

PENGARUH INFUS RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN JUMLAH ERITROSIT TIKUS PUTIH YANG DIBERI LARUTAN TIMBAL NITRAT [(PbNO₃)₂]

Sugiharto

Jurusan Biologi - FMIPA, Universitas Airlangga

ABSTRACT

The purpose of this experiment was to study the effect of turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) rhizome infuse to hemoglobin concentration and number of erythrocyte of [(PbNO₃)₂] treated rats. Pb was presumed to be link at sulphhydryl groups that may caused an inhibition to several enzymatic process, such as d-ALAD and heme sintetase which is caused the inhibits of Hb synthesis and erythropoiesis. Twenty female rats was used in this experiment. They were divided into five groups, i.e. (A) control (treated with 1 ml aquadest); (B) treated with 1/2 ml of 12 ppm lead solution and 1/2 ml aquadest; (C) treated with 1/2 ml of 12 ppm lead solution and 1/2 ml of 20% turmeric rhizome infuse; (D) treated with 1/2 ml of 50 ppm lead solution and 1/2 ml aquadest; (E) treated with 1/2 ml of 50 ppm lead solution and 1/2 ml of 20% turmeric rhizome infuse. The treatment was given orally every day (30 days) using a modified syringe. After 30 days of treatment, the blood sample were taken about 2 ml by heart puncture. The Hb concentration was determined using by Cyanmethemoglobin method and number of erythrocyte was counting on Haemocytometer Improved Neubauer. Data were analyzed by Anova and LSD test ($\alpha = 0.05$). The results of this study shows that 20% of turmeric rhizome infuse statistically has a significant effect ($P < 0.05$) to increasing of hemoglobin concentration but hasn't significant to prevent the number of erythrocyte decreasing of [(PbNO₃)₂] treated.

Key words: *Curcuma xanthorrhiza*, [(PbNO₃)₂], hemoglobin, erythrocyte

PENGANTAR

Industrialisasi di Indonesia yang tumbuh dengan cepat dapat menimbulkan dampak negatif bagi masyarakat, yaitu pencemaran lingkungan. Salah satu bahan pencemar yang berbahaya adalah logam berat, antara lain timbal, kadmium, merkuri, dan tembaga yang dapat merugikan kesehatan masyarakat. Timbal termasuk logam berat yang secara luas digunakan dalam industri.

Penyebaran timbal dapat melalui udara, air, dan makanan, sehingga akan sulit diketemukan suatu lingkungan yang bebas timbal (Linder, 1992; Ganiswara dkk., 1995). Timbal dapat masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna (*digestion*) dan saluran napas (*ingestion*). Keracunan yang ditimbulkan oleh persenyawaan logam dapat terjadi karena masuknya persenyawaan logam tersebut diangkut oleh eritrosit. Selain itu, penyerapan timbal dan kadmium akan meningkat seiring dengan defisiensi ion Ca, Fe, dan K, sebab penyerapan timbal dalam tubuh (saluran pencernaan) melalui jalur yang sama dengan penyerapan ion Ca, Fe, dan K.

Timbal termasuk dalam kelompok logam yang akan membentuk ligand kompleks dengan banyak senyawa yang dapat mengganggu aktivitas enzim dan menyebabkan kerusakan pada organ tertentu termasuk hati, ginjal, dan sistem hematopoetik. Salah satu indikator terjadinya

keracunan logam berat dalam jaringan/organ yang paling mudah dan nyata untuk diamati adalah perubahan nilai pemeriksaan darah (Linder, 1992).

Timbal terikat 90% dalam sistem sirkulasi, sehingga timbal dapat mempengaruhi sistem hematopoetik, antara lain mempengaruhi sintesis heme dengan menghambat enzim d-aminolevulinat dehidratase (d-ALAD) dan ferokelatase (*heme sintetase*/HS). Akibatnya sintesis heme menurun dan terjadi gangguan fungsi pengikatan oksigen (Sadikin, 2001; Habal, 2002).

Selain itu, timbal juga memberikan dampak negatif bagi proses eritropoesis maupun pematangan eritrosit. Timbal yang berikatan dengan eritrosit menyebabkan eritrosit menjadi rapuh (terjadi kerusakan membran sel), mengurangi eritropoesis, mengurangi masa hidup eritrosit matang, dan menyebabkan terjadinya anemia hemolitik (Lu, 1995; Darmono, 1995).

