

PERUBAHAN HISTOPATOLOGIS ERITROSIT DAN JUMLAH ERITROSIT IMATURUS PADA ANAK ITIK TEGAL (*Anas javanica*) AKIBAT KERACUNAN PLUMBUM (Pb)

Histopathological Changes of Erythrocyte and Quantity of immature Erythrocytes in Tegal Duckling (Anas Javanica) Induced by Lead (Pb)

Hamdani Budiman¹ dan Dwinna Aliza¹

¹Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
E-mail: dwinna2000@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan histopatologis bentuk abnormal dan jumlah eritrosit imaturus akibat pemberian plumbum (Pb) pada anak itik. Sebagai sampel digunakan 25 ekor anak itik tegal (*Anas javanica*) betina, berumur tujuh hari dengan berat badan rata rata 60,5±5,07 g dibagi menjadi 4 perlakuan dan 1 kelompok kontrol masing-masing terdiri atas 5 ulangan. Kelompok perlakuan K1, K2, K3, dan K4 diberikan Pb dengan dosis: 5,7; 11,4; 17,1; dan 22,8 mg Pb/kg ransum selama 10 hari. Anak itik menunjukkan gejala feses berwarna coklat kehitaman, diare berwarna hijau, anemia dan pertambahan berat badan menurun. Gambaran perubahan histopatologis menunjukkan jumlah eritrosit imaturus (retikulosit) dan bentuk abnormal eritrosit seperti bentuk tetesan air, lonceng, dan bentuk botol meningkat. Hasil analisis varian dilanjutkan dengan uji regresi linier menunjukkan semakin tinggi dosis pemberian Pb di dalam ransum semakin tinggi jumlah eritrosit imaturus dan bentuk eritrosit abnormal ($P<0,01$).

Kata kunci: plumbum, eritrosit, itik

ABSTRACT

The aim of this research is to find out the histopathological changes of erythrocyte and the quantity of immature erythrocyte of tegal duckling treated with lead (Pb). Twenty five young female ducks with the age of 7 days and 60.55.07 g body weight allotted into 4 treatment groups and 1 control group (Ko) with 5 replication each. The treatment group fed with K1 (5.7), K2 (11.4), K3 (17.1), and K4 (22.8) mg Pb/kg body weight for 10 days, respectively. Young ducks showed clinical symptoms such as the color of feces were brown to black, green color of diarrhea, anemic and decreasing body weight. Histopathologