Module in Biomedical Sciences. *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition). Pages 310–11.
- Cadkova, Z, [Száková J](#), [Miholová D](#), [Válek P](#), [Pacáková Z](#), [Vadlejch J](#), [Langrová I](#), [Jankovská I](#). 2013. Faecal Excretion Dynamic during Subacute Oral Exposure to Different Pb Species in *Rattus norvegicus*. Springer Science. Business Media New York. 152;225-32.
- Campbell, N. A. Reece, J. B. Urry, L. A. Cain, M. L. Wasserman, S. A. Monorsky, P. V. Jackson, R. B. 2008. *Biologi*. Terjemahan Wulandari Damaring T: 2010. Edisi Kedelapan, Jilid 3. Jakarta: Erlangga.
- Cotran RS, Rennke H, Kumar V. *Buku Ajar Patologi* (7th ed). Jakarta: EGC, 2007.
- Ferrero, ME.2016.Rationale for the Successful Management of EDTA Chelation Therapy in Human Burden by Toxic Metals. *Dipartimentodi Scienze Biomedicheperla Salute Universit`adeqli Studidi Milano*.Via Mangiagalli 31,Milan,Italy.
- Flora, S.JS, Mehta A., Satsangi, K. 2003. Aluminum-induced oxidative stress in rat brain: response to combined administration of citric acid and HEDTA. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Volume 134, Issue 3, March 2003, Pages 319–28.
- Ganong, W.F. 2013. *Ganong's Review of Medical Physiology* 23rdedition. Editor : Kim E. Barrett, Susan M Barman, Scot Boitano, Heddwen L Brooks . New York. Mc Graw Hill.

- Gibson, J. 2003. *Fisiologi dan Anatomi Modern Untuk Perawat*. Edisi 2. Alih Bahasa : Bertha Sugiarto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Hariono, B. 2006. Effect of organic lead administration in rats (*Rattus norvegicus*). *J.Sain Vet*. Vol. 24(1): 125-34.
- Hugenschmidt, S., Bohne, FP, dan Taylor, DM. 1993. On the toxicity of low doses of tetrasodium-ethylenediamine-tetraacetate (Na-EDTA) in normal rat kidney (NRK) cells in culture. *Arch Toxicol* (1993) 67:76-78
- Ibrahim, NM., Eweis, EA, El-beltagi, HS, Abdel-mobdy, YE. 2012. Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2(1): 41-6.
- Junqueira, L. C. Carneiro, J. 1980. *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC.
- Junquera, LC, Carnuero J, dan Robert, OK. 2008. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme Dengan Pemakaian Secara Klinis*. Edisi I. Alih Bahasa : Aminudin Parakasi. Jakarta: Penerbit Indonesia University Press.
- Komousani, T A, Said S M. 2011. Modulation of lead biohazards using a combination of epicatechin and lycopene in rats. *Human and Experimental Toxicology* 30(10) 1674-81.
- Kosnett, MJ. 2012. Heavy Metals Intoxication and Chelators (Chapter 57). Basic and Clinical Pharmacology. 12t eedition. Editor Katzung, B,G. Masters, SB., Trevor, AJ.. Mc GrawHill Companies Inc. p: 1013-17.
- Kurniawan, W .2008. Hubungan kadar Pb dalam darah dengan profil darah pada mekanik kendaraan bermotor. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang .
- Landis, Wayne G., R. M. Solfield, Ming – Hoyu. 2011. *Introduction to Environmental Toxicology Molecular Substructures to Ecological Landscapes* 4th Edition. CRC Press Taylor & Franciss Group
- Ladiges W, Wanagat J, Preston JB, .2010. A Mitichondrial view of aging reactive oxygen species and metastatic cancer aging cell; 9. 462-465.
- Lesson, CR, Thomas, SL, Anthony P.1990. *Buku Atlas Histologi*. Edisi 5. Penerjemah : Koseparto Siswojo. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Lin, W, Zengyong W, Jianzhu L .2010. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic lead nephropotoxicity in immature female rats. *Human and Experimental Toxicology* 29(7) : 581-91.