Beberapa senyawa tanaman obat, dapat diketahui sebagai protektor terhadap zat toksik yang berasal dari lingkungan, antara lain genus *Curcuma* yang mengandung bahan aktif *curcumin* (Ernie, dkk., 1996). Salah satu spesies tanaman tersebut adalah temulawak. Komponen utama yang terkandung dalam rimpang temulawak adalah *curcumin*, minyak atsiri, *flavonoid*, pati, gula, protein, lemak, serta beberapa kation (Fe, Ca, Na, dan K).

Penelitian yang terkait dengan rimpang temulawak sudah banyak dilakukan, antara lain menyebutkan bahwa infus rimpang temulawak dapat berperan sebagai hepatoprotektor pada tikus yang disuntik secara intraperitoneal dengan parasetamol dosis toksik (Ernie dkk., 1996). Anonimus (1998) menyatakan bahwa zat *curcumin* dapat berperan sebagai zat antioksidan dan detoksikasi dengan cara meningkatkan aktivitas enzim *gluthatione S-transferase* (GS-t) serta kelompok enzim *gluthatione* (GS-x) yang lain. Selain itu, *curcumin* juga mampu melindungi eritrosit dan hemoglobin dari oksidasi yang disebabkan oleh senyawa nitrit (Bijanti, 2002).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Dua puluh ekor tikus putih diaklimasikan selama 7 hari dalam rumah hewan. Selama masa aklimasi dan masa perlakuan, tikus putih diberi pakan dan air minum yang sama yaitu Par G produksi Comfed sebagai pakan dan air PDAM sebagai air minum.

Larutan timbal yang diberikan adalah larutan timbal nitrat $[Pb(NO_3)_2]$ dengan dosis 12 ppm dan 50 ppm. Penentuan dosis berdasarkan Darmono (1995). Untuk membuat larutan timbal, misalnya 100 ppm, terlebih dulu dihitung berat $Pb(NO_3)_2$ yang akan dilarutkan dengan rumus sebagai berikut:

Berat $Pb(NO_3)_2$ (mg) =

$$\frac{\text{Berat senyawa } Pb(NO_3)_2}{\text{Berat atom Pb}} \times 100 \text{ ppm}$$

Larutan timbal 100 ppm diperoleh dengan melarutkan timbal dari hasil perhitungan di atas pada akuades 1000 ml. Selanjutnya larutan timbal induk, sebagian akan diencerkan menjadi 50 dan 12 ppm.

Pembuatan infus rimpang temulawak 20% dilakukan dengan cara menimbang serbuk rimpang temulawak sebanyak 20 gram dan dilarutkan dalam akuades 100 ml ke dalam gelas beker. Gelas beker kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit pada suhu $90^\circ C$ dan sesekali diaduk. Larutan yang masih panas disaring dengan kertas saring dan ditambahkan akuades secukupnya sehingga diperoleh volume 100 ml.

Cara Kerja

Tikus dikelompokkan dalam 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor tikus dan diberi perlakuan sebagai berikut:

- Kelompok A : diberi 1 ml akuades (kontrol)
- Kelompok B : diberi 1/2 ml $[(PbNO_3)_2]$ 12 ppm + 1/2 ml akuades
- Kelompok C : diberi 1/2 ml $[(PbNO_3)_2]$ 12 ppm + 1/2 ml infus rimpang temulawak 20%
- Kelompok D : diberi 1/2 ml $[(PbNO_3)_2]$ 50 ppm + 1/2 ml akuades
- Kelompok E : diberi 1/2 ml $[(PbNO_3)_2]$ 50 ppm + 1/2 ml infus rimpang temulawak 20%

Perlakuan diberikan setiap pagi hari sekitar pukul 08.00–09.00 selama 30 hari, secara *gavage* dengan menggunakan *sprit* injeksi yang mempunyai kanula pada ujungnya.

Pada akhir perlakuan, tikus dibius dan diambil darahnya melalui “*heart puncture*” (*intra cardiac*) menggunakan jarum suntik yang pada bagian dalamnya telah dibasahi dengan larutan EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*) terlebih dahulu. Darah yang akan diambil adalah sebanyak 2 ml kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang di dalamnya telah berisi serbuk EDTA, larutan dikocok di atas meja dengan gerakan melingkar dengan tujuan mencegah terjadinya koagulasi. Kemudian dilakukan penghitungan kadar Hb dan jumlah eritrosit.

