

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Telaah Pustaka

2.1.1. Timbal

Dalam Bahasa Inggris timbal disebut *lead* dan dikenal dalam Bahasa Latin sebagai *plumbum* dengan simbol Pb. Timbal memiliki nomor atom 82 dan merupakan logam berat dengan titik leleh yang rendah. Warnanya perak kebiruan dan biasanya ditemukan berkombinasi dengan elemen lain, namun sangat jarang ditemukan dalam bentuk logam (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2007).

Secara alami timbal ditemukan pada kerak bumi, namun karena sifatnya yang baik dan mudah digunakan dalam berbagai aktivitas manusia maupun industri serta hemat biaya, timbal kini menjadi salah polutan yang mencemari lingkungan baik udara, tanah maupun air. Timbal bisa dikombinasikan dengan logam lain dalam industri, juga digunakan dalam produk pabrik seperti bensin, mainan, baterai dan lain-lain. Penggunaan timbal paling banyak adalah pada aki kendaraan seperti mobil dan lain-lain (Alwaleedi, 2016). Timbal dalam bentuk logam bersifat resisten terhadap korosi. Selain itu timbal mudah diubah bentuk dan mudah pula dipadukan dengan logam lain sehingga mampu membentuk lapisan yang dapat melindungi dari serangan udara dan air untuk mencegah korosi. Paduan ini umum ditemukan dalam produk seperti pipa, aki, amunisi, lapisan kabel dan alat beban. Selain itu senyawa timbal juga digunakan dalam campuran cat, pewarna dan lapisan keramik, dan pada bahan bakar bensin (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2007).

Penambahan jumlah timbal menjadi masalah besar pada negara-negara berkembang. Timbal secara alami masih dapat ditemukan dengan jumlah yang sangat kecil pada tanah, air, tumbuhan dan hewan, namun tidak memiliki fungsi dalam tubuh organisme. Ada pun keberadaan timbal di atmosfer hampir seluruhnya berasal dari aktivitas manusia (Prasad *et al.*, 2013). Paparan timbal tidak bisa menghilang sepenuhnya dari lingkungan manusia. Timbal masuk ke tubuh manusia melalui udara, makanan, debu, tanah, dan air. Timbal bisa masuk jika manusia mengonsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi atau dengan menghirup timbal yang tersebar

di udara. Paparan juga dapat terjadi melalui debu dan tanah di daerah perumahan dekat dengan lalu lintas (D'souza *et al.*, 2014). Toksisitas timbal cukup tinggi bahkan dengan level paparan yang rendah (WHO, 2014).

2.1.2. Metabolisme Timbal

Timbal mampu masuk ke dalam tubuh manusia melalui berbagai macam media seperti udara, air dan makan makanan yang terpapar. Terdapat tiga jalur utama timbal masuk ke dalam tubuh, yaitu kulit, sistem pencernaan dan sistem pernapasan (Morrissey, 2017). Timbal organik dapat ditemukan pada bensin dan diabsorpsi melalui kulit, sedangkan timbal inorganik diabsorpsi melalui paru-paru atau saluran pencernaan (National Research Council, 2013). Saluran pencernaan merupakan jalur utama pada anak-anak dengan estimasi 50 persen. Sedangkan pada orang dewasa penyerapan timbal melalui saluran cerna sekitar 8-10 persen dan akan meningkat jika individu yang berpuasa atau yang mengalami kekurangan asupan kalsium, besi, fosfor, atau zink. Walaupun pada orang dewasa saluran pencernaan bukan jalur utama masuknya timbal ke dalam tubuh, tetapi bisa menjadi kontributor yang signifikan, terutama jika bekerja dilingkungan dan mengkonsumsi makanan yang tercemar timbal (National Research Council, 2013).

Pada orang dewasa absorpsi timbal paling besar melalui jalur pernapasan dengan jumlah sekitar 50 persen. Paparan melalui respirasi terjadi karena beberapa aktivitas seperti pengikisan, pengampelasan, pembakaran cat yang mengandung timbal serta berbagai proses peleburan/pembakaran seperti sisa asap kendaraan bermotor (National Research Council, 2013).

