

## **PENGARUH PEMBERIAN KALSIMUM TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN HEMATOKRIT MENCIT BALB/C YANG DIINDUKSI TIMBAL**

Stevani Dwi Oktavia<sup>1</sup>, Saebani<sup>2</sup>, Tuntas Dhanardhono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staf Pengajar Ilmu Kedokteran Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedarto, S.H., Tembalang, Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Timbal merupakan substansi berbahaya yang mudah kita temui di lingkungan. Akumulasi timbal dalam tubuh dapat menyebabkan efek toksik pada sistem hematopoiesis dan mengakibatkan anemia. Pada saluran pencernaan, kalsium memiliki mekanisme absorpsi yang serupa dengan timbal sehingga dapat menghambat absorpsi timbal ke dalam darah. **Tujuan:** Mengetahui bahwa pemberian kalsium berpengaruh positif terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit mencit Balb/c yang diinduksi timbal. **Metode:** Penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*. Delapan belas ekor mencit Balb/c jantan dengan berat badan berkisar 20-30 gram dibagi menjadi 3 kelompok secara acak. Kelompok K diberi aquades, kelompok P1 diberi larutan timbal asetat 10 mg/kgBB peroral, dan kelompok P2 diberi larutan timbal asetat 10 mg/kgBB serta kalsium karbonat 62,5 mg/kgBB peroral. Perlakuan berlangsung selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemeriksaan kadar hemoglobin dan hematokrit. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Bonferroni*. **Hasil:** Uji *One-Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kadar hemoglobin dan hematokrit antarkelompok. Melalui uji *post hoc* didapatkan kelompok P1 memiliki kadar hemoglobin dan hematokrit yang secara signifikan lebih rendah daripada kelompok K, sedangkan pada kelompok P2 kadar hemoglobin dan hematokrit secara signifikan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok P1. **Kesimpulan:** Pemberian kalsium berpengaruh positif terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit mencit Balb/c yang diinduksi timbal.

**Kata kunci:** Timbal, kalsium, hemoglobin, hematokrit, mencit Balb/c.

### **ABSTRACT**

#### **EFFECT OF CALCIUM ADMINISTRATION ON HEMOGLOBIN AND HEMATOCRIT LEVELS IN BALB/C MICE INDUCED BY LEAD**

**Background:** Lead is a harmful substance which can commonly be found in the environment. Lead accumulation in the body can cause toxic effects on hematopoietic system and lead to anemia. In gastrointestinal tract, the mechanism for absorption of calcium is similar to lead, thus it can inhibit lead absorption to the bloodstream. **Aim:** To determine if calcium administration has positive effect on hemoglobin and hematocrit levels in Balb/c mice induced by lead. **Methods:** An experimental study with *post-test only control group design*. Eighteen male Balb/c mice weighing between 20-30 grams were randomly divided into three groups. Group K received aquadest, group P1 received lead acetate orally at 10 mg/kg body weight, and group P2 received lead acetate+calcium carbonate orally at 10 mg/kg body weight and 62,5 mg/kg body weight respectively. Treatments were done in thirty days and continued by hemoglobin and hematocrit measurement. The data obtained were then

statistically analyzed using One-Way ANOVA test and post hoc Bonferroni test afterwards. **Results:** Statistical analysis with One-Way ANOVA showed significant difference ( $p < 0,05$ ) in hemoglobin and hematocrit levels between groups. Post hoc test showed that hemoglobin and hematocrit levels of group P1 were significantly lower than group K, whereas hemoglobin and hematocrit levels of group P2 were significantly higher than group P1. **Conclusions:** Calcium administration has positive effect on hemoglobin and hematocrit levels in Balb/c mice induced by lead.

