

TOKSISITAS SUBKRONIS TIMBAL (Pb) DALAM LIMBAH PADAT IPAL INDUSTRI KERTAS TERHADAP KARAKTERISTIK DARAH TIKUS *Rattus norvegicus*

Rina S. Soetopo*; Ahmad Ridwan**; Suropto**

* Peneliti kelompok lingkungan Balai Besar Pulp dan Kertas; ** Dosen pengajar di Departemen biologi ITB

SUBCHRONIC TOXICITY OF LEAD (Pb) IN PAPER INDUSTRY SOLID WASTE TO BLOOD CHARACTERISTICS OF RAT *Rattus norvegicus*

Abstract

*The primary environmental problem associated with open dumping solid waste disposal is the leachate potency to contaminate ground and surface waters. Paper industry solid waste using mixture raw material with deinked pulp is contaminated by heavy metals. One of the heavy metals is lead (Pb) which is dominant in waste. The effects of subchronic toxicity of paper solid waste to blood characteristics of rat (*Rattus norvegicus*) have been done. Solid waste extract was administered to each individual rat by gavage through gastrointestinal tract at three different doses (350; 2500 and 5000 mg/kg body weight/day) and also positive control (0,5; 5,0; 50; 500; 5000 µg/kg body weight/day) and negative control (water) daily during 90 days period.*

Results showed that subchronic toxicity effect of lead in 5000 µg/kg body weight/day of paper industry solid waste caused reduction to blood δ-ALA-D activities, hemoglobin concentration and hematocrit value, but it was still in normal ranges.

Key words : solid waste, blood ALA-D activities, blood characteristic, blood lead

Intisari

*Masalah lingkungan yang utama dari pembuangan limbah padat industri kertas secara open dumping adalah berpotensi mencemari air permukaan dan air tanah. Beberapa jenis logam berat terdapat dalam limbah padat industri kertas yang menggunakan bahan baku campuran dengan deinked pulp. Salah satu dari logam berat tersebut adalah timbal yang keberadaannya dalam limbah cukup tinggi. Penelitian toksisitas subkronis limbah padat industri kertas terhadap hewan percobaan tikus (*Rattus norvegicus*) telah dilakukan. Variasi perlakuan percobaan terdiri dari tiga perlakuan dosis ekstrak limbah yaitu 350; 2500 dan 5000 mg/kg berat badan/hari dan 5 dosis timbal nitrat sebagai kontrol positif yaitu 0,5; 5,0; 50; 500; 5000 µg/kg berat badan/hari serta kontrol negatif yang hanya mengandung air pelarut.*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh toksisitas subkronis ekstrak limbah sludge IPAL industri kertas dosis 5000 mg/kg bb/hari menyebabkan penurunan aktivitas δ-ALA-D darah dan konsentrasi hemoglobin serta nilai hematokrit, tetapi penurunan tersebut masih dalam batas normal karakteristik darah tikus.

Kata kunci : limbah padat, aktivitas ALA-D darah, karakteristik darah, timbal dalam darah

PENDAHULUAN

Saat ini industri kertas di Indonesia dihadapkan pada masalah penanganan dan pengelolaan limbah padat yang merupakan hasil samping dari Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Jumlah limbah padat yang dihasilkan cukup besar berkisar antara 3 - 4 % dari kapasitas produksinya¹⁹⁾. Penanganan dan pengelolaan limbah padat IPAL industri kertas umumnya dibuang secara *open dumping* dilokasi sekitar pabrik. Pembuangan limbah secara *open dumping*

tersebut berpotensi terjadi pencemaran air permukaan dan air tanah⁵⁾.

Limbah padat IPAL industri kertas yang dalam proses produksinya menggunakan proses *deinking*, umumnya mengandung logam pada konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 18 dan perubahannya No. 85 Tahun 1999 diklasifikasikan sebagai Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) dari sumber yang spesifik. Di dalam peraturan tersebut dinyatakan bahwa penentuan sifat racun untuk identifikasi limbah, dilakukan dengan uji TCLP (*Toxicity Characteristic Leaching*

Procedure) dan uji toksikologi. Uji TCLP dilakukan untuk menentukan besarnya aliran atau pergerakan kontaminan yang terkandung dalam limbah cair, padat maupun multifase²⁶⁾ dan uji toksikologi dilakukan untuk mengetahui efek toksik limbah terhadap makhluk hidup²⁴⁾.

Data analisis TCLP limbah padat IPAL dari 9 industri kertas yang melakukan proses *deinking* menunjukkan bahwa beberapa pencemar logam non esensial terdapat di dalamnya. Konsentrasi logam timbal merupakan yang tertinggi dengan nilai maksimum 0,900 ppm, sedangkan konsentrasi maksimum logam non esensial lainnya adalah kadmium 0,220 ppm, kromium 0,170 ppm dan arsen 0,020 ppm¹⁹⁾. Logam non esensial yang dimaksud dalam artikel ini adalah logam-logam yang tidak diperlukan dalam tubuh organisme, sehingga keberadaannya dalam tubuh dapat menyebabkan dampak negatif.

Senyawa timbal dapat masuk ke dalam tubuh manusia dan hewan mamalia melalui saluran pencernaan dan saluran pernafasan²⁴⁾. Timbal masuk ke dalam saluran pencernaan bersama dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi²⁷⁾. Pada sistem peredaran darah, timbal dapat mengganggu biosintesis heme dalam sistem hematopoetik²⁴⁾. Timbal menghambat beberapa aktivitas enzim yang berperan di dalam biosintesis heme. Salah satunya adalah enzim *delta aminolevulinic acid dehydratase* (δ -ALA-D) yang merupakan enzim yang paling sensitif terhadap timbal¹²⁾. Selain itu gangguan timbal menyebabkan pula rapuhnya sel eritrosit yang berakibat memperpendek umur sel eritrosit serta mempengaruhi pembentukan retikulosit.

Sampai saat ini, pengaruh timbal yang terkandung dalam limbah padat IPAL industri kertas terhadap hewan mamalia belum banyak diteliti. Atas dasar hal tersebut di atas, laporan penelitian ini menjelaskan pengaruh timbal yang terkandung dalam limbah padat IPAL industri kertas terhadap beberapa aspek fisiologis tikus (*Rattus norvegicus*) yang meliputi laju penambahan berat badan, konsentrasi timbal dalam darah, karakteristik darah yang meliputi jumlah sel darah merah, nilai hematokrit dan konsentrasi hemoglobin serta aktivitas enzim δ -ALA-D darah dalam biosintesis heme.

Tinjauan pustaka

Sumber logam berat dalam limbah padat

Industri kertas yang dalam proses produksinya melibatkan proses *deinking* dari bahan baku kertas bekas akan menghasilkan limbah padat yang mengandung logam berat non esensial seperti timbal, kadmium, kromium dan arsen⁵⁾. Keberadaan logam tersebut di dalam limbah padat IPAL, berasal dari tinta percetakan yang menempel pada kertas bekas yang digunakan sebagai bahan baku untuk industri kertas. Logam-logam tersebut terikat dalam senyawa kompleks logam-DTPA, dimana DTPA (*Diethylenetriaminepentaacetic Acid*) adalah suatu bahan kimia yang ditambahkan pada proses *deinking*. Selain berasal dari tinta percetakan, logam tersebut dapat juga berasal dari *clay filler* dan *coatin*²²⁾. Beberapa jenis logam yang terdapat dalam limbah padat IPAL industri kertas yang menggunakan proses *deinking* adalah Fe, Ni, Cd, Pb, Cu, Cr, Al, Ba, Co, Hg, Zn dan Mn²²⁾.

Pengaruh timbal terhadap kehidupan

Di alam, timbal tidak dapat terdegradasi, sehingga akan terakumulasi dan menjadi bahan pencemar yang dapat membahayakan kelangsungan hidup manusia dan makhluk hidup lainnya. Masuknya timbal ke dalam tubuh sangat dipengaruhi oleh banyak faktor, di antaranya adalah jalur masuknya timbal ke dalam tubuh dan sifat kimia timbal¹⁾. Jalur masuk timbal ke dalam tubuh manusia dan hewan mamalia dapat melalui saluran pernafasan dan saluran pencernaan²⁴⁾.

Timbal dapat masuk dalam tubuh melalui saluran pencernaan bersama dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi yang kemudian akan diabsorpsi di dalam usus halus¹⁵⁾. Laju absorpsi dipengaruhi oleh kondisi fisiologi individu yang meliputi umur, status nutrisi dan kondisi puasa atau tidak. Absorpsi timbal pada anak-anak lebih tinggi dari pada orang dewasa. Pada anak umur 2 minggu sampai 8 tahun sekitar 40-50% timbal yang masuk ke dalam tubuh dapat diabsorpsi di usus halus³⁰⁾. Pada orang dewasa yang tidak dalam kondisi puasa, hanya sekitar 10% timbal yang masuk ke dalam tubuh dapat diabsorpsi di usus halus²⁹⁾, tetapi pada orang dewasa dalam kondisi puasa, sekitar 60-80% timbal yang masuk ke dalam tubuh dapat diabsorpsi usus halus¹⁵⁾.

Berdasarkan bentuk senyawanya, sifat kimia timbal dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu senyawa anorganik dan senyawa organik. Beberapa senyawa timbal anorganik adalah timbal klorida, timbal asetat, timbal nitrat, timbal sulfida, timbal fosfat dan timbal oksida¹⁾. Senyawa timbal anorganik bersifat hidrofil, sehingga sulit menembus membran sel. Di dalam lambung dan usus halus, absorpsi timbal anorganik tergantung pada senyawa kimia nutrisi yang ada di dalamnya²⁷⁾. Lain halnya dengan senyawa timbal organik yang umumnya bersifat lipofil, sehingga lebih mudah menembus membran sel dan dapat masuk ke dalam sistem peredaran darah. Terdapat beberapa garam timbal yang dibentuk dengan asam organik, di antaranya adalah tetraetil-timbal (Et₄Pb) dan tetrametil-timbal (Me₄Pb). Timbal organik mempunyai daya toksik yang jauh lebih besar dibanding dengan timbal anorganik⁸⁾.

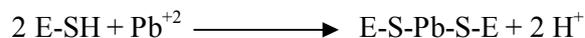
Timbal yang masuk ke peredaran darah akan didistribusikan ke seluruh tubuh dan akan berikatan dengan reseptor sel dari organ target. Akumulasi timbal dalam tubuh dapat terjadi dalam darah, jaringan organ tubuh dan tulang¹²⁾. Dari timbal yang dapat diabsorpsi masuk ke peredaran darah, sekitar 99% terdapat dalam sel eritrosit¹⁾. Akumulasi timbal pada sel eritrosit tersebut dapat menyebabkan sel menjadi rapuh dan umur sel menjadi lebih singkat serta berpengaruh pada pembentukan retikulosit. Selain itu juga mengganggu aktivitas enzim δ -ALA-D darah dalam sintesis heme⁷⁾.

Aktivitas δ -ALA-D darah

Heme disintesis dari glisin dan suksinil koenzim A, dengan piridoksal fosfat sebagai kofaktor¹²⁾. Timbal yang berada dalam darah dapat mengganggu biosintesis heme. Heme merupakan komponen utama dari hemoglobin yang dibentuk dalam sistem hematopoetik. Timbal dalam sistem peredaran darah dapat mengganggu beberapa enzim yang berperan dalam biosintesis heme dan salah satunya adalah enzim δ -ALA-D^{7; 12)}. Enzim δ -ALA-D merupakan enzim yang paling sensitif terhadap timbal dan berperan pada tahap awal dari biosintesis heme yaitu mengkatalis dua molekul *Aminolevulinic Acid* (ALA) menjadi satu mol porfobilinogen²⁴⁾. Keberadaan timbal dalam darah dapat menurunkan aktivitas δ -ALA-D yang akan menyebabkan terhambatnya pembentukan porfobilinogen dari substrat ALA^{7; 12)}.

Mekanisme terhambatnya aktivitas δ -ALA-D darah oleh timbal dengan cara menempelnya

timbal pada gugus -SH sebagai sisi aktif dari molekul enzim δ -ALA-D darah dan membentuk ikatan kovalen dengan atom sulfur¹⁰⁾. Reaksi ikatan enzim δ -ALA-D darah dengan timbal adalah sebagai berikut :



BAHAN DAN METODA

Bahan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan, Departemen Biologi ITB Bandung pada bulan Maret 2004 - Januari 2005. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah padat IPAL yang berasal dari industri kertas. Dalam proses produksinya, industri kertas tersebut menggunakan bahan baku kertas bekas dan melakukan proses penghilangan tinta (*deinking*) terhadap bahan baku tersebut.

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berumur 4 minggu dengan berat badan rata-rata $79,88 \pm 8,36$ g. Tikus diperoleh dari Laboratorium Hewan Departemen Biologi ITB Bandung. Jumlah tikus yang digunakan dalam percobaan ini adalah 90 ekor. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua tikus diadaptasikan selama 7 hari di dalam ruang percobaan. Suhu ruang percobaan berkisar 22 - 28°C dan kelembaban relatif 67 - 84 %. Hewan diberi pakan dan air minum secara berlebihan (*ad libitum*). Pakan yang diberikan berupa pelet CP 551 yang diproduksi oleh PT Charoen Pokphand Indonesia.

Metoda

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan yang terdiri atas 3 perlakuan dosis ekstrak limbah dan 5 perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal dan kontrol negatif yang hanya mengandung pelarut (air). Jumlah tikus pada masing-masing perlakuan adalah 10 ekor. Masing-masing variasi perlakuan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Penentuan 3 variasi perlakuan dosis ekstrak limbah dilakukan berdasarkan nilai LD₅₀ yang diperoleh dari uji toksisitas akut yaitu 11000 mg/kg b.b dan pendekatan dengan menggunakan formula Forbes⁶⁾. Sedangkan penentuan variasi dosis timbal sebagai kontrol positif, berdasarkan pada kisaran konsentrasi timbal yang terkandung dalam limbah padat IPAL industri kertas yang menggunakan bahan baku kertas bekas.

Tabel 1 Variasi perlakuan dosis ekstrak limbah dan kontrol positif

Bahan	Perlakuan	Ekstrak limbah		Dosis Pb
penelitian		A	B	($\mu\text{g/kg b.b/hari}$)
Kontrol negatif *	I	-	-	-
Ekstrak limbah	II	350	0,04	-
	III	2500	0,32	-
	IV	5000	0,64	-
Pb Nitrat (kontrol positif)	V			0,5
	VI			5
	VII			50
	VIII			500
	IX			5000

Ket : b.b: berat badan; A : dosis (mg/kg b.b/hari) ;
B : kandungan timbal dalam ekstrak (μg)

Pemberian perlakuan dosis limbah dilakukan dalam bentuk ekstrak dan perlakuan dosis timbal dalam bentuk larutan senyawa timbal nitrat $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pembuatan ekstrak limbah dilakukan dengan metoda dingin dengan pelarut air. Seluruh dosis perlakuan diberikan dengan jarum *gavage* melalui lambung. Pemberian perlakuan dilakukan setiap hari selama 90 hari¹⁸⁾ dan selama penelitian, tikus diberi pakan pelet komersil dan air minum secara berlebihan.

Pengamatan dilakukan terhadap laju pertambahan berat badan setiap 1 minggu sekali; perubahan fisiologis tikus yang meliputi analisis darah setiap 2 minggu sekali. Parameter darah yang dianalisis adalah karakteristik darah (konsentrasi hemoglobin, jumlah sel eritrosit dan nilai hematokrit) dan aktivitas δ -ALA-D darah serta kandungan timbal dalam darah. Analisis timbal dalam darah dan aktivitas δ -ALA-D dilakukan dengan metode tanpa HgCl_2 menurut Nakagawa¹⁷⁾. Penentuan karakteristik darah dilakukan dengan metode teknologi resistensi elektronik dan *volumetric metering* dengan instrumen *hematology analyzer Cell dyn 1700* yang pelaksanaannya dilakukan di Laboratorium klinik Prodia Bandung

Teknik pengolahan data

Pengolahan data konsentrasi timbal dalam darah, aktivitas δ -ALA-D darah dan karakteristik darah dilakukan dengan menggunakan analisis statistik. Pengolahan data diawali dengan uji normalitas dan uji homogenitas dari masing-masing populasi data. Uji normalitas dilakukan dengan metode Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas menurut Mauchy²⁵⁾.

Data yang berdistribusi normal dan homogen dianalisis dengan statistik parametrik ANOVA dan terhadap data yang tidak berdistribusi normal dan atau tidak homogen dianalisis dengan statistik non parametrik Kruskal Wallis. Terhadap hasil analisis yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji *post hoc comparison* dari Tukey pada selang kepercayaan 95%²⁵⁾. Pengolahan data statistik dari seluruh data dilakukan dengan menggunakan *software* statistik yaitu *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) series 10.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik limbah dan ekstraknya

Limbah dari industri kertas yang melakukan proses *deinking*, umumnya lebih banyak mengandung logam timbal, kadmium, tembaga dan kromium⁵⁾. Atas dasar hal tersebut, karakterisasi limbah dibatasi hanya pada empat jenis logam tersebut. Karakteristik limbah dan ekstraknya dapat dilihat pada Tabel 2.

Logam-logam yang terkandung dalam ekstrak menunjukkan konsentrasi yang sangat rendah dibandingkan dengan yang terkandung dalam limbahnya. Konsentrasi timbal dalam limbah maupun dalam ekstraknya menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan dengan tiga jenis logam lainnya. Timbal yang terkandung dalam limbah yang dapat larut dalam ekstraknya sangat kecil yaitu hanya $126 \mu\text{g/kg}$ atau sekitar 0,07% dari total yang terkandung dalam limbah total. Rendahnya konsentrasi timbal dalam ekstrak dapat disebabkan oleh kuatnya ikatan timbal dalam suatu senyawa yang sulit larut dalam air. Hal tersebut dapat dijelaskan dengan sifat kelarutan logam dalam air alami.

Tabel 2 Hasil analisis logam pada limbah dan ekstraknya

Parameter	Nilai rata-rata		
	Limbah total	Ekstrak limbah	
	mg/kg	µg/l ekstrak*	µg/kg limbah
Pb	175,2	252	126
Cd	26,2	42	21
Cu	6,9	10	5
Cr	56.3	144	72

Keterangan : * Konsentrasi larutan ekstrak 2 g/ml

Di alam, logam dapat bereaksi dengan ligan pengkompleks anorganik yang ada dalam air, baik dari sumber alami maupun sumber pencemar. Ligan pengkompleks anorganik yang dominan adalah Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , F^- , sulfida dan fosfat. Reaksi logam-ligan akan membentuk ion-ion kompleks yang kelarutannya sangat tergantung pada pH serta kepekatan dan jenis ligannya. Makin asam pH dan makin pekat ligannya makin tinggi tingkat kelarutannya⁴⁾.

Ikatan senyawa timbal dalam limbah padat IPAL industri kertas sangat dipengaruhi oleh bahan kimia yang dipakai dalam proses produksi dan proses pengolahan air limbahnya.

Konsentrasi timbal dalam darah

Hubungan antara lamanya pemberian ekstrak dengan konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus dapat dilihat pada Gambar 1. Secara umum, data menunjukkan bahwa kisaran konsentrasi timbal rata-rata dalam darah pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak jauh lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi perlakuan kontrol positif (timbal nitrat). Kisaran konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 350 - 5000 mg/kg b.b/hari adalah 0 - 4,58 µg/dl jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang diberi perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal 50; 500 dan 5000 µg/kg b.b/hari.

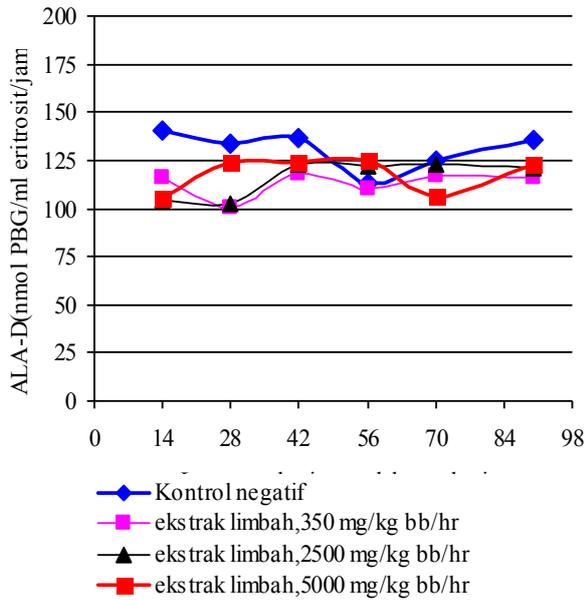
Konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi perlakuan kontrol positif tersebut berkisar antara 1,49 - 19,80 µg/dl, sedangkan dalam darah tikus pada kontrol negatif tidak terdeteksi adanya timbal. Walaupun konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak jauh lebih

rendah dibandingkan dengan yang diberi perlakuan kontrol positif, tetapi pada kedua kelompok perlakuan tersebut sama-sama menunjukkan konsentrasi timbal rata-rata dalam darah yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi timbal yang diberikan setiap hari selama 90 hari. Hal tersebut diketahui dari persentase timbal yang masuk ke dalam darah kelompok tikus yang diberi ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari hanya 7,95% - 9,51% dari jumlah kumulatif timbal yang diberikan selama 56 hari dan 90 hari

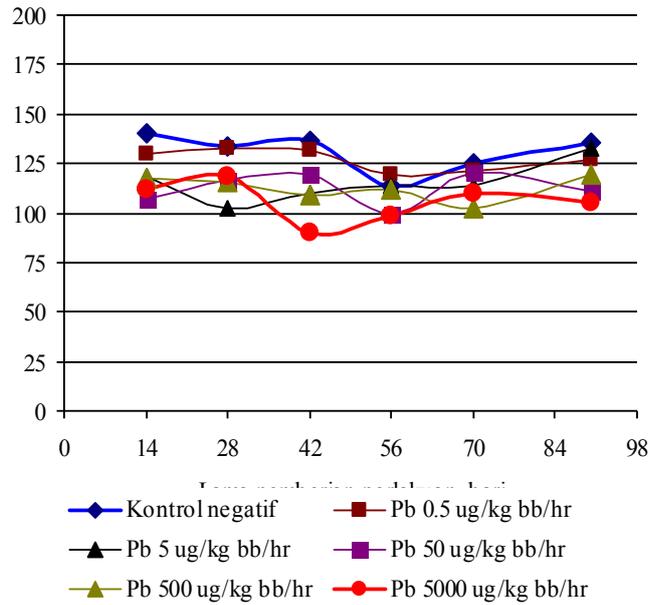
Dalam penelitian ini terdapat 2 faktor utama yang menyebabkan rendahnya konsentrasi timbal dalam darah pada kelompok tikus yang diberi ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari yaitu jalur masuknya timbal ke dalam tubuh dan sifat kimia timbal dalam ekstrak limbah. Perlakuan pemberian timbal yang dilakukan pada penelitian ini adalah melalui saluran pencernaan. Absorpsi timbal melalui saluran pencernaan, terutama terjadi di dalam usus halus dengan laju absorpsi sangat dipengaruhi oleh tingkat kelarutannya dalam lemak¹⁵⁾. Makin tinggi tingkat kelarutan senyawa timbal dalam lemak, makin cepat laju absorpsinya melalui membran *bilayer* fosfolipid pada saluran pencernaan. Timbal yang masuk ke dalam tubuh melalui jalur saluran pencernaan hanya 10 % yang dapat diabsorpsi usus dan sisanya akan terbuang bersama dengan feses²⁴⁾.

Sifat kimia timbal yang terikat dalam senyawa anorganik, umumnya bersifat hidrofil dan lebih polar dibandingkan dengan timbal yang terikat dalam senyawa organik, sehingga senyawa anorganik lebih sulit larut dalam lemak¹²⁾. Timbal yang terkandung dalam limbah, umumnya berasal dari tinta yang menempel pada bahan baku kertas bekas, sehingga diperkirakan timbal tersebut terikat dalam senyawa anorganik yang bersifat hidrofil yang sulit menembus membran sel²⁶⁾. Di dalam usus halus, tingkat absorpsi timbal anorganik sangat rendah dan untuk dapat terabsorpsi, tergantung pada senyawa kimia nutrisi yang ada di dalamnya. Beberapa komponen nutrisi yang mengandung natrium sitrat, asam askorbat, asam amino, vitamin D, protein, lemak dan laktosa dapat berikatan dengan timbal dan dapat meningkatkan absorpsi timbal masuk ke peredaran darah⁽²⁶⁾. Kandungan protein dan lemak dalam pakan yang diberikan pada tikus dalam penelitian ini adalah protein 20%, lemak 4,5%. Pakan tersebut berupa pelet CP 551 yang diproduksi oleh PT Charoen Pokphand Indonesia.

Perlakuan ekstrak limbah IPK



Perlakuan timbal



Gambar 1. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap konsentrasi timbal dalam darah tikus

Konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari menunjukkan adanya peningkatan sampai $3,41 \pm 0,62 \mu\text{g/dl}$ pada hari ke-56, kemudian menurun sampai tidak terdeteksi pada hari ke-70 dan meningkat kembali sampai $4,58 \pm 0,39 \mu\text{g/dl}$ pada hari ke-90. Dari data tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi timbal dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari secara terus menerus selama 90 hari sangat rendah dan keberadaannya cenderung berfluktuasi. Kecenderungan tersebut tampak juga pada pemberian perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal 50; 500 dan 5000 $\mu\text{g/kg}$ b.b/hari. Kisaran konsentrasi timbal rata-rata dalam darah pada perlakuan kontrol positif tersebut adalah $1,49 - 19,80 \mu\text{g/dl}$.

Adanya kecenderungan berfluktuasinya konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu waktu paruh timbal dalam darah, selang waktu pemberian perlakuan dan besarnya dosis yang diberikan. Waktu paruh timbal darah 28 – 36 hari²⁴⁾.

Pada penelitian ini, selang pemberian perlakuan adalah satu hari dan kandungan timbal dalam perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg

b.b/hari adalah $0,64 \mu\text{g}$ (Tabel 1). Oleh karena selang waktu pemberian perlakuan ekstrak dilakukan setiap hari dan lebih kecil dibandingkan dengan waktu paruh timbal dalam darah, maka pada akhir tiap selang pemberian perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari kemungkinan masih terdapat sejumlah timbal dalam tubuh, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi timbal dalam darah.

Walaupun peningkatannya sangat kecil, konsentrasi timbal dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari mulai terdeteksi pada hari ke-56 sebesar $3,41 \pm 0,62 \mu\text{g/dl}$. Karena timbal dalam darah mempunyai waktu paruh, maka bersamaan dengan meningkatnya konsentrasi timbal dalam darah, timbal juga akan tereliminasi. Kecepatan peningkatan konsentrasi timbal dalam darah dipengaruhi oleh sifat kimia timbal. Daya absorpsi timbal anorganik dalam tubuh sangat lambat dan kemungkinan jumlah yang dapat terabsorpsi di usus halus persatuan waktu tidak konstan, sehingga keberadaan timbal dalam darah akan menurun kembali. Terjadinya penurunan konsentrasi timbal dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari tampak pada hari ke-70.

Mutschler menyatakan bahwa apabila waktu paruh lebih besar dari selang waktu pemberian perlakuan suatu senyawa, maka pada akhir tiap selang pemberian dosis masih terdapat sejumlah

senyawa tersebut dalam tubuh¹⁶⁾. Pada pemberian dosis selanjutnya akan menyebabkan konsentrasi senyawa tersebut dalam darah lebih tinggi dibandingkan dengan saat pemberian dosis sebelumnya. Pada waktu yang bersamaan jumlah senyawa yang dieliminasi persatuan waktu juga meningkat. Hal tersebut akan terjadi terus sampai kondisi setimbang atau konsentrasi *steady state*. Pada data yang diperoleh pada penelitian ini, efek perlakuan ekstrak terhadap konsentrasi timbal dalam darah belum dapat diketahui kecenderungannya secara jelas, karena frekuensi terjadinya fluktuasi konsentrasi timbal dalam darah belum terlalu tampak dan masih sedikit.

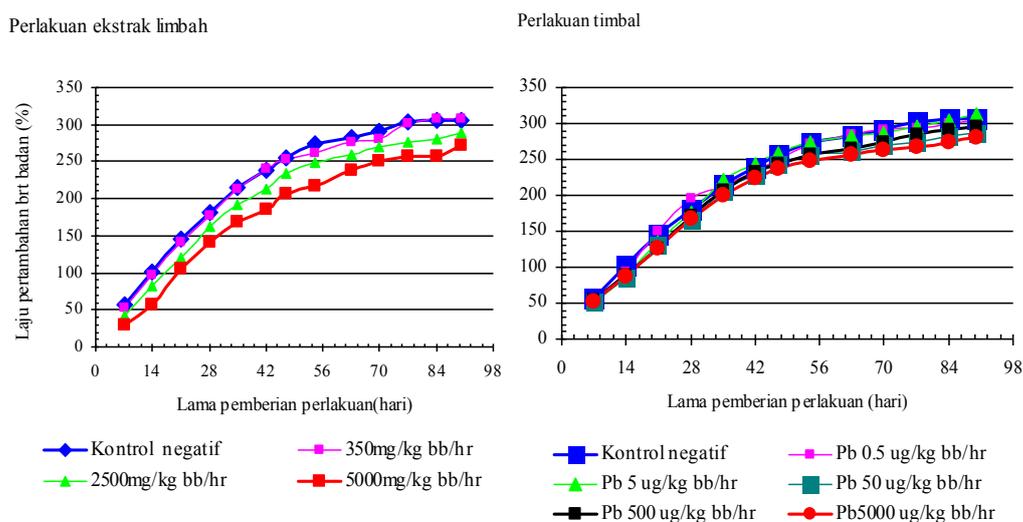
Laju pertumbuhan berat badan

Hubungan lamanya pemberian ekstrak dengan laju pertumbuhan berat badan rata-rata dapat dilihat pada Gambar 2. Secara umum, laju pertumbuhan berat badan rata-rata dari minggu ke minggu berikutnya menunjukkan kenaikan, baik pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak, perlakuan kontrol positif maupun kontrol negatif. Laju pertumbuhan berat badan rata-rata cenderung sama pada semua perlakuan yang makin menurun sejalan dengan bertambahnya umur tikus. Laju pertumbuhan berat badan rata-rata tikus pada kontrol negatif menunjukkan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan ekstrak maupun kontrol positif.

Hasil analisis ANOVA *repeated measures* menunjukkan bahwa efek variasi lama pemberian perlakuan ekstrak terhadap laju pertumbuhan berat badan rata-rata berbeda nyata ($p < 0,05$). Hasil uji

banding berganda Tukey, menunjukkan bahwa laju pertumbuhan berat badan rata-rata tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari lebih kecil dan berbeda nyata dengan kontrol negatif maupun kontrol positifnya. Sampai hari ke 42, laju pertumbuhan berat badan rata-rata tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari lebih kecil dan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol negatif. Terjadinya penurunan laju berat badan rata-rata tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari merupakan salah satu indikasi terjadinya *stress* terhadap tikus tersebut. Menurut Campbell (2000), terjadinya penurunan berat badan merupakan indikasi ringan terhadap *stress*³⁾. Di dalam interval waktu saat mengalami *stress*, metabolisme tubuh cenderung meningkat, yang akan diikuti dengan kebutuhan energi yang meningkat pula, sehingga berat badan menurun.