Ada tiga proses yang mempengaruhi proses absorpsi timbal melalui saluran pernafasan. Proses tersebut adalah deposisi, pembersihan mukosiliar, dan pembersihan alveolar. Deposisi terjadi di nasofaring, saluran trakeobronkial, dan alveolus. Deposisi sangat bergantung pada ukuran partikel timbal dalam pernafasan dan daya larutnya. Kebanyakan partikel dengan ukuran besar akan berdeposisi di saluran pernafasan bagian atas dibanding partikel yang lebih kecil. Pembersihan mukosiliar membawa

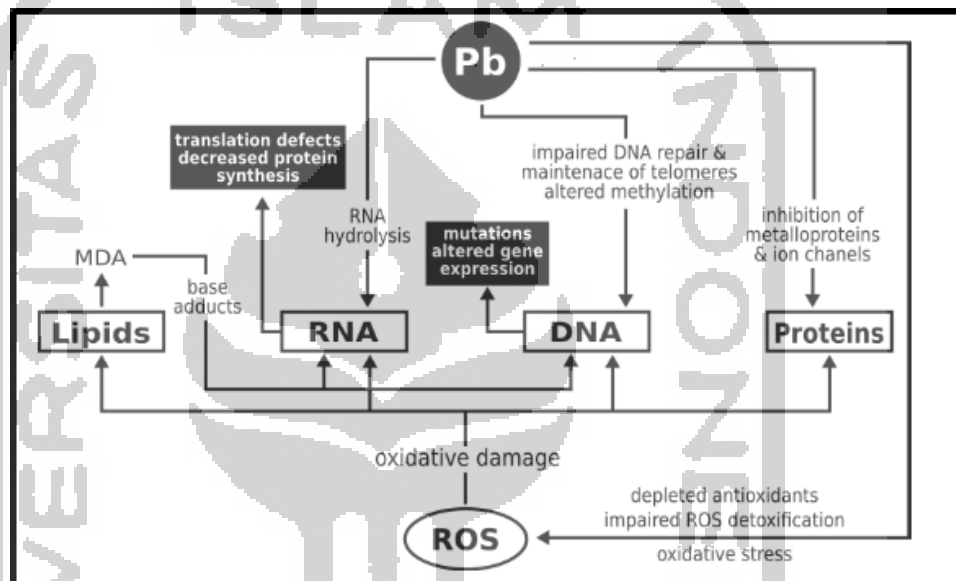
partikel di saluran pemapasan bagian atas ke nasofaring kemudian di telan. 5-10 persen dari timbal yang tertelan tadi akan diabsorpsi melalui saluran cerna dan kemudian masuk ke peredaran darah. Pembersihan alveolar akan membawa partikel ke eskalator mukosiliar dan kemudian menembus lapisan jaringan paru menuju kelenjar limfe dan aliran darah (Syahrizal, 2009).

Setelah diabsorpsi, timbal kemudian akan berdistribusi ke darah, jaringan lunak, dan tulang. Timbal yang masuk ke peredaran darah sebagian akan berikatan dengan eritrosit, dan sebagian lainnya menetap di plasma darah dan menyebar di jaringan sekitar (Alwaleedi, 2016). Dalam darah sekitar 99 persen timbal berikatan dengan eritrosit dan 1 persen sisanya akan bebas di plasma kemudian bertukar dan menetap di jaringan lunak seperti ginjal, otak, liver, sum-sum tulang dan mampu menyeberangi plasenta. (Rabinowitz, 1991). Sekitar 95 persen beban timbal tubuh berada di tulang, karena timbal yang menetap di tulang memiliki waktu paruh berdekade-dekade. Timbal dapat lepas dari tulang saat terjadi resorpsi tulang seperti pada hipertiroid, menopause, hamil dan menyusui. (Gulson *et al.*, 1998). Selain tulang, timbal juga dapat menetap di jaringan keras seperti kuku, gigi, dan rambut (Syahrizal, 2009). Timbal akan diekskresikan melalui ginjal dengan pembersihan yang relatif lama rata-rata paruh waktu kurang lebih 30 hari jika ginjal berfungsi normal. Namun, pembersihan darah bisa menjadi lebih lambat pada orang yang memiliki riwayat paparan lama cukup lama dan penimbunan di tulang yang besar (Rabinowitz, 1991). Umumnya gejala yang disebabkan oleh timbal dapat terjadi setelah beberapa minggu atau satu bulan (Wani, *et al.*, 2015).

2.1.3. Mekanisme Timbal Merusak Jaringan dan Organ

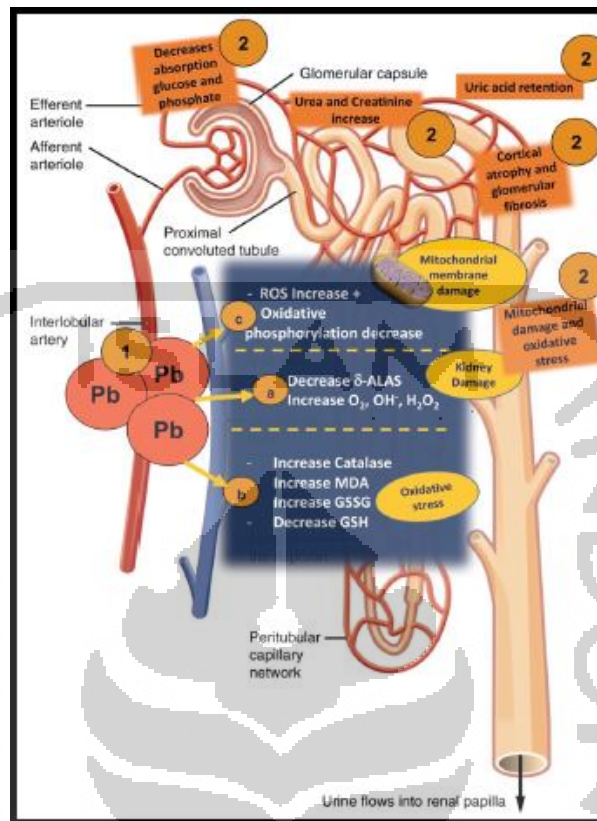
Terdapat berbagai mekanisme timbal dalam merusak organ dan jaringan tubuh seperti bertinteraksi dengan protein, DNA, RNA, dan stres oksidatif. (Szymański, 2015). Stres oksidatif menjadi mekanisme paling utama dalam proses kerusakan pada ginjal (Salazar-flores *et al.*, 2019). Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa jalur timbal menginterferensi sel secara langsung bisa melalui interferensi terhadap DNA, RNA dan protein. Kemudian jalur lain adalah

dengan pembentukan *Reactive oxygen species* (ROS), ROS menyebabkan terjadinya stress oksidatif, kondisi ini kemudian bisa menyebabkan terjadi interfensi lagi pada DNA, RNA, dan protein. Tidak hanya itu stress oksidatif juga dapat merusak sel dengan menginterfensi lipid. Paparan timbal merusak ginjal utamanya tubulus kolektivus proksimal dengan cara mengganggu fungsi mitokondria, menurunkan reabsorpsi glukosa, asam amino dan fosfat (Ma, 2009).



Gambar 1. Mekanisme dan target timbal dalam tubuh (Szymański, 2015).

Pada gambar 1 bisa dilihat bahwa ROS mampu mengganggu kerja RNA, DNA, protein dan lipid dengan cara mengurangi kerja antioksidan sehingga konsentrasi ROS menjadi terganggu. *Reactive oxygen species* merupakan spesies senyawa yang mengandung oksigen yang diproduksi dari berbagai proses biokimia tubuh seperti pada proses pernapasan, reaksi anabolik maupun reaksi katabolik. Normalnya konsentrasi ROS dijaga oleh enzim antioksidan dan sintesis senyawa antioksidan. Apabila produksi dan detoksifikasi ROS mengalami ketidakseimbangan, maka dapat terjadi stress oksidatif (Szymański, 2015). Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan jaringan, proses inflamasi dan apoptosis sel, dengan cara menargetkan protein, DNA, RNA dan lipid, sehingga terjadi modifikasi, kerusakan dan inaktivasi pada sel (Djordjević, 2004).



Gambar 2. Mekanisme timbal di sel ginjal (Salazar-flores *et al.*, 2019).

Pada jalur ROS timbal mengintervensi enzim dan komponen lain yang berfungsi sebagai pertahanan ketika terjadi stres oksidatif. Pada gambar 2 dapat dilihat bahwa salah satu senyawa penting dalam pertahanan terhadap ROS adalah *glutathione* (GSH). GSH merupakan tripeptida dari glutamate, sistein, dan histidin. GSH mampu mendetoksifikasi ROS, sehingga kadarnya menurun. Namun keberadaan timbal ternyata dapat menginterferensi fungsi GSH dengan membentuk kompleks bersama timbal (Lin and Scott, 2012). Pada akhirnya stress oksidatif ini akan menyebabkan terjadi akumulasi timbal serta disfungsi mitokondria pada sel tubulus proksimal sehingga terjadi atrofi dan fibrosis pada sel kortikal ginjal yang dapat dilihat pada gambar 2 (Mcguigan, 2016). Selain tubulus proksimal, menurut Jarrar (2003) timbal juga merusak glomerulus dan interstisium ginjal.

Pada gambar 1 juga dapat dilihat bahwa timbal dapat berinteraksi secara langsung dengan protein dengan cara menghambat metaloprotein, salah satu contoh metaloprotein adalah hemoglobin. Salah satu komponen penting

hemoglobin adalah heme, dimana pada proses pembentukannya dibutuhkan berbagai enzim seperti *delta-aminolevulinic acid synthase* (delta-ALAS) dan *delta-aminolevulinic acid dehydratase* (delta-ALAD). Timbal dapat berinteraksi dengan delta-ALAS dan delta-ALAD. Delta-ALAS diperlukan dalam produksi *aminolevulinic acid* yang merupakan bioproses dari *protoporphyrin IX* di mitokondria (Salazar-flores *et al.*, 2019). Setelah *aminolevulinic acid* dibentuk oleh delta-ALAS. Kemudian Delta-ALAD dengan bantuan zink kemudian membentuk *porphobilinogen* yang akhirnya dalam proses selanjutnya terbentuklah heme (Flora, Gupta and Tiwari, 2012). Selain itu ketika timbal menghambat ALAS, maka terjadi peningkatan oksigen, hydrogen peroksida, dan hidroksil. Menurut Szymański (2015) peningkatan ini dapat menyebabkan terjadi kerusakan ginjal. Penurunan proses enzimatik ALAD dapat mengakibatkan akumulasi konsentrasi *delta-aminolevulinic acid* (delta-ALA). Peningkatan delta-ALA dapat menginduksi produksi ROS (Szymański, 2015).

Selain mempengaruhi delta-ALAD dan delta-ALAS pada gambar 1 timbal merusak sel melalui jalur protein dengan mengganggu *ion channel* atau saluran ion, salah satu contohnya adalah saluran kalsium. Timbal mampu mempengaruhi Calmodulin (CaM) yang merupakan protein pengikat kalsium (*calcium-binding protein*), CaM berfungsi sebagai *second messenger* untuk meregulasi berbagai macam aktifitas protein. Untuk menjalankan fungsinya CaM harus berikatan dengan ion kalsium. Selain kalsium, timbal juga mampu berikatan dengan CaM walaupun lokasi ikatan ion kalsium dan timbal tidak selalu sama, pada konsentrasi rendah timbal mampu menempati lokasi ikatan kalsium. Timbal memiliki afinitas tinggi terhadap Calmodulin (CaM) dibandingkan dengan ion kalsium. Ikatan timbal terhadap CaM mengakibatkan fungsi CaM dalam memodulasi aktivitas protein terganggu (Szymański, 2015). Selain itu pada gambar 2 dapat dilihat bahwa keberadaan timbal dapat ditandai dengan peningkatan enzim katalase, *malondialdehyde* (MDA) dan *oxidized glutathione* (GSSG).

Gambar 1 memperlihatkan bahwa timbal meinterfensi DNA mengganggu kemampuan DNA dalam memperbaiki diri (*DNA repair*) dan kehilangan kemampuan pemeliharaan telomer DNA dengan mengganggu kemampuan

metilasi sel. Proses-proses tersebut akhirnya menyebabkan sel mengalami mutasi dan akhirnya rusak.

Proses pertama timbal pada DNA adalah dengan mengganggu proses *repair* DNA dengan menginterferensi aktivitas *apurinic/aprimidinic endonuclease 1* (APE1/Ref-1) (Szymański, 2015). *apurinic/aprimidinic site* (AP) merupakan lokasi pada DNA yang merupakan basis dari salah satu purin atau pirimidin yang dapat muncul spontan atau pada kerusakan DNA. Keberadaan timbal menyebabkan gagalnya *repair* DNA pada lokasi AP. Lokasi AP yang tidak diperbaiki akan menyebabkan mutasi dan sel menjadi rusak.

Proses kedua timbal pada DNA adalah mengganggu pemeliharaan telomere. Timbal dapat berinteraksi langsung dengan kromosom DNA dan menyebabkan kerusakan *double-stranded* DNA dan menghasilkan produk berupa *gamma-H2Ax foci* (Scully and Xie, 2013). Produk ini memiliki hubungan erat dengan disfungsi telomer. Paparan timbal kronis dapat menyebabkan kehilangan pemeliharaan telomere. (Pottier *et al.*, 2013). Metilasi merupakan proses penambahan grup metil pada suatu substrat. Proses ekspresi gen sangat bergantung pada modifikasi kromatin. Salah satu proses ini adalah metilasi sitosin yang menghasilkan *5-methylcytosine* (m5C) pada DNA (Blattler and Farnham, 2013). Proses ini penting dalam perkembangan dan pemeliharaan identitas sel. Paparan timbal dapat menyebabkan gangguan pada proses metilasi DNA (Koh and Rao, 2013).

Methylation atau metilasi merupakan proses penambahan grup *methyl* pada suatu substrat. Proses ekspresi gen sangat bergantung pada modifikasi kromatin. Salah satu proses ini adalah metilasi sitosin yang menghasilkan *5-methylcytosine* (m5C) pada DNA (Blattler and Farnham, 2013). Proses ini penting dalam perkembangan dan pemeliharaan identitas sel (Koh and Rao, 2013). Paparan timbal dapat menyebabkan gangguan pada proses metilasi DNA. Gangguan pada metilasi DNA berkontribusi terhadap kejadian kanker dan neurologika disorder. Pada akhirnya sel akan mengalami mutasi dan rusak (Brocato and Costa, 2013).

Gambar 1 juga menunjukkan dampak timbal pada RNA. Timbal mampu menyebabkan terjadinya hidrolisis. Kejadian ini akan menyebabkan terjadi defect pada translasi RNA sehingga sintesis protein berkurang. Selain itu

menurut Nunomura *et al.*, (2012) proses interfensi timbal pada RNA mirip dengan proses pada DNA dengan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Efek timbal pada RNA tidak memiliki dampak signifikan terhadap fungsi sel jika dibandingkan dengan proses pada DNA (Poulsen *et al.*, 2012).

Proses terakhir pada gambar 1 adalah pengaruh radikal bebas terhadap lipid. Radikal oksigen menargetkan *polyunsaturated fatty acid* di fosfolipid, sehingga terjadi oksidasi lipid. Oksidasi lipid dapat memproduksi senyawa reaktif tinggi yang dapat bereaksi pada basis asam nukleat. Salah satu produk dari proses oksidasi lipid adalah MDA yang dapat digunakan sebagai marker dari paparan timbal. Peningkatan MDA berkontribusi dalam kerusakan DNA yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan pada sel, dapat dilihat pada gambar 2 (Voulgaridou *et al.*, 2011).

Dapat disimpulkan bahwa keberadaan timbal dalam tubuh dapat menghambat delta-ALAD dan delta-ALAS, dimana dalam proses inhibisi tersebut menghasilkan zat sisa berupa oksigen maupun hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan ROS. keseimbangan ROS dijaga oleh antioksidan seperti GSH, namun ternyata keberadaan timbal juga dapat menghambat kerja GSH sebagai antioksidan. Ketika GSH tidak mampu menjaga keseimbangan ROS, maka ROS akan meningkat. Peningkatan ROS mengakibatkan mitokondria mengalami disfungsi. Mitokondria merupakan organela sel yang berfungsi sebagai sumber energi. Ketika mitokondria tidak dapat bekerja secara normal, maka sel-sel pada ginjal seperti tubulus, glomerulus, dan interstisium ginjal akan mengalami apoptosis (Szymański, 2015).

Kemampuan timbal merusak ginjal sangat tergantung dari toksisitasnya, menurut National Research Council (2013) menemukan bahwa orang dewasa dengan level timbal rendah maupun terpapar secara kronik atau rekuren yang hanya memiliki kadar timbal darah sebesar 30 sampai 70 mcg/dL kemungkinan tidak akan memberi gejala sama sekali atau dengan gejala yang tidak spesifik seperti sakit kepala, kelelahan, insomnia dan lain-lain. Menurut *Adult Blood Lead Epidemiology and Surveillance* (ABLES) bagian dari CDC mendefinisikan kenaikan timbal darah sebagai keadaan dimana timbal darah berjumlah >5mcg/dl, sedangkan Departemen Kesehatan Amerika Serikat merekomendasikan agar kadar timbal tidak lebih dari

10mcg/dl. Menurut *The National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH) di CDC merekomendasikan agar pekerja yang terpapar paparan timbal sebesar $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dalam sehari maksimal bekerja 8 jam agar kadar timbal tidak lebih dari $<60 \text{ mcg}/\text{dL}$ pada darah. Dari sini dapat disimpulkan bahwa kadar timbal mengalami kenaikan bila melebihi $5 \text{ mcg}/\text{dl}$ dan masih aman bagi pekerja jika kadarnya dibawah $60 \text{ mcg}/\text{dl}$.

Timbal merusak sel pada tubulus, glomerulus dan interstisium ginjal, namun ginjal masih dapat bekerja normal jika sel-sel yang rusak masih minimal (Jarrar, 2003). Menurut López marín *et al.*, (2014) tubulus mengalami kerusakan kecil hingga sedang jika kerusakan selnya masih kurang dari 25 persen area kortikal, glomerulus mengalami sclerosis ringan jika kerusakannya glomerulusnya masih dibawah 24.9 persen dari total glomerulus, dan interstisium ginjal mengalami fibrosis ringan ketika kerusakannya melebihi enam persen area kortikal ginjal.

2.1.4. Kreatinin

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin dengan berat molekul 113-Da (Dalton). Kreatinin berasal dari produk sisa otot yang dapat ditemukan dalam tubuh manusia dan digunakan sebagai indikator baik tidaknya kerja suatu ginjal. Pada vertebrata kreatin dan kreatin fosfat berfungsi sebagai buffer untuk ATP di jaringan, menjaga kadar ATP ketika kebutuhan energi lebih besar dari laju sintesis ATP. Kreatin dapat pula diperoleh melalui diet sehari-hari (da Silva *et al.*, 2008). Glisin, arginine, dan metionin ikut serta dalam biosintesis kreatin. Sintesis kreatin dituntaskan melalui metilasi guanidoasetat oleh S-adenosilmetionin. Kreatinin dibentuk di otot dari kreatin fosfat melalui dehidrasi nonenzimatik ireversibel dan penghilangan fosfat. Ekskresi kreatinin 24 jam dalam urin setara dengan masa otot (Graner, *et al.* 2012).

Selain di dalam darah (serum kreatinin), kreatinin juga dapat ditemukan di urin (urin kreatinin). Dalam darah kreatinin akan difiltrasi oleh ginjal dan hampir secara keseluruhan tidak akan direabsorpsi kembali. Jika kondisi stabil laju produksi kreatinin sama dengan laju ekskresinya walau terjadi penurunan laju filtrasi glomerulus. Kreatinin sangat bergantung pada filtrasi glomerulus untuk diekskresikan dan tidak direabsorpsi. Laju ekskresinya

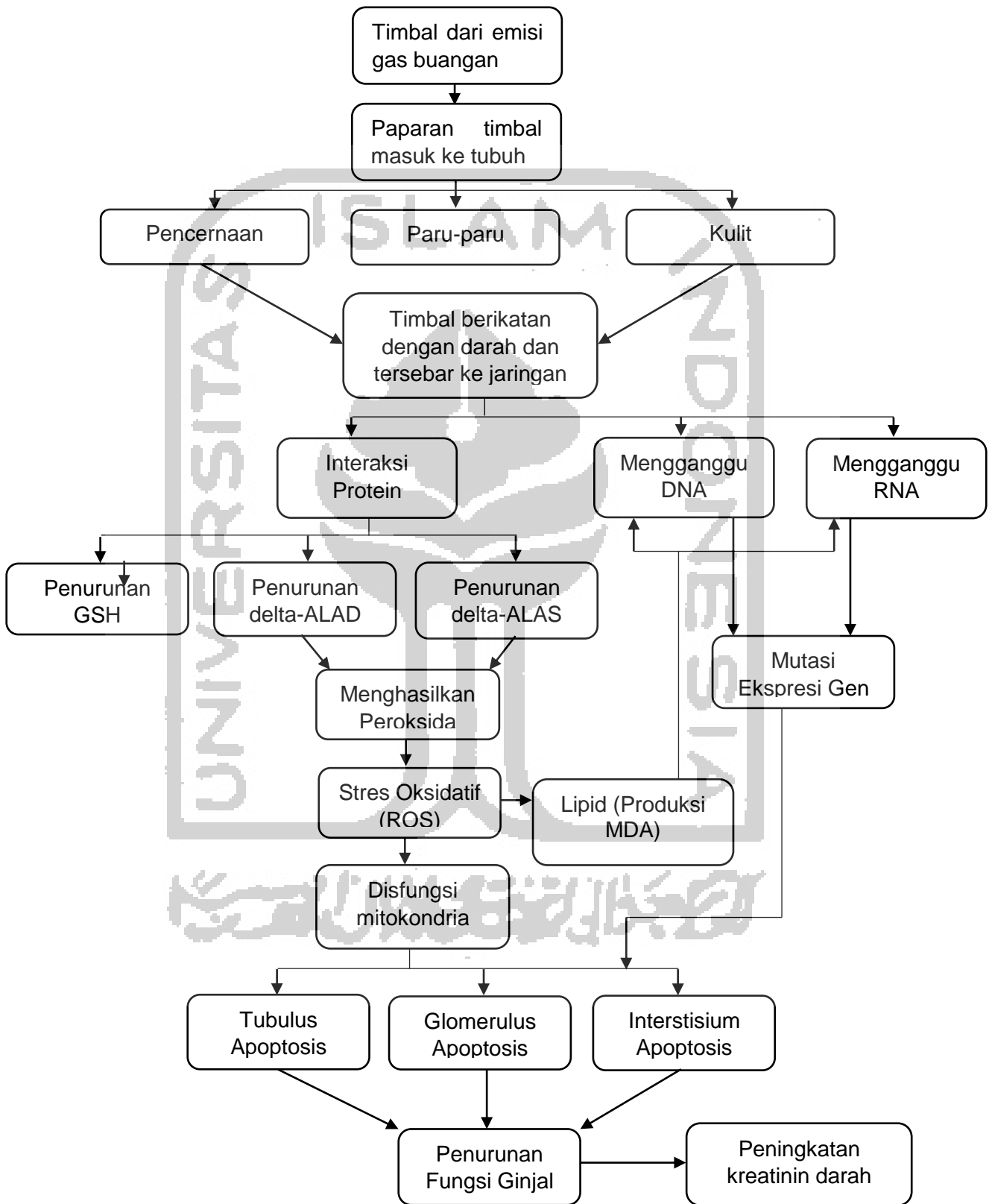
kurang lebih sama dengan laju filtrasi. Jika terdapat gangguan pada fungsi ginjal maka kadar kreatinin dalam darah akan meningkat karena ginjal tidak mampu mengeluarkannya ke urin. sisa metabolisme seperti ureum dan kreatinin yang menumpuk hampir sebanding dengan nefron yang rusak. Jumlah Jika Laju filtrasi glomerulus menurun (Guyton, A. C., Hall, 2014).

Tabel 2. Kadar serum kreatinin tubuh (Lujambio *et al.*, 2014).

Umur	Kadar Kreatinin
Laki-laki dewasa	0.5–1.2 mg/dL
Perempuan dewasa	0.4 – 1.1 mg/dL
Anak-anak (dibawah 12 tahun)	0.0–0.7 mg/dL

Terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi kadar kreatinin di dalam tubuh seperti umur, jenis kelamin, IMT, tekanan darah, diabetes, diet, aktivitas fisik, dan konsumsi obat tertentu (Geivanidis, Pistikopoulos and Samaras, 2003). Menurut Tiao *et al.* (2002) terjadi peningkatan kadar kreatinin seiring bertambahnya umur dimana pada perempuan peningkatan terjadi pada umur 40 tahun dan pada di umur pria 60 tahun. Hal ini berhubungan pula dengan masa otot dimana pada lansia kadar kreatininnya bisa lebih rendah karena mengalami penurunan masa otot. Karena kreatinin adalah sisa metabolisme otot. Maka, jika masa otot seseorang besar maka kadar kreatinin darahnya juga akan lebih tinggi. Sebaliknya kadar kreatinin darah juga bisa menjadi rendah jika terjadi penurunan masa otot (Wideman, Zautra and Edwards, 2014).