**Keywords:** Lead, calcium, hemoglobin, hematocrit, Balb/c mice

## PENDAHULUAN

Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat dengan derajat toksisitas yang paling tinggi. Timbal digunakan dalam berbagai macam produk industri serta terdapat bebas di alam sebagai produk emisi asap kendaraan bermotor. Kasus keracunan logam berat ini cukup menjadi persoalan kesehatan yang signifikan.<sup>1,2</sup> *World Health Organization* (WHO) mengatakan bahwa kematian akibat paparan timbal diperkirakan sekitar 143.000 kasus per tahun dengan angka tertinggi berada di negara berkembang.<sup>3</sup>

Sebuah penelitian oleh Albalak et al (2003) di Jakarta dilakukan untuk mengetahui kadar timbal dalam darah anak-anak, khususnya yang masih duduk di bangku Sekolah Dasar. Hasilnya ada seperempat dari anak-anak sekolah tersebut memiliki kadar timbal darah yang melebihi batas yang ditetapkan sebagai kadar timbal yang masih bisa ditoleransi yaitu berkisar 10-14,9  $\mu\text{g/dL}$ .<sup>4</sup>

Proses ingesti menjadi rute utama terpajannya seseorang terhadap timbal, diikuti inhalasi serta dermal.<sup>5</sup> Setelah kadar timbal dalam tubuh seseorang cukup tinggi untuk mengakibatkan efek toksik, ia dapat mempengaruhi berbagai macam sistem dalam tubuh kita. Pada sistem hematopoiesis, timbal dapat menekan sintesis hemoglobin dengan cara menghambat beberapa enzim-enzim penting yang terlibat di dalamnya. Selain itu, timbal juga meningkatkan fragilitas membran sel eritrosit sehingga dapat memperpendek masa hidup sel darah merah.<sup>6</sup>

Kalsium dapat menurunkan absorpsi timbal melalui saluran pencernaan dan defisiensi zat ini akan berhubungan dengan penyerapan timbal yang lebih besar. Kalsium menghambat absorpsi timbal dengan cara berkompetisi dengan timbal di saluran pencernaan karena kedua zat tersebut menggunakan mekanisme yang sama untuk dapat menyeberangi sel-sel intestinal.<sup>7</sup> Kalsium diyakini dapat

mengurangi efek dari intoksikasi timbal. Dengan mengukur kadar hemoglobin serta hematokrit, dapat diketahui seberapa jauh proteksi kalsium terhadap efek anemia dari intoksikasi timbal.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan *post-test only control group design* pada 18 ekor mencit Balb/c. Mencit yang digunakan sebagai sampel adalah mencit dengan jenis kelamin jantan, berusia 6-8 minggu dengan berat badan 20-30 gram, sehat, serta tidak memiliki kelainan anatomis. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk pengadaan hewan coba, intervensi terhadap hewan coba, pengambilan sampel, dan pemeriksaan kadar hemoglobin serta hematokrit.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian kalsium sedangkan variabel terikatnya adalah kadar hemoglobin dan hematokrit. Hewan coba dikelompokkan menjadi 3 kelompok dengan cara *simple random sampling* menjadi kelompok Kontrol (K) yang hanya diberikan aquades, kelompok Perlakuan 1 (P1) yang diberikan timbal per oral dengan dosis 10 mg/kgBB<sup>8</sup>, serta kelompok Perlakuan 2 (P2) yang

diberikan larutan timbal asetat per oral dosis 10 mg/kgBB<sup>8</sup> dan kalsium karbonat per oral dosis 62,5 mg/kgBB.<sup>9</sup> Larutan timbal asetat dan kalsium karbonat dibuat dengan menggunakan pelarut aquades. Perlakuan pada masing-masing kelompok tersebut dilakukan selama 30 hari.<sup>8</sup>

Pada hari ke-31, dilakukan pengambilan darah melalui plexus retroorbitalis kemudian kadar hemoglobin dan hematokrit darah mencit diperiksa menggunakan alat *hematology analyzer sysmax KX-21*. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk* dan *Levene test* untuk uji homogenitas. Karena diperoleh distribusi normal serta homogen, maka dilakukan uji beda menggunakan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji statistik *post hoc Bonferroni*.

## HASIL

### Kadar Hemoglobin

Data hasil pemeriksaan kadar hemoglobin mencit dapat dilihat pada tabel di bawah ini. Data primer yang didapatkan dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Hasil analisis tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rerata dan Uji Normalitas Kadar Hemoglobin Mencit

Kelompok	Rerata Kadar	Uji
	Hemoglobin ± SD	Normalitas (Nilai p)
<b>K (n=5)</b>	12,18±0,45	0,978*
<b>P1 (n=5)</b>	9,84±1,38	0,583*
<b>P2 (n=5)</b>	11,66±0,90	0,835*

Keterangan: \* Data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ )

Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal ( $p > 0,05$ ) pada semua kelompok sehingga ukuran pemusatan data yang digunakan adalah *mean* dan ukuran penyebaran yang digunakan adalah standar deviasi.