Pengukuran Kadar Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan metode *Cyanmethemoglobin* berdasarkan Bijanti (2002). Darah diencerkan dengan larutan Drabkins yang mengandung Kalium Ferrisianida dan Kalium Sianida. Absorbansi larutan diukur pada gelombang 540 nm dengan spektrofotometer. Cara kerja pengukuran kadar hemoglobin dengan metode *Cyanmethemoglobin* adalah sebagai berikut:

1. Darah dalam botol vial dihisap ke dalam pipet hemoglobin sampai tepat tanda 20 cm atau sekitar 0,5 ml. Bagian luar dari pipet dibersihkan dengan sepotong kapas kering.
2. Darah ini dimasukkan ke dalam dasar dari tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan Drabkins. Pipet dibilas beberapa kali dengan larutan Drabkins tadi, kemudian untuk tujuan mencampur dan oksigenasi pipet ditutupi keras-keras pada dasar tabung.
3. Larutan darah ini kemudian dipindahkan ke dalam *cuvette* dari spektrofotometer dan *optical density*-nya dibaca dengan panjang gelombang 540 nm dan sebagai blankonya digunakan larutan Drabkins.
4. Pembacaan skala diubah menjadi gr % hemoglobin dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Hb per 100 ml (g\%)} = \frac{\text{Pembacaan skala (OD/T) sampel}}{\text{Pembacaan skala (OD/T) standard}} \times \text{Hb standard}$$

Penghitungan Jumlah Eritrosit

Penghitungan jumlah eritrosit dilakukan dengan menggunakan mikroskop, hemositometer *Improved Neubauer* dan reagensia larutan Hayem. Dalam larutan ini yang tampak adalah eritrosit sedangkan leukosit mengalami lisis (Bijanti, 2002):

1. Sampel darah dihisap dengan pipet eritrosit dari Thoma sampai tanda 0,5 dan diencerkan sampai tanda 101 menggunakan larutan Hayem sehingga pengencerannya 200 kali (1:200). Darah dengan larutan Hayem dicampur dengan menggerak-gerakkan pipet tegak lurus dengan sumbu pipet.
2. Setelah hemositometer dibersihkan, darah yang telah diencerkan dalam pipet dibuang 4 tetes, kemudian diisikan pada hemositometer dan ditutup gelas penutup lalu dibiarkan 3 menit agar eritrosit mengendap.
3. Hemositometer yang sudah berisi darah diamati di bawah mikroskop, dengan perbesaran lensa objektif 10× sehingga garis batas kamar hitung terlihat jelas. Setelah tampak jelas, lensa objektif diubah 40×, dan eritrosit dihitung dalam 5 kotak bujur sangkar kecil yang berada di tengah.

$$\Sigma \text{ eritrosit/mL} =$$

$$\Sigma \text{ eritrosit dalam 5 kotak kecil} \times \frac{1}{\text{Volume 5 kotak}} \times \text{pengenceran}$$

Percobaan ini merupakan percobaan eksperimental dengan menggunakan metode RAL (rancangan acak lengkap). Data berupa kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus, dianalisis dengan menggunakan uji Anova ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan antar rerata kelompok perlakuan. Jika dalam uji Anova terdapat perbedaan yang bermakna, maka akan dilanjutkan uji BNT ($\alpha = 0,05$).

HASIL

Hasil pengamatan dan penghitungan data penelitian mengenai kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit dapat dirangkumkan dalam Tabel 1 berikut ini.

Berdasarkan hasil perhitungan uji anova untuk kadar hemoglobin, ternyata nilai F hit ($7,058$) > F tab ($3,06$), sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan infus rimpang temulawak memberikan hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ataupun kelompok yang diberi timbal $[(\text{PbNO}_3)_2]$. Setelah dilanjutkan dengan uji BNT, maka didapatkan perbedaan antar kelompok perlakuan seperti yang tercantum dalam Tabel 2 (nilai BNT $0,05 = 1,338$).

Tabel 1. Data penelitian kadar Hb dan jumlah eritrosit berbagai kelompok perlakuan

Data	Ulangan	Perlakuan				
		A	B	C	D	E
Kadar Hb (gr/dL)	1	10,4	9,1	10,7	9,9	11,1
	2	8,4	9,2	11,3	7,9	9,4
	3	10,9	9,6	11,0	8,4	11,7
	4	9,2	8,6	11,6	7,6	11,9
	Rerata	9,73 ± 0,98	9,13 ± 0,36	11,15 ± 0,34	8,45 ± 0,89	11,03 ± 0,98
Σ Eritrosit (x 1 juta)	1	4,39	4,44	4,73	4,71	4,73
	2	4,68	4,59	4,71	4,37	4,41
	3	4,61	4,61	4,39	4,74	4,71
	4	4,71	4,15	4,57	3,96	4,73
	Rerata	4,60 ± 0,13	4,45 ± 0,18	4,60 ± 0,14	4,45 ± 0,32	4,65 ± 0,14

