

PENGARUH INDUKSI TIMBAL TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID PADA DARAH MENCIT (*Mus musculus*)

Liah Kodariah^{1*} . Aziz Ansori Wahid¹ . Viona Anissa Putri¹ . Tyas Ismi Fadilah¹

¹Program Studi D-3 Analisis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali,
Jawa Barat, Indonesia
e-mail: liahliah72@gmail.com
No Telepon WA: 083869865452

Abstract

Background: Lead is a toxin that can enter the body through respiration, ingestion, and skin exposure. Lead is a compound derived from motor fuel combustion residues, industrial processes, and lead-containing paints. Absorption of lead into the body could increase the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) and reduce the body's antioxidant systems, causing oxidative stress due to an imbalance between oxidants and antioxidants with metabolism result as lipid peroxidation. Lipid peroxidation is measured as malondialdehyde (MDA) levels. **Research Objective:** To determine the effect of lead induction on MDA levels in mice (*Mus musculus*) plasma. **Research Method:** The method used was experimental on 25 male Swiss Webster mice divided into five groups, one control group, and four groups induced with oral lead acetate over different time periods. The samples were blood plasma obtained from mice hearts at exposure-specific time intervals. **Results:** The research results showed an MDA levels increase in plasma with a statistically significant average ($p < 0,005$). The MDA levels increased significantly between the control group and the groups of mice induced with lead acetate for 3 and 4 weeks. **Conclusion:** This study demonstrates that lead induction can increase plasma MDA levels in mice.

Keywords: Lead (Pb), Mice, Malondialdehyde, Oral

Abstrak

Latar Belakang: Timbal merupakan toksin yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui respirasi, pencernaan, dan kulit. Timbal merupakan senyawa yang terbuat dari sisa pembakaran bahan bakar motor, industri, serta cat yang mengandung timbal. Absorpsi timbal ke dalam tubuh dapat meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* dan mengurangi sistem antioksidan dalam tubuh, sehingga menyebabkan stress oksidatif karena ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dengan hasil metabolisme berupa peroksida lipid. Peroksida lipid diukur sebagai kadar *malondialdehyde (MDA)*. **Tujuan Penelitian:** Untuk mengetahui pengaruh induksi timbal pada kadar MDA plasma mencit. **Metode Penelitian:** Metode yang digunakan yaitu eksperimental pada 25 mencit *swiss webster* jantan yang dibagi menjadi lima kelompok, satu kelompok kontrol dan empat kelompok diinduksi Pb asetat secara oral dengan rentang waktu yang berbeda. Sampel merupakan plasma darah mencit yang diperoleh dari jantung dengan waktu pengambilan sesuai rentang waktu paparan. **Hasil:** Setelah mencit menerima perlakuan, hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA plasma dengan rata-rata secara statistik $p < 0,05$. Tingkat MDA meningkat secara signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 3 dan 4 minggu. **Kesimpulan:** Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi Pb dapat meningkatkan kadar MDA plasma pada mencit.

Kata Kunci: Timbal (Pb), Mencit, *Malondialdehyde*, Oral

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang yang warganya aktif menggunakan transportasi dan banyaknya sektor industri dalam berbagai bidang yang menggunakan bahan bakar utama minyak bumi sebagai bahan bakar utamanya. Minyak bumi berpotensi menyebabkan kualitas udara menurun karena memiliki produk sampingan berupa logam berat yang dapat mencemari lingkungan dan mengganggu kesehatan (Sembel, 2015). Menurut *World Database*, diperkirakan pada tahun 2020 penduduk Indonesia akan terkena polusi udara (Gunawan, 2015). Polusi udara disebabkan oleh hasil pembakaran minyak bumi yaitu kabut asap yang mengandung berbagai senyawa polutan, diantaranya adalah timbal (Pb).