Penelitian ini menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan kadar hemoglobin darah yang bermakna antarkelompok. Pada uji *One-Way ANOVA*, syarat yang diperlukan yaitu data numerik tidak berpasangan dan lebih dari 2 kelompok, berdistribusi normal, dan varian data homogen. Uji distribusi data telah terbukti normal seperti yang diperlihatkan pada Tabel 1. Varian data yang diuji menggunakan *Levene test* menunjukkan varian data homogen dengan nilai  $p = 0,054$  ( $p > 0,05$ ).

Uji *One-Way ANOVA* kadar hemoglobin mencit menunjukkan terdapat

perbedaan yang bermakna antarkelompok dengan nilai  $p = 0,007$  ( $p < 0,05$ ) sehingga dilanjutkan analisis *post hoc Bonferroni* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan.

**Tabel 2.** Hasil uji *Post hoc* kadar hemoglobin mencit

Kelompok	K	P1	P2
<b>K</b>		0,008*	1,000
<b>P1</b>	0,008*		0,039*
<b>P2</b>	1,000	0,039*	

Keterangan: \*Signifikan ( $p < 0,05$ )

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar hemoglobin kelompok K dengan kelompok P1 dan kelompok P1 dengan kelompok P2.

**Kadar Hematokrit**

Data hasil pemeriksaan kadar hematokrit mencit dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Hasil analisis tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rerata dan uji normalitas kadar hematokrit mencit

Kelompok	Rerata Kadar	Uji
	Hematokrit ± SD	Normalitas (Nilai p)
<b>K (n=5)</b>	41,02±2,11	0,084*
<b>P1 (n=5)</b>	34,10±4,85	0,621*
<b>P2 (n=5)</b>	41,44±2,60	0,546*

Keterangan: \* Data berdistribusi normal ( $p>0,05$ )

Setelah data terbukti berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Varian data yang diuji menunjukkan varian data homogen dengan nilai  $p=0,121$  ( $p>0,05$ ).

Uji *One-Way ANOVA* kadar hematokrit mencit menghasilkan interpretasi terdapat perbedaan kadar hematokrit yang bermakna antarkelompok dengan nilai  $p=0,008$  ( $p<0,05$ ) sehingga dilanjutkan analisis *post hoc Bonferroni* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan.

**Tabel 4.** Hasil uji *Post hoc* kadar hematokrit mencit

Kelompok	K	P1	P2
K		0,022*	1,000
P1	0,022*		0,016*
P2	1,000	0,016*	

Keterangan: \*Signifikan ( $p<0,05$ )

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar hematokrit kelompok K dengan kelompok P1 dan kelompok P1 dengan kelompok P2.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh Pemberian Kalsium terhadap Kadar Hemoglobin Mencit Balb/c yang Diinduksi Timbal

Berdasarkan hasil pengukuran kadar hemoglobin, didapatkan kadar hemoglobin mencit pada kelompok P2 yang diberi timbal dan kalsium lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1 yang hanya diberi timbal. Kadar hemoglobin rata-rata pada kelompok P2 (11,66 g/dL) lebih tinggi 15,6% jika dibandingkan dengan kadar hemoglobin rata-rata pada kelompok P1 (9,84 g/dL).

Nilai rujukan kadar hemoglobin mencit Balb/c adalah 11,6-15,8 g/dL<sup>10</sup>. Pada kelompok P2, rerata kadar hemoglobin berada pada kisaran normal, sedangkan kelompok P1 memiliki rerata kadar hemoglobin lebih rendah dari normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kalsium memberikan pengaruh positif terhadap kadar hemoglobin mencit Balb/c yang diinduksi timbal.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Syarifah *et al* pada tahun 2016 yang mencari pengaruh pemberian kalsium terhadap absorpsi timbal, di mana penelitian tersebut berhasil membuktikan bahwa pemberian kalsium karbonat 62,5 mg/kgBB hingga minggu

ke-4 mengakibatkan penurunan kadar timbal dalam darah sebesar 65%.<sup>9</sup>

Hasil dari penelitian ini juga mendukung penelitian oleh Gulson *et al* pada tahun 2001 yang menunjukkan bahwa absorpsi timbal melalui saluran gastrointestinal menjadi minimal dengan adanya kalsium dan peningkatan suplementasi kalsium berkaitan dengan penurunan kadar timbal dalam darah.<sup>11</sup>