Keterangan:

Kel A = 1 ml akuades (kontrol)

Kel B = 1/2 ml $[(\text{PbNO}_3)_2]$ 12 ppm + 1/2 ml akuades

Kel C = 1/2 ml $[(\text{PbNO}_3)_2]$ 12 ppm + 1/2 ml infus rimpang temulawak 20%

Kel D = 1/2 ml $[(\text{PbNO}_3)_2]$ 50 ppm + 1/2 ml akuades

Kel E = 1/2 ml $[(\text{PbNO}_3)_2]$ 50 ppm + 1/2 ml infus rimpang temulawak 20%

Tabel 2. Hasil uji BNT antar rerata kadar Hb berbagai kelompok perlakuan

Perlakuan	A	B	C	D	E
A		NS	*	NS	NS
B	NS		*	NS	*
C	*	*		*	NS
D	NS	NS	*		*
E	NS	*	NS	*	

Keterangan:

(NS) = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

Sedangkan hasil perhitungan uji anova untuk jumlah eritrosit menunjukkan bahwa nilai $F_{hit} (0,706) < F_{tab} (3,06)$, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan infus rimpang temulawak memberikan hasil tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ataupun kelompok yang diberi timbal $[(PbNO_3)_2]$.

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa tingginya kadar timbal dalam tubuh dapat mengakibatkan terganggunya sistem metabolisme tubuh. Salah satu jalur metabolisme yang sangat rentan terhadap timbal adalah sistem hematopoietik, sebab hampir 90% timbal terikat eritrosit. Hal ini dapat dibuktikan dengan turunnya kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih (Tabel 1).

Toksitas timbal disebabkan adanya interaksi antara timbal dengan senyawa ligand yang ada di dalam tubuh, misalnya gugus enzim $-SH$ dari d-ALAD (yang mengakibatkan penumpukan d-ALA) dan enzim heme sintetase (mengakibatkan penumpukan protoporphirin) sehingga terjadi hambatan sintesis hemoglobin. Timbal juga dapat menghambat enzim ferokelatase yang menyebabkan ion Fe tidak dapat berikatan dengan cincin protoporphirin, oleh karena terjadi kompetisi antara timbal dengan Fe. Akibat dari hal tersebut di atas, maka timbal dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin (Ganiswara dkk., 1995; Habal, 2002). Keadaan ini sesuai dengan penelitian Juliardi (1999) yang menyebutkan bahwa pemberian larutan timbal dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin.

Pada eritrosit yang matang, timbal menyebabkan defisiensi enzim Glu-6-PD dan penghambatan enzim pirimidin-5'-nukleotidase, sehingga terjadi akumulasi degradasi RNA serta ribosom eritrosit. Hal ini menyebabkan turunnya masa hidup eritrosit dan meningkatkan kerapuhan membran eritrosit, sehingga terjadi penurunan jumlah

eritrosit (Ganiswara dkk., 1995). Keadaan ini sesuai dengan penelitian Kurniawati (1996) menyebutkan bahwa pemberian larutan timbal dapat menyebabkan kerusakan eritrosit. Hal ini juga didukung oleh penelitian Wahyuni (2000) yang menyatakan pemberian larutan timbal dapat menurunkan nilai volume padat eritrosit (PCV/*packed cell volume*).

Dalam penelitian ini, setelah dilakukan uji statistik ternyata hanya peningkatan kadar hemoglobin yang menunjukkan hasil berbeda nyata, sedangkan peningkatan jumlah eritrosit menunjukkan tidak berbeda nyata. Hal ini diduga bahwa biosintesis hemoglobin sangat rentan terhadap peningkatan kadar timbal dalam tubuh jika dibandingkan dengan biosintesis eritrosit. Hal ini juga ditegaskan oleh Lu (1995) yang menyatakan bahwa enzim yang terlibat dalam sintesis hemoglobin (terutama enzim d-ALAD dan Heme sintetase) paling rentan terhadap keracunan timbal.