2.2. Kerangka Teori



Keterangan :

Tanda panah (→) : menyebabkan/mempengaruhi

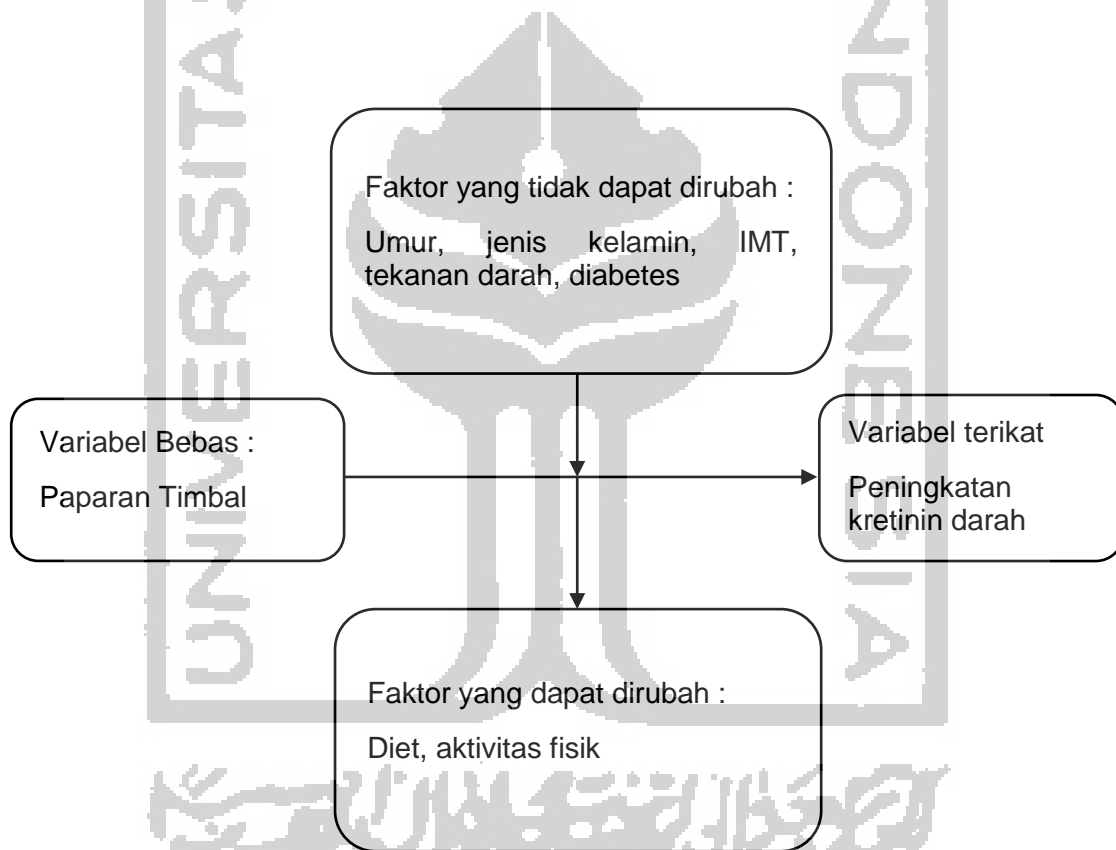
ROS : *reactive oxygen species*

Delta-ALAD : *delta-aminolevulinic acid dehydratase*

Delta-ALAS : *delta-aminolevulinic acid synthase*

GSH : *glutathione*

2.3. Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

→ : Mempengaruhi

↓ : Faktor yang tidak dapat dirubah, namun mempengaruhi kadar kreatinin saat pengambilan darah

↑ : Faktor yang dapat dirubah, namun mempengaruhi kadar kreatinin saat pengambilan darah

2.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini ialah terdapat hubungan antara kadar timbal dalam darah dengan kreatinin dalam darah pada masyarakat sekitar terminal bus di Yogyakarta.