Secara fisiologis, reaksi awal tubuh terhadap *stress* adalah aktifnya hormon epinefrin yang akan merangsang sel hati melepaskan glukosa sebagai energi untuk aktivitas selulernya¹³⁾. Selain itu Lu (1995) juga menyatakan bahwa menurunnya laju pertumbuhan berat badan rata-rata yang sifatnya sementara lebih disebabkan oleh efek biologis yang bersifat adaptasi daripada bersifat toksik¹²⁾. Atas dasar hal tersebut di atas, penurunan laju pertumbuhan berat badan rata-rata tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari yang hanya terjadi selama 42 hari, dapat diklasifikasikan sebagai efek biologis yang bersifat adaptasi terhadap ekstrak yang masuk dalam tubuhnya.



Gambar 2. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap laju pertumbuhan berat badan rata-rata

Pengaruh lama pemberian ekstrak limbah

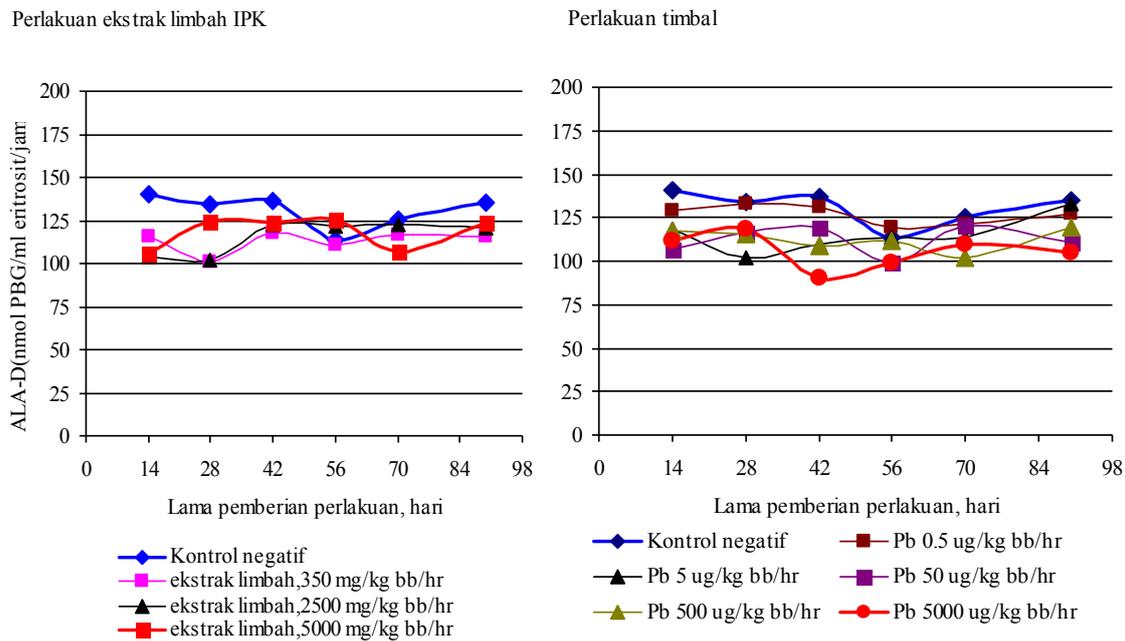
1. Terhadap aktivitas δ -ALA-D darah

Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak terhadap aktivitas rata-rata enzim δ -ALA-D darah tikus dapat dilihat pada Gambar 3. Aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah pada semua perlakuan, baik yang diberi perlakuan ekstrak maupun perlakuan kontrol positif menunjukkan fluktuasi pada kisaran antara 90,05 - 140,40 nmol PBG/ml sel eritrosit/jam. Kisaran aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah per 2 minggu selama 90 hari pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 350 sampai 5000 mg/kg b.b/hari adalah 102,29 - 125,12 nmol PBG/ml sel eritrosit/jam, pada dosis kontrol positif yang mengandung timbal antara 0,5 sampai 5000 μ g/kg b.b/hari adalah 90,05 - 133,11 nmol PBG/ml sel eritrosit/jam dan pada kontrol negatif adalah 113,29 -140,40 nmol PBG/ml sel eritrosit/jam.

Hasil analisis ANOVA *repeated measures* menunjukkan bahwa aktivitas rata-rata δ -ALA-D

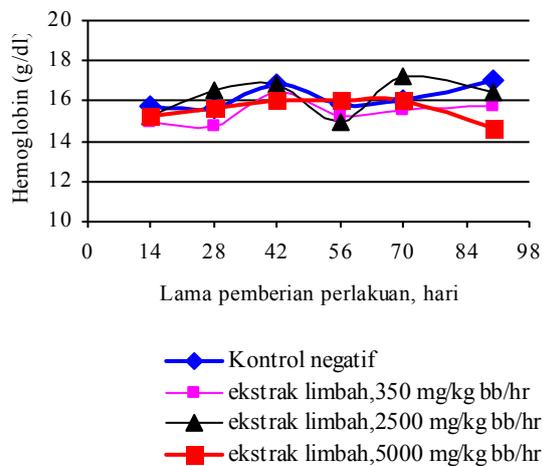
darah pada tikus yang diberi ekstrak tidak berbeda nyata dengan tikus yang diberi perlakuan kontrol negatif dan kontrol positif. Walaupun secara statistik tidak berbeda nyata, aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah pada tikus yang diberi ekstrak mengalami penurunan. Makin tinggi dosis ekstrak yang diberikan menunjukkan adanya kecenderungan makin menurunnya aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah.

Terjadinya penurunan aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah yang dialami oleh tikus yang diberi ekstrak, kemungkinan merupakan indikasi adanya kontaminan timbal dalam darah. Kisaran konsentrasi timbal rata-rata dalam darah tikus yang diberi ekstrak dosis 350 - 5000 mg/kg b.b/hari selama 90 hari berkisar antara 0-4,578 μ g/dl. Schetinger *et al.* (1999), Goulart *et al.* (2001) dan Klaassen (2001) menyatakan bahwa mekanisme terhambatnya aktivitas enzim δ -ALA-D oleh timbal dengan cara menempelnya timbal pada gugus -SH sebagai sisi aktif dari molekul enzim δ -ALA-D darah dan membentuk ikatan kovalen dengan atom sulfur. N

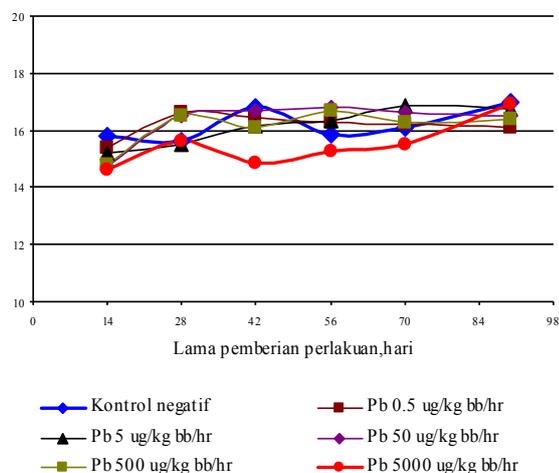


Gambar 3. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah

Perlakuan ekstrak limbah IPK



Perlakuan timbal



Gambar 4. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap konsentrasi hemoglobin rata-rata.

Dengan adanya hambatan timbal terhadap aktivitas δ -ALA-D darah akan menyebabkan porfobilinogen tidak dapat diproduksi dari substrat ALA, akibatnya adalah konsentrasi ALA dalam urin dan plasma meningkat. Pada manusia, penghambatan aktivitas enzim δ -ALA-D terjadi pada konsentrasi darah 5-50 $\mu\text{g/dl}$ ⁽²⁴⁾. Menurut Lu (1995), penurunan aktivitas rata-rata δ -ALA-D darah mulai tampak pada konsentrasi timbal darah 10 $\mu\text{g/dl}$ dan menurut Toro dan Ackermann (1975) pada konsentrasi 10 - 50 $\mu\text{g/dl}$ ^(12 & 28).

2. Karakteristik darah

a. Konsentrasi hemoglobin

Menurut Goyer *et al.* (1975) dan Lu (1995), keberadaan timbal dalam sistem peredaran darah dapat mengganggu aktivitas δ -ALA-D yang berperan dalam biosintesis hemoglobin. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak terhadap konsentrasi hemoglobin rata-rata dapat dilihat pada Gambar 4. Pada penelitian ini, konsentrasi hemoglobin rata-rata pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 350 - 5000 mg/kg b.b/hari selama 90 hari berkisar antara 14,67 - 17,27 g/dl, pada tikus yang diberi perlakuan kontrol positif berkisar antara 14,73 - 16,87 g/dl, dan kisaran pada kontrol negatif 15,60 - 17,20 g/dl.

Hasil analisis ANOVA *repeated measures* menunjukkan bahwa konsentrasi rata-rata hemo-globin pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak tidak berbeda nyata dengan yang diberi kontrol negatif. Walaupun secara statistik tidak berbeda nyata, konsentrasi hemoglobin rata-rata pada tikus yang diberi ekstrak, cenderung menurun, terutama pada pemberian ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari pada hari ke 90. Terjadinya penurunan konsentrasi hemoglobin rata-rata, kemungkinan merupakan indikasi adanya kontaminan timbal dalam darah yang dapat mengganggu biosintesis heme yang merupakan komponen utama dari hemoglobin⁽¹⁴⁾.

b. Jumlah sel eritrosit dan nilai hematokrit

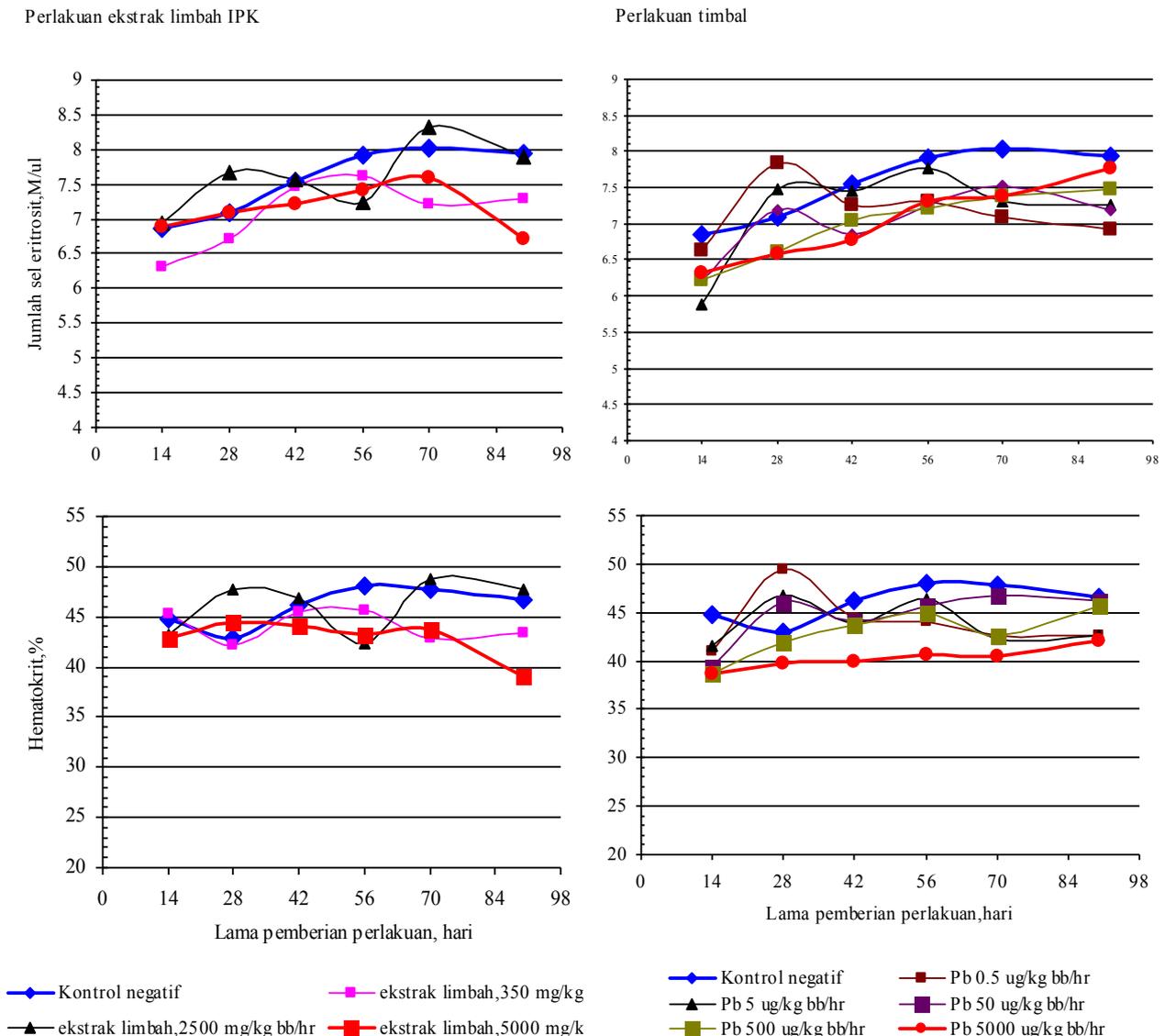
Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap jumlah sel eritrosit rata-rata dan nilai hematokrit rata-rata dapat dilihat pada Gambar 5. Pada gambar tersebut tampak bahwa grafik jumlah sel eritrosit rata-rata cenderung sama dengan grafik nilai hematokrit rata-rata. Kecenderungan yang sama dari 2 parameter tersebut disebabkan karena hematokrit merupakan perbandingan jumlah sel eritrosit rata-rata terhadap volume darah total, sehingga ke-2 parameter tersebut dapat saling mempengaruhi. Pada penelitian ini, kisaran jumlah sel eritrosit rata-rata pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 350 - 5000 mg/kg b.b/hari adalah 6,58 - 8,32 M/ μl , perlakuan dosis kontrol positif yang

mengandung timbal 0,5 - 5000 µg/kg b.b/hari adalah 6,23 - 7,78 M/µl dan kontrol negatif 6,86 - 8,03 M/µl.

Hasil analisis *multivariate ANOVA repeated measures* menunjukkan jumlah sel eritrosit rata-rata pada tikus yang diberi ekstrak berbeda nyata dengan tikus yang diberi perlakuan kontrol negatif dan kontrol positif ($p < 0,05$). Jumlah sel eritrosit rata-rata pada tikus yang diberi ekstrak mengalami penurunan. Makin tinggi dosis ekstrak yang diberikan menunjukkan jumlah sel eritrosit rata-rata yang cenderung menurun.

Sejalan dengan menurunnya jumlah sel eritrosit rata-rata, nilai hematokrit rata-rata per satuan waktu juga menunjukkan penurunan. Hasil analisis *multivariate ANOVA repeated measures* menunjukkan bahwa nilai hematokrit rata-rata darah tikus yang diberi ekstrak berbeda nyata dengan kelompok tikus yang diberi perlakuan

kontrol negatif dan kontrol positif ($p < 0,05$). Kisaran nilai hematokrit rata-rata pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 350 - 5000 mg/kg b.b/hari adalah 41,00 - 48,73 %, pada perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal antara 0,5 - 5000 µg/kg b.b/hari adalah 38,60 - 46,80 % dan kontrol negatif 43,93 - 48,00% . Terjadinya penurunan jumlah sel eritrosit rata-rata dan nilai hematokrit rata-rata dalam darah yang dialami oleh tikus yang diberi ekstrak, kemungkinan merupakan indikasi adanya kontaminan timbal dalam darah. Mugahi dan Heidari (2003) menyatakan bahwa 99% timbal dalam darah terdapat dalam sel eritrosit dan sisanya 1% berada dalam plasma. Tingginya konsentrasi timbal rata-rata dalam darah, dapat menyebabkan sel eritrosit rapuh dan mudah pecah dan juga dapat menyebabkan terganggunya proses eritropoiesis dalam sumsum tulang (Marcus & Schwartz, 1987).