Timbal (Pb) merupakan logam berat bersifat toksik yang dalam konsentrasi tertentu dipandang sebagai zat berbahaya. Timbal dapat berperan sebagai radikal bebas dalam tubuh atau dapat juga disebut sebagai oksidan. Kadar antioksidan dan oksidan yang tidak seimbang dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya kondisi stress oksidatif (Sinaga, 2016). Kondisi radikal bebas melebihi kadar normal dapat mengakibatkan penurunan antioksidan yang mampu menetralkan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang pada akhirnya dapat menurunkan kapasitas antioksidan total di dalam tubuh. Timbal dalam bentuk ioniknya (Timbal asetat) dapat menyebabkan *lipid peroxidation*. *Lipid peroxidation* termasuk ke dalam reaksi berantai yang menyuplai radikal bebas. Ketika kadar radikal bebas lebih tinggi dari antioksidan, maka tubuh akan mengalami instabilitas oksidan.

Lipid peroxidation menyebabkan rantai asam lemak terurai dan membentuk produk akhir dengan salah satu unsur karbon yang paling aktif, yaitu malondialdehyde (MDA). MDA menjadi biomarker dari kerusakan oksidatif karena MDA merupakan hasil akhir dari *Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)* dalam membran sel dan plasma lipoprotein melalui proses enzimatik maupun non enzimatik (Ayala, 2014). Peningkatan kadar MDA di dalam darah dapat mengindikasikan respon yang tinggi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh

dalam tubuh sehingga dapat digunakan sebagai salah satu biomarker aktivitas antioksidan dari stress oksidatif yang sejalan dengan tingginya kadar *lipid peroxidation* dalam tubuh (Shofia et al., 2013; Aora dkk., 2013). Peningkatan produksi radikal bebas memiliki efek jangka panjang berupa penyakit kronis pada manusia yang berhubungan dengan stress oksidatif (Bocci & Valacchu, 2013). Pada neuron, tingginya produksi ROS dianggap sebagai salah satu factor utama dalam perkembangan penyakit neuradegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Breitenbach et al., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Endrinaldi (2014) mengenai pengukuran kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan induksi timbal asetat secara oral selama 28 hari menunjukkan hasil bahwa peningkatan konsentrasi timbal asetat akan diikuti dengan meningkatnya kadar MDA serum dan penurunan berat badan tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan timbal terhadap kadar MDA yang berpotensi mengakibatkan instabilitas antioksidan pada 4 kelompok mencit (*Mus musculus*) dengan dosis sama namun lama paparan yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Populasi yang digunakan sebagai penelitian adalah seluruh mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss Webster dengan rata-rata berat 20 - 30 gram dan rentang usia dua hingga tiga bulan. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest sebagai pelarut; ketamin sebagai anestesi; padatan Pb asetat sebagai zat perlakuan; larutan 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP), *Thiobarbituric Acid* (TBA), dan *Trichloroacetic Acid* (TCA) untuk larutan standar MDA. Alat yang digunakan yaitu botol semprot, *centrifuge*, kandang mencit, labu ukur, spektrofotometer UV-VIS, spuit 1 cc, dan *waterbath*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 25 mencit *Swiss Webster*. Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental*

dengan desain *posttest only control design* pada mencit yaitu penelitian dilakukan setelah mencit mendapatkan perlakuan berupa pemberian larutan timbal asetat. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok control dengan kelompok perlakuan.

Sebelum dilakukan eksperimen, mencit diaklimasi selama tujuh hari dengan menerima pakan dan air yang cukup. Masing-masing kelompok berisikan lima ekor mencit. Kelompok control hanya menerima pakan standar tanpa induksi Pb asetat, kelompok P1 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 7 hari, kelompok P2 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 14 hari, kelompok P3 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 21 hari, kelompok P4 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 28 hari.

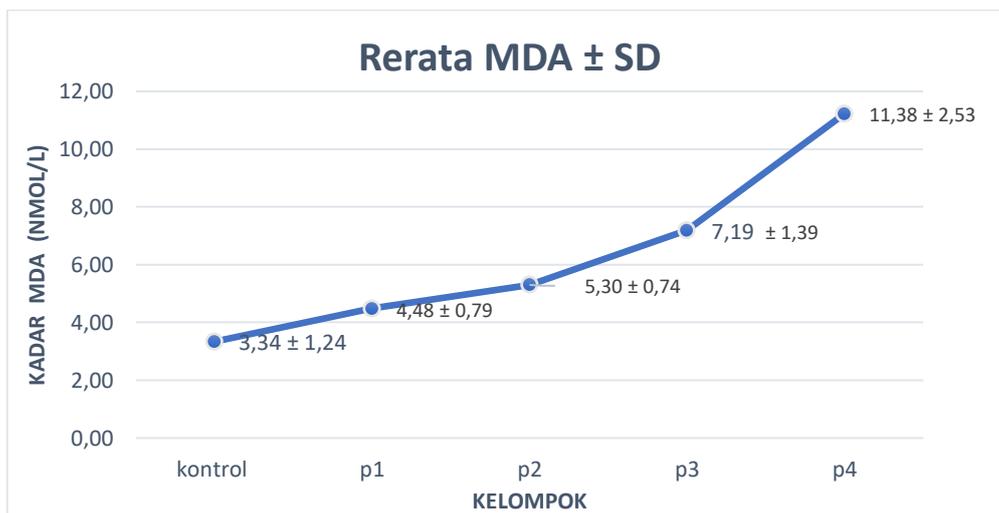
Larutan Pb asetat dibuat dengan cara menimbang 78 mg Pb asetat ke dalam 200 ml aquadest. Sebelum mencit diberikan perlakuan, mencit ditimbang untuk mengetahui beratnya. Perlakuan diberikan dengan memasukkan 0,5 ml larutan Pb asetat secara oral menggunakan sonde. Sonde dimasukkan melalui mulut hingga lambung secara hati-hati. Selama perlakuan, mencit diberi pakan dan minum secara teratur. Perlakuan dihentikan menurut kelompok paparan yaitu setelah 7, 14, 21, dan 28 hari. Setelah itu, mencit diberikan ketamin sebagai anestesi, serta dilanjutkan dengan pembedahan dan pengambilan darah dari jantung untuk mengukur MDA dalam plasma mencit.

Pengukuran kadar MDA plasma dilakukan dengan metode TBARS (*Thibarbituric Acid Reactive Substrance*). 100 μ l plasma darah mencit dimasukkan ke dalam tabung, dimana sebelumnya telah dicampurkan 0,5 ml larutan TCA dan 1 ml larutan TBA 0,067% ke dalam tabung tersebut. Campuran plasma, TCA, dan TBA kemudian dipanaskan ke dalam *waterbath* dengan suhu 95^o C selama 1 jam. Campuran kemudian didinginkan hingga suhu ruang, lalu disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dipindahkan ke dalam kuvet, lalu absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. *One text Annova* digunakan

untuk memproses data dengan tingkat kepercayaan 95%. Lalu dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* jika terdapat perbedaan antara lima kelompok perlakuan ($P < 0,05$)

HASIL

Setelah dilakukan pengukuran kadar MDA, didapatkan hasil rata-rata perkelompok seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata Kadar MDA

Pada Gambar 1. Dapat dilihat data hasil rerata MDA mencit yang diberi perlakuan induksi Pb asetat secara oral mengalami peningkatan kadar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini terjadi karena mencit kelompok kontrol hanya diberi pakan saja, sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan kadar MDA yang mengalami peningkatan sesuai dengan lama waktu paparan yang diberikan. Pengujian selanjutnya adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-wilk* yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Data

Kelompok	Nilai p
Kontrol	0,182
P1	0,843
P2	0,627
P3	0,735
P4	0,488

Kesimpulan yang dapat diambil dari Tabel 1. yaitu bahwa kelima kelompok memiliki nilai $p \geq 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa distribusi data grup secara keseluruhan adalah normal. Selain itu, pengujian dilakukan juga untuk mengidentifikasi variasi data. Uji Homogenitas Varians menghasilkan nilai p sebesar 0,057 yang menandakan bahwa data varian yang sama atau memiliki distribusi dengan nilai $p \geq 0,05$. Uji perbandingan yang digunakan adalah uji *One Way Anova* dengan koreksi post hoc Bonferroni karena varian data yang diperlihatkan dan data yang didistribusikan secara normal atau memiliki varian yang sama (Dahlan, 2014). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan sebagaimana yang ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *One Way Anova* pada nilai MDA Plasma Rerata Kelompok Mencit

Kelompok	Rerata ($\mu\text{mol/L}$)	SD	<i>P</i>
Kontrol	3,34	1,24	
P1	4,48	0,79	
P2	5,30	0,74	0,000
P3	7,19	1,39	
P4	11,38	2,53	

Dengan tingkat kepercayaan 95%, analisis statistik menggunakan uji *One Way Anova* pada Tabel 2. Menghasilkan nilai $p = 0,000$ atau $p \leq 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat kelompok dengan rerata kadar MDA yang berbeda secara signifikan. Setelah hasil dianalisis, selanjutnya dilakukan Tes *Posthoc Bonferroni* untuk menentukan kelompok mana yang menunjukkan penyimpangan yang signifikan dari kadar MDA rata-rata. Tabel 3. menyajikan hasil analisis Posthoc.

Berdasarkan Tabel 3. dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kadar MDA kelompok Kontrol dengan kelompok P3 dan P4 serta perbedaan bermakna antara kelompok P4 dengan semua kelompok perlakuan. Namun hal tersebut tidak berpengaruh dari lamanya waktu paparan timbal terhadap kadar MDA. Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi Pb asetat memiliki pengaruh yang bermakna terhadap kadar MDA dan terdapat perbedaan yang bermakna antara rerata kadar MDA kelompok mencit yang diinduksi Pb selama 3 minggu dan kelompok mencit yang diinduksi Pb selama 4 minggu.

Tabel 3. Analisis Posthoc Perbandingan Kadar MDA Antar Kelompok

Kelompok	Kelompok	Nilai p
Kontrol	P1	1,000
	P2	0,506
	P3	0,006*
	P4	0,000*
Perlakuan 1	Kontrol	1,000
	P2	1,000
	P3	0,930
	P4	0,000*
Perlakuan 2	Kontrol	0,506
	P1	1,000
	P3	0,581
	P4	0,000*
Perlakuan 3	Kontrol	0,006*
	P1	0,093
	P2	0,581
	P4	0,003*
Perlakuan 4	Kontrol	0,000*
	P1	0,000*
	P2	0,000*
	P3	0,003*

DISKUSI

Peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuh dapat menimbulkan efek jangka panjang dan beberapa penyakit kronis pada manusia karena berkaitan dengan stress oksidatif (Boccin & Valacchi, 2013). Dalam sel saraf, peningkatan produksi ROS dianggap sebagai salah satu faktor utama yang bertanggung jawab untuk perkembangan gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Breitenbach et al., 2013).

Peningkatan kadar radikal ROS dapat disebabkan oleh turunnya aktivitas katalase intraseluler yang terhambat karena masuknya timbal ke dalam jalur heme. Timbal mampu menghambat reaksi enzim d-ALAD dengan cara megkhelat biosintesis heme yang menyebabkan enzim katalase mengalami penurunan. ROS yang tinggi dapat mengakibatkan proses oksidasi pada unsur

lipid, terutama lipid dengan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh dapat menjadi jembatan oksidasi dalam membentuk radikal bebas dalam suatu rantai. Salah satu produk yang terbentuk dari oksidasi lipid adalah *lipid peroxidation (ROOH)*. Kondisi *lipid peroxidation* yang tidak seimbang dapat mengakibatkan senyawa tersebut mudah untuk dipecah dan membentuk berbagai unsur, salah satunya adalah MDA. MDA merupakan toksikan aldehida hasil dari reaksi antara lipid dengan logam transisi bebas dalam darah seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} . Peningkatan kadar MDA di dalam darah dapat mengindikasikan respon yang tinggi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh, sehingga MDA dapat digunakan sebagai parameter untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam sel (Endrinaldi, 2014).