Timbal mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah dengan cara menghambat sintesis heme melalui penekanan aktivitas tiga enzim yang terdapat dalam eritrosit. Enzim-enzim tersebut adalah *aminolevulinic acid synthase* (ALAS), *δ-aminolevulinic acid dehydratase* (ALAD), dan *ferrochelataze*. Pajanan terhadap timbal tidak menurunkan konsentrasi enzim-enzim tersebut, namun menekan aktivitasnya.<sup>12</sup>

Timbal memiliki ikatan yang kuat terhadap protein transport yang sama dengan kalsium, tetapi afinitas timbal terhadap protein transport tersebut setidaknya dua kali lipat lebih besar daripada kalsium. Mekanisme transport yang sama ini menyebabkan terjadinya interaksi kompetitif antara kalsium dengan timbal dan peningkatan konsentrasi kalsium dapat semakin mencegah terikatnya timbal pada protein transport

tersebut. Akibatnya, timbal tidak diabsorpsi melalui saluran pencernaan. Timbal yang masuk melalui saluran pencernaan namun tidak terabsorpsi akan dibuang melalui feses.<sup>13</sup>

Defisiensi terhadap kalsium juga dapat menyebabkan penyerapan timbal yang lebih besar dikarenakan seseorang dengan defisiensi kalsium akan lebih banyak mengekspresikan kalsium transporter. Hal ini mengakibatkan semakin banyak timbal yang mempergunakan transporter tersebut dan kadar timbal dalam tubuh akan lebih besar. Sehingga dapat dikatakan bahwa kalsium memiliki efek protektif terhadap toksisitas yang diakibatkan timbal.<sup>14,11,15</sup>

### **Pengaruh Pemberian Kalsium terhadap Kadar Hematokrit Mencit Balb/c yang Diinduksi Timbal**

Kadar hematokrit mencit pada kelompok P2 yang diberi timbal dan kalsium lebih tinggi 17,71% dibandingkan dengan kelompok P1 yang hanya diberi timbal. Nilai rujukan kadar hematokrit mencit Balb/c adalah 37,4-51,7%<sup>10</sup>. Artinya, kelompok P2 memiliki rerata kadar hematokrit normal (41,44%) sedangkan rerata kadar hematokrit kelompok P1 di bawah normal (34,10%).

Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang dilakukan Mogwasi *et al*

pada tahun 2013 mengenai kandungan timbal dalam tubuh yang berbanding terbalik dengan konsentrasi kalsium.<sup>16</sup> Penelitian ini juga sesuai dengan penelitian Haque *et al* pada tahun 2006 yang membuktikan bahwa pemberian kalsium dapat mengurangi gejala-gejala toksisitas serta meningkatkan jumlah eritrosit tikus yang diinduksi timbal.<sup>17</sup>

Kadar hematokrit dipengaruhi oleh jumlah eritrosit dan volume rata-rata eritrosit. Timbal dalam darah dapat meningkatkan fragilitas eritrosit sehingga laju destruksi eritrosit akan meningkat. Hal ini menyebabkan jumlah eritrosit berkurang sehingga kadar hematokrit menurun.<sup>18</sup>

Selain itu, gangguan sintesis hemoglobin yang diakibatkan oleh timbal juga mempengaruhi kadar hematokrit. Konsentrasi hemoglobin yang berkurang pada eritrosit awalnya masih akan menunjukkan anemia normositik normokromik, namun berangsur-angsur akan menjadi mikrositik dan juga hipokromik. Pembelahan eritrosit di sumsum tulang diatur oleh konsentrasi hemoglobin. Pembelahan sel berhenti ketika konsentrasi hemoglobin yang sesuai telah tercapai. Oleh karena itu, jika terdapat defek pada sintesis hemoglobin, eritrosit akan terus membelah sampai

konsentrasi hemoglobin tersebut tercapai. Hal ini mengakibatkan ukuran atau volume rata-rata eritrosit berkurang atau terjadi mikrositosis dan mempengaruhi kadar hematokrit.<sup>19</sup>