Infus rimpang temulawak yang mengandung bahan aktif *curcumin*, minyak atsiri, flavonoid, serta beberapa kation (Fe, Ca, Na, K) ternyata dapat menaikkan kembali kadar hemoglobin tikus putih yang diberi larutan timbal $[(PbNO_3)_2]$. Mekanisme kerja infus rimpang temulawak tersebut diduga sebagai berikut:

Kandungan bahan aktif infus rimpang temulawak (terutama *curcumin*) dapat meningkatkan aktivitas dan sintesis enzim detoksikasi dalam hati. Timbal yang diabsorpsi dari saluran pencernaan akan ditransportasikan oleh sistem vena porta hepatica menuju hati, kemudian dinetralisasi atau ditingkatkan ekskresinya sehingga dapat mencegah atau menghilangkan efek toksiknya. Anonimus (1998) menyebutkan bahwa *curcumin* dapat berperan sebagai zat anti oksidan dan detoksikasi dengan cara meningkatkan aktivitas enzim *Gluthatione S-transferase* (GST) serta kelompok enzim *Gluthatione* lain (GS-x) dalam hati. Selain itu, *curcumin* juga mampu melindungi eritrosit dan hemoglobin dari oksidasi yang disebabkan oleh adanya senyawa nitrit (Bijanti, 2002).

Curcumin dapat meningkatkan aktivitas dan sintesis protein haptoglobin dan hemopexin yang terdapat dalam hati. Sehingga timbal yang berikatan dengan hemoglobin dapat didestruksi dan dinetralisasi di hati. *Hemopexin* adalah protein yang berfungsi mengikat heme dan membawa heme bersirkulasi ke hati, sedangkan protein haptoglobin berfungsi antara lain untuk mengikat hemoglobin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase, serta reaksi *inflammatory* (Loeb dan Quinby, 1989).

Curcumin dan ion-ion (Fe, Ca, Na, K) yang terkandung dalam infus rimpang temulawak, berperan sebagai agen preventif dengan cara meningkatkan kompetisi terhadap timbal sebab absorpsi timbal dalam saluran pencernaan melalui jalur yang sama dengan penyerapan ion yang lain (Habal, 2002). Peningkatan kandungan ion (terutama Fe) akan meningkatkan cadangan protein transferin dalam hati dan sumsum tulang untuk digunakan kembali dalam biosintesis hemoglobin dan eritrosit (Bijanti, 2002).

Pemberian infus rimpang temulawak yang bersamaan dengan pemberian larutan timbal [(PbNO₃)₂], ternyata mampu mencegah penurunan kadar Hb pada tikus tetapi tidak mampu mencegah penurunan jumlah eritrositnya.

KEPUSTAKAAN

- Anonimus, 1998. Mechanisms of Anticarcinogenic Properties of Curcumin, The Effect of Curcumin on Gkuthatione Linked Detoxification Enzyme in Rat Liver, *International Journal Biochemistry Cell Biology* 30 (4): 445–6.
- Bijanti R, 2002. Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Darmono, 1995. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Ernie HP, Suyatna FD, Suherman SK, dan Pringgoutomo S, 1996. Efek Hepatoprotektor Kurkuminoid Intraperitoneal pada Hati Tikus yang Terpajan Parasetamol Dosis Toksik, *Majalah Farmakologi dan Terapi Indonesia* 12(1): 11–14.
- Ganiswara S, Setiabudi R, Sjamsudin U, dan Bustam ZS, 1995. Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Habal R, 2002. Lead Toxicity. *e-Medicine Journal* 3 (1): 1–19.
- Juliardi H, 1995. Pengaruh Ekstrak Gingseng Jawa terhadap Kadar Hemoglobin Darah Tikus Putih yang Tercemar Timbal. *Skripsi Biologi FMIPA–Universitas Airlangga*, Tidak Dipublikasikan.
- Kurniawati H, 1996. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Anorganik Peroral terhadap Inklusi Eritrosit pada Mencit. *Skripsi Biologi FMIPA–Universitas Airlangga*, tidak dipublikasikan.
- Linder MC, 1992. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme, diterjemahkan oleh Aminuddin, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Loeb WF, and Quinby FW, 1989. The Clinical Chemistry of Laboratory Animal, Pergamon Press Inc., Oxford England.
- Lu FC, 1995. Toksikologi Dasar: Azas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Sadikin M, 2001. Biokimia Darah. Widya Medika, Jakarta.
- Wahyuni AD, 2000. Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Gingseng Jawa terhadap Volume Padat Eritrosit dan Kadar Timbal Darah Tikus Putih yang Diberi Perlakuan Larutan Timbal. *Skripsi Biologi FMIPA–Universitas Airlangga*, tidak dipublikasikan.

Reviewer: **Drs. Win Darmanto, MSi., Ph.D.**