Hasil pengukuran kadar MDA menunjukkan bahwa peningkatan MDA terpantau pada kelompok P1, P2, P3, dan P4 serta kelompok kontrol tidak mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena kelompok control tidak diberikan paparan Pb asetat sehingga tidak memicu terjadinya stress oksidatif penyebab tingginya MDA. Kenaikan kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan ditunjukkan dengan rata-rata kenaikan kadar MDA setiap kelompok, yaitu kelompok P1 4,48 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P2 5,30 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P3 7,19 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P4 11,38 $\mu\text{mol/L}$; dan kelompok kontrol 3,34 $\mu\text{mol/L}$.

Jumlah stress oksidatif yang dialami organ dinilai dengan mengukur kadar MDA dalam organ. Stress oksidatif meningkat secara langsung dengan jumlah MDA yang ada di organ tersebut. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar MDA sejalan dengan lamanya waktu paparan mencit oleh Pb Asetat yang ditunjukkan oleh temuan penelitian (Gambar 1.), MDA rata-rata pada kelompok kontrol memiliki kadar terendah yaitu 3,34 $\mu\text{mol/L}$. Hal ini terjadi karena mencit kelompok kontrol tidak menerima perlakuan induksi apapun. Sementara kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberikan perlakuan berupa induksi Pb asetat selama 4 minggu memiliki rata-rata kadar MDA paling tinggi yaitu 11,38 $\mu\text{mol/L}$. Hasil penelitian sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fitra Jajar (2020) yaitu induksi timbal asetat secara intraperitoneal dengan dosis 100mg/kg selama 14 hari dengan rerata kadar MDA

terbesar sebanyak $57,32 \pm 21,42$ nmol/mL. Hasil ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara timbal dengan kadar MDA.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar Malonaldehid (MDA) pada plasma mencit yang belum diinduksi timbal sebesar $3,34 \mu\text{mol/L}$, adapun kadar MDA yang diinduksi timbal selama 7, 14, dan 28 hari yaitu sebesar $4,48 \mu\text{mol/L}$, $5,30 \mu\text{mol/L}$, dan $11,38 \mu\text{mol/L}$. Dari penelitian yang telah dilakukan, terdapat pengaruh bermakna antara mencit yang diinduksi dengan timbal dan tidak diinduksi timbal terhadap kadar MDA berdasarkan variasi rentang waktu paparan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada LPPM Institut Kesehatan Rajawali yang senantiasa memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Ariati, F. J. (2020). *Pengaruh Induksi Logam Berat Timbal Asetat Terhadap Kadar Malondialdehid Serum dan Jaringan Otak Mencit (Mus musculus)* [Tesis].
- Ayala, A., Munoz, M. F., & Arguelles, S. (2014). *Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal*. *Oxid Med Cell Longev*.
- Bocci, V., & Valacchi, G. (2013). Free Radicals and Antioxidants: How to Reestablish Redox Homeostasis in Chronic Diseases? *Current Medicinal Chemistry*, 20(27), 3397-3415. <https://doi.org/10.2174/0929867311320270005>
- Breitenbach, M. (2013). Oxidative stress and neurodegeneration: the yeast model system. *Frontiers in Bioscience*, 18(3), 1174. <https://doi.org/10.2741/4171>
- Dahlan, M., & Sopiudin. (2014). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Epidemiologi Indonesia.

- Endrinaldi, & Asterina. (2014). Pengaruh Timbal (Pb) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Putih Jantan. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3).
- Sembel. (2015). *Toksikologi Lingkungan: Dampak Pencemaran dari Berbagai Bahan Kimia dalam Kehidupan Sehari-hari*. Penerbit Andi.
- Shofia, V., Aulanni'am, & Mahdi, C. (2013). Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Tipe 1. *Kimia Student Journal*, 1(1), 119-125.
- Sinaga, F. (2016). Stress Oksidatif dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *J Gener Kampus*, 9(2), 176-189. <https://doi.org/10.1042/BJ20091286>