Gambar 5. Hubungan lamanya pemberian perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap jumlah sel eritrosit rata-rata dan nilai hematokrit rata-rata

Menurut Rober (2000), konsentrasi timbal rata-rata dalam darah 50 – 80 µg/dl menyebabkan jumlah sel eritrosit rata-rata berkurang dan mempengaruhi pembentukan retikulosit dan menurut Ruslijanto (1984) kadar timbal darah lebih besar dari 40 µg/dl dapat menyebabkan nilai hemoglobin lebih kecil dari 13 g/dl. Pada penelitian ini, konsentrasi timbal rata-rata dalam darah masih jauh di bawah 40 µg/dl.

Pengaruh toksisitas subkronis ekstrak terhadap karakteristik darah dan aktivitas ALA-D

Pengaruh toksisitas subkronis perlakuan ekstrak dan kontrol positif terhadap aktivitas rata-rata δ-ALA-D darah dan karakteristik darah tikus dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa aktivitas rata-rata δ-ALA-D pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari lebih rendah dan berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol negatif ($p < 0,05$). Konsentrasi timbal dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari masing-masing adalah 3,78 dan 4,24 µg/dl. Kisaran konsentrasi timbal tersebut tidak berbeda nyata dengan konsentrasi timbal dalam darah pada tikus yang diberi perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal 0,5 dan 5 µg, tetapi efek yang terjadi terhadap aktivitas δ-ALA-D darah adalah berbeda. Perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari serta perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal 500 µg dan 5000 µg memberikan efek yang tidak berbeda nyata terhadap penurunan aktivitas δ-ALA-D.

Adanya perbedaan efek perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari dengan perlakuan kontrol positif yang mengandung timbal 0,5 dan 5 µg terhadap aktivitas δ-ALA-D, kemungkinan disebabkan oleh timbal dan komponen pencemar lainnya yang terkandung dalam limbah yang juga memberi kontribusi sifat toksik. Menurunnya aktivitas ALAD darah pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari mempengaruhi biosintesis heme yang akan mengakibatkan terhambatnya proses pembentukan hemoglobin. Namun pengaruh yang tampak terhadap pembentukan hemoglobin, hanya pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak 5000 mg/kg b.b/hari.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi hemoglobin rata-rata pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari

lebih rendah dan berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol negatif ($p < 0,05$). Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi timbal dalam darah makin rendah konsentrasi hemoglobin rata-rata, tetapi kecenderungan tersebut hanya terjadi pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak. Lain halnya dengan tikus yang diberi perlakuan kontrol positif, kecenderungan tersebut tidak terjadi. Adanya perbedaan efek timbal dalam darah terhadap konsentrasi hemoglobin pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak dengan yang diberi perlakuan kontrol positif, memperkuat pernyataan yang telah disebutkan di atas yaitu bahwa efek yang terjadi pada tikus yang diberi ekstrak bukan hanya disebabkan oleh kandungan timbal yang terkandung di dalamnya, tetapi juga oleh komponen pencemar lain yang terkandung dalam limbah.

Sejalan dengan menurunnya konsentrasi hemoglobin pada kelompok tikus yang diberi ekstrak 5000 mg/kg b.b/hari, terjadi pula penurunan nilai hematokrit. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa nilai hematokrit rata-rata pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari lebih rendah dan berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol negatif ($p < 0,05$). Telah diketahui bahwa nilai hematokrit menunjukkan perbandingan antara jumlah sel eritrosit rata-rata terhadap volume darah total⁽¹⁶⁾. Namun dalam penelitian ini, jumlah sel eritrosit rata-rata pada tikus yang diberi perlakuan ekstrak limbah 5000 mg/kg b.b/hari tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Adanya perbedaan pengaruh perlakuan ekstrak dosis 5000 mg/kg b.b/hari terhadap masing-masing parameter karakteristik darah (konsentrasi hemoglobin dan nilai hematokrit menurun dan berbeda nyata, tetapi jumlah sel eritrosit tidak berbeda nyata), hal tersebut kemungkinan hanya disebabkan oleh sensitivitas yang berbeda, karena kisaran nilai dari masing-masing parameter tersebut masih dalam kisaran nilai normal darah tikus (Tabel 3). Kisaran normal konsentrasi hemoglobin, nilai hematokrit dan jumlah sel eritrosit dalam darah tikus adalah berturut-turut 14 - 20 g/dl; 36 - 48 % dan 7,2 - 9,6 M/µl⁽³¹⁾.

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari menyebabkan penurunan aktivitas δ-ALA-D, sedangkan pengaruhnya terhadap karakteristik darah menyebabkan penurunan konsentrasi hemoglobin dan nilai hematokrit darah yang masih dalam kisaran normal. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas δ-ALA-D darah yang berpengaruh terhadap biosintesa hemoglobin, sehingga menyebabkan penurunan konsentrasi

Tabel 3. Pengaruh toksisitas subkronis perlakuan ekstrak dan kontrol positifnya terhadap aktivitas δ -ALA-D darah dan karakteristik darah tikus

Perlakuan	Dosis	Konsentrasi Pb-darah $\mu\text{g}/\text{dl}$	Aktivitas δ -ALA-D ⁽¹⁾	Karakteristik darah		
				Hemoglobin g/dl	erithrosit M/ μl	Hematokrit %
Kontrol	0	0	144,3 \pm 48	17,28 \pm 1,11	7,87 \pm 0,26	46,45 \pm 1,61
Ekstrak (mg/kg b.b/hari)	350	2,73 \pm 0,16	118,1 \pm 27	16,46 \pm 0,99	7,39 \pm 0,45	45,06 \pm 2,04
	2500	3,78 \pm 0,16	100,5 \pm 24 *	16,16 \pm 0,96	7,63 \pm 0,63	45,61 \pm 4,11
	5000	4,24 \pm 0,25	98,09 \pm 51 *	15,55 \pm 1,01 *	7,40 \pm 0,65	42,15 \pm 3,64 *
Timbal ($\mu\text{g}/\text{kg}$ b.b/hari)	0,5	0,94 \pm 0,4	141,3 \pm 48	16,30 \pm 0,10	7,36 \pm 0,61	42,67 \pm 0,09
	5,0	4,46 \pm 0,22	124,9 \pm 29	16,92 \pm 1,02	7,59 \pm 0,37	43,42 \pm 1,62
	50	8,15 \pm 0,23 *	127,2 \pm 41	16,00 \pm 1,26	7,16 \pm 0,47	43,60 \pm 4,49
	500	10,2 \pm 0,21 *	90,11 \pm 40 *	16,68 \pm 0,8	7,64 \pm 0,38	44,72 \pm 2,2
	5000	13,2 \pm 0,26 *	99,46 \pm 30 *	16,38 \pm 1,0	7,47 \pm 0,46	41,11 \pm 2,51 *

Keterangan : - nilai rata-rata \pm S.D (n=10),

- nilai yang diikuti tanda* menunjukkan berbeda nyata terhadap kontrol ($p < 0,05$)

⁽¹⁾ : satuan nmol PBG/ml darah /jam

hemoglobin dalam darah. Penurunan konsentrasi hemoglobin dalam darah tersebut masih dalam kisaran normal, yang artinya tidak mengganggu konsentrasi oksigen yang didistribusikan ke seluruh tubuh, sehingga proses metabolisme aerobik dalam mitokondria sel tidak terganggu.

Dengan tidak terganggunya suplai konsentrasi oksigen ke dalam tubuh, maka proses pembentukan sel eritrositpun akan terjadi sesuai dengan jumlah sel eritrosit yang hancur karena masa aktifnya yang terbatas yaitu sekitar 120 hari. Telah diketahui bahwa produksi sel eritrosit dikontrol oleh mekanisme umpan balik negatif yang sensitif terhadap jumlah oksigen dalam jaringan melalui darah⁽²⁾. Nilai hematokrit masih dalam kisaran normal, artinya jumlah retikulosit yang berada dalam peredaran darah tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah sel eritrosit yang ada pada sistem peredaran darah, sehingga tidak berpengaruh dalam suplai oksigen dan metabolisme aerobik sel⁽¹⁶⁾.

Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi timbal dalam darah tikus yang diberi perlakuan ekstrak dosis 2500 dan 5000 mg/kg b.b/hari masing-masing adalah 3,78 dan 4,24 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Nilai tersebut masih jauh dibawah 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Menurut Ruslijanto (1984) kadar timbal dalam darah lebih besar dari 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ dapat menyebabkan nilai hemoglobin lebih kecil dari 13 g/dl dan menurut Rober (2000), konsentrasi timbal dalam darah 50 - 80 $\mu\text{g}/\text{dl}$ menyebabkan jumlah sel eritrosit berkurang dan mempengaruhi pembentukan retikulosit.

KESIMPULAN

1. Timbal yang terkandung dalam limbah *sludge* yang dapat larut air dalam ekstraknya sangat kecil yaitu hanya 126 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dari 175,2 mg/kg atau sekitar 0,07% dari total yang terkandung dalam limbah *sludge* total.
2. Hasil penelitian pengaruh pemberian perlakuan ekstrak limbah sampai dosis 5000 mg/kg b.b/hari secara terus menerus selama 90 hari adalah sebagai berikut :
 - Konsentrasi timbal dalam darah tikus sangat rendah dan keberadaannya cenderung berfluktuasi pada kisaran konsentrasi yang jauh lebih rendah daripada kontrol positifnya.
 - Terjadi penurunan laju pertambahan berat badan sampai hari ke 42 yang lebih disebabkan oleh efek biologis yang bersifat adaptasi.
 - Konsentrasi timbal dalam ekstrak limbah *sludge* menyebabkan penurunan aktivitas δ -ALA-D darah dan konsentrasi hemoglobin serta nilai hematokrit darah, tetapi penurunan tersebut masih dalam batas normal karakteristik darah tikus.

SARAN

Penentuan toksisitas subkronis limbah IPAL industri kertas, sangat kompleks dan memerlukan waktu yang sangat lama serta memerlukan biaya yang tidak sedikit. Untuk mengetahui sifat subkronis suatu limbah, sebaiknya diawali dengan penelurusan sumber kontaminan logam di dalam limbah, kemudian terhadap sumbernya tersebut dilakukan penentuan sifat kelarutannya dalam air (hidrofil) dan dalam lemak (lipofil). Bila kecenderungannya lebih bersifat hidrofil, tidak perlu dilakukan uji toksisitas subkronis. Tetapi bila lebih bersifat lipofil, maka dilakukan uji subkronis dengan pengamatan lebih difokuskan pada kandungan logam dalam darah, yang kemudian dihubungkan dengan waktu paruhnya dalam darah untuk mengetahui ada tidaknya akumulasi logam.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agency for Toxic and Disease Registry (ATSDR). 1999. *Toxicology Profile for Lead*. Public Health Service, U.S. Department of health and Human Service. Atlanta.
2. Campbell, N.A., Reece, J.B. & Mitchell, L.G. 1999. *Biology*. Fifth edition. Benjamin Cummings. San Francisco.
3. Campbell, N.A., Mitchell, L.G. & Reece, J.B. 2000. *Biology Concepts and Connections*. Addison Wesley Longman, Inc. San Francisco.
4. Connell, D.W. & Miller, G.J. 1995. *Chemistry and Ecotoxicology of Pollutan*. Willey Interscience Publication. 342-386.
5. Ferguson, K. 1991. *Environmental Solution for the Pulp and Paper Industry*. Miller Freeman. San Fransisco. 171-176.
6. Forbes, V.E. & Forbes, T.L. 1994. *Ecotoxicology in Theory and Practice*. Chapman & hall. London. 110-112.
7. Goyer, R.A., Kuhn, C. & Davis, G.L. 1975. *Environmental Pathology*. Academic Press. New York. 23-29.
8. Grandjean, P. 1984. *Biological Effects of Organolead Compounds*. Florida CRC Press. 98-100.
9. Hodson, P.V., Blunt, B.R., Spry, D.J. & Austen, K. 1977. Evaluation of Erythrocyte δ - Aminolevulinic Dehydratase Activity as a Short-Term Indicator in Fish of a Harmful Exposure to Lead. *J.Fish.Res. Board Can.* 34: 501-508.
10. Kelada, S., Shelton, E., Kaufmann, R.B. & Khoury, J.K. 2001. δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase genotype and lead toxicity. *American Journal of Epidemiology*. 154 (1): 1-13.
11. Klassen, C.D. 2001. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. 6thed. The McGraw-Hill Companies. USA. 827-833.
12. Lu, F.C. 1995. *Basic Toxicology, Fundamentals, target organs and Risk assesment*. Hemisphere publishing corporation. 346-370.
13. Martini, F.H. 1998. *Fundamentals of Anatomy and Physiology*. Fouth Edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey. 647-650.
14. Mugahi, M.N. & Heidari, Z. 2003. Effects of Chronic Lead Acetate Intoxication on Blood Indices of Male Adult Rat. *DARU*. 11(4): 147-50.
15. Mushak, P. 1991. Gastro-intestinal Absorption of Lead in Children and Adults. Overview of Biological and Biophysico-chemical Aspects. *Chemical Speciation and Bioavailability* 3: 87-104.
16. Mutschler, E. 1999. *Dinamika obat. Farmakologi dan Toksikologi* (terjemahan). Edisi ke 5. Penerbit ITB. Bandung. 700-740.
17. Nakagawa, H., Sato, T & Kubo, H. 1995. Method Not Requiring Mercuric Chloride for Determination of Activity of δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase in Blood of Carp *Cyprinus carpio*. *Fish.Sci.* 61(1): 97-99.
18. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) TG-408. 1998. *Sub Chronic Oral Toxicity Test-Repeated Dose 90-day Toxicity Study in Rodents*.
19. Purwati, S. Rina. S. Soetopo. 2001. Kajian Karakteristik Lumpur IPAL-IPK berkaitan Dengan Peraturan Pengelolaan Limbah B-3. *Prosiding Seminar Teknologi Selulosa*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Selulosa. Bandung. 85-95.
20. Rober, D.R. 2000. *Toxicology of Heavy Metals*. Departemen of Chemical Pathology. The Chinese university of Hongkong.
21. Robinowitz, M.B. & Wettherill, G.W., & Kopple, J.D. 1976. Kinetic Analysis of Lead Metabolisme in Healthy Human. *J.Lab.Clin Inves*. 58. 265-270
22. Richardson et al., 1992, The environmental impact of deinking : a pilot study, APPITA, Vol. 45 No. 5, 314 - 318.
23. Ruslijanto, H. 1984. Keracunan timah hitam, sumber-sumber, bahayanya dan penanggulangannya. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi*. Universitas Trisakti. Jakarta . Sakai, T. 2000.

24. Biomarkers of lead Exposure. *Industrial Health*. 38: 127-142.
 25. Santoso, S. 2004. *SPSS Statistik Parametrik*. Edisi ke 4. PT Elex media komputindo. Gramedia. Jakarta
 26. Schiefer, B., Donald, G.I & Buzik S. C. 1987. *You and Toxicology*. Toxicology Research Center University of Saskatchewan. Apex Graphics Saskatoon. 5 - 12.
 27. Sipos, P., Szentmihalyi, K., Feher, E., Abaza, M., Szilagy, M. 2003. Some Effects of Lead Contamination on Liver and Gallbladder Bile. *Acta Biologica Szegediensis*. 47 (1-4): 139-142.
 28. Toro, G & Ackermann, P.G. 1975. *Practical Clinical Chemistry*. Little, Brown and Company. Boston. 539-541.
 29. U.S. Environmental Protection Agency (US-EPA), 1996. *Technology Transfer Handbook Management of water Treatment Plant Residuals*. American Water Works Association. Denver. Colorado. 125-136.
 30. Ziegler, E.E., Edwards, B.B., Jensen, R.L. 1978. Absorption of Retention of Lead by Infants. *Pediatr. Res* 12: 29-34.
 31. Zutphen, L.F.M., Baumans, V. & Beynen, A.C. 1993. *Principles of Laboratory Animal Science*. Elsevier. Amsterdam. 17-20.
-