- Marianti, A., Anies, A., dan Abdurachim, H.R.S.2016. Causality pattern of the blood lead, monoamine oxidase A, and serotonin levels in brass home industry workers chronically exposed to lead. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 38 (2), 147-153, Mar. - Apr. 2016
- Marianti, A., Anatiarasara D & Ashar FF. 2017. Chitosan as Chelating and Pro-TECTIVE Agents from Lead Intoxication in Rat. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 9(1): 126-133
- Norberg, G. 1998. Metal : Chemical Properties & Toxicity In : Stellman J (ed): *Encyclopedia of Occupational & Safety*, 4 ed. Geneva:ILO.
- Ostrovskaya, S.S., Shatornaya, V.F, & Kolosova, I. 2011. Combined impact of plumbum and cadmium on the organism. *Foreigning Literature Review*. Vol. 13.
- Palar, H. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. 1994 : 20-30 Jakarta: Renika Cipta.
- _____.2004. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Renika Cipta.
- Patra , R.C. D. Swarup, S.K. Dwivedi.2001. Antioxidant effects of tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Environmental Medicine Laboratory, Division of Medicine, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India*.
- Priyanto, N. Dwiyitno, dan F. Ariyani.2009. Kandungan Logam Berat (Hg, Pb, Cu) pada Ikan, Air dan Sedimen di Waduk Cirata Jawa barat. *Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol 3 No 1 Juni 2009 : 69-78.
- Purnomo, T., Muchyiddin. 2007. Analisa Kandungan Timbal (Pb) pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) di Tambak Kecamatan Gresik. *Neptunus* vol 14 No 1: 69 – 77.
- Ratnaningsih, A. 2004. Pengaruh Kadmium terhadap Gangguan Patologik pada Ginjal Tikus Percobaan. *Jurnal matematika, Sains, dan Teknologi*. Vo.5 (1).
- Robbins, S L dan Kumar, V. 1995. Buku Ajar. *Patologi 1* (Basic Pathology part I) Edisi IV. Editor : dr. Jonathan Oaswari. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG Page 1-27.
- Rival, Harrizul. 1995. *Asas Pemeriksaan Kimia* .Jakarta: UI Press.

- Sakkir B, Khidri, M.A, Sjafruddin Ahmad . 2008 .Kadar timbal dalam darah pada anak-anak di kota Makasar.*Jurnal Kesehatan Masyarakat Madani* 01(02) .
- Sari, D H. 2010. Pengaruh Timbal (Pb) Pada Udara Jalan Tol Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal dan Kadar Timbal (Pb) dalam Darah Mencit Balb/C Jantan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Setiyono. 2002. Sistem Pengelolaan Limbah B-3 di Indonesia. Kelompok Teknologi Air Bersih dan Limbah Cair, Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan (P3TL), Deputi Bidang Teknologi Informasi, Energi, Mineral dan Lingkungan, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT).
- Siahaan, Grace S., Poppy ML.,Lily LL.2016. Gambaran histopatologik ginjal tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin dan diberikan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir).Universitas Sam Ratulangi. *Jurnal e-Biomedik* (eBm), Volume 4, Nomor 1, Januari-Juni 2016
- Sinicropi, M.S, Amantea, D, Caruso, A. Saturnino, C. 2010. Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning (Review Article). *Arch Toxicol* 84:501–520. DOI 10.1007/s00204-010-0544-6
- Tamad FSU, Hidayat ZS, danSulistyo H. 2011. Gambaran Histopatologi Tikus Putih setelah Pemberian Jinten Hitam Dosis 500mg/kg BB, 1000mg/kgBB dan 1500mg/kgBB selama 21 hari (subkronik), *Jurnal Mandala of Health*, 5 (III).
- WHO (*World Health Organisation*), 2003. *Adetic acid* (EDTA) in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality.
- WHO (*World Health Organisation*), 2011. Lead in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality.
- Yaswir, Afrida Maiyesi.2012. Pemeriksaan Laboratorium Cystatin C Untuk Uji Fungsi Ginjal. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2012; 1(1).
- Yu, C C, Lin, J.A, Tan D.T.L. 2004. Environmental Exposure to Lead and Progression of Chronic Renal Diseases: A Four-Year Prospective Longitudinal Study. *Journal American Society of Nephrology* 15: 1016–1022, 2004.
- Yushui M, Fu Da, Liu Zongping, 2012. Effect of lead an apoptosis in cultured rat primary osteoblast.*Toxicology and Industrial Health*. 28(2) : 136-46.