Dengan adanya kalsium, absorpsi timbal akan menurun sehingga dampaknya dalam mengganggu sintesis heme serta peningkatan stress oksidatif yang mengakibatkan hemolisis akan berkurang. Hal inilah yang dapat menyebabkan kadar hematokrit pada mencit yang diberikan kalsium lebih tinggi dibandingkan dengan yang hanya diberikan timbal.<sup>11</sup>

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian kalsium secara signifikan berpengaruh positif terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit mencit Balb/c yang diinduksi timbal.

### **Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan uji fragilitas osmotik eritrosit untuk mengetahui pengaruh kalsium dalam menurunkan laju hemolisis akibat toksisitas timbal. Diperlukan juga penelitian dengan pemeriksaan sampel darah secara serial serta dosis kalsium yang lebih bervariasi.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 12th ed. New York: TataMcGraw-Hill education; 2003.
2. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *EXS*. 2012;101:133–64.
3. World Health Organization. Lead poisoning and health. WHO. 2017.
4. Roberts A, O'Brien E, Retnowati S. Keracunan Timbal di Indonesia. *Gobal Lead Advice Supprot Serv*. 2010;(September):1–19.
5. Scar Tarragó, MD, MPH; Mary Jean Brown S. Lead (Pb) Toxicity: How Are People Exposed to Lead? Agency for Toxic Substances & Disease Registry. 2017.
6. Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol*. 2012 Jun;5(2):47–58.
7. Kordas K. The “Lead Diet”: Can Dietary Approaches Prevent or Treat Lead Exposure? *J Pediatr*. 2017 Jun;185:224–231.e1.
8. Hashem MA. Hemato-biochemical and immunotoxicological effects of low electromagnetic field and its interaction with lead acetate in mice. *Iraqi J Vet Sci*. 2009;23:105–14.
9. Nadia S, Silalahi J. The Effect of Calcium to The Absorption Lead In Male Mice (*Mus musculus L.*). *Int J PharmTech Res*. 2016;9(3):193–7.
10. Santos EW, Oliveira DC de, Hastreiter A, Silva GB da, Beltran JS de O, Tsujita M, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2016;53(2):138.
11. Gulson BL, Mizon KJ, Palmer JM, Korsch MJ, Taylor AJ. Contribution of Lead from Calcium Supplements to Blood Lead. 2001;109(3):283–8.
12. Kshirsagar M, Patil J, Patil A. Effects of Lead on Haem Biosynthesis and Haematological Parameters in Battery Manufacturing Workers of Western. 2016;3(February):477–87.
13. Infirmiry R. Lead toxicity : problems of definition and laboratory evaluation. 1984;453–60.
14. Varnai VM, Piasek M, Blanusa M, Sarić MM, Simić D, Kostial K. Calcium supplementation efficiently reduces lead absorption in suckling rats. *Pharmacol Toxicol*. 2001 Dec;89(6):326–30.
15. Bakker MI, Hagens WI.



- Proceedings of the workshop In vitro modeling of humane bioavailability of lead from soils Application to risk assessment of soil Proceedings of the workshop
- â€™<sup>TM</sup> In vitro modeling of humane bioavailability of lead from soils '. 2009.
16. Mogwasi R, Getenga Z, Hudson N, Wanjau R, Murungi J, Okiambe E, et al. Comparison of Lead Levels with Calcium, Zinc, and Phosphorus Levels in Human Blood. *Glob J Pure Appl Chem Res.* 2013;1(1):44–59.
  17. Haque MM, Awa MA, Mostofa M, H Sikder MM, Hossain MA. Effects of calcium carbonate, potassium iodide and zinc sulphate in lead induced toxicities in rat model. *Bangl J Vet Med.* 2006;4(2):123–7.
  18. John P. Greer M. *Wintrobe's Clinical Hematology.* 13th ed. Philadelphia; 2014.
  19. Richard A. McPherson MRP. *Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods.* 2016. 1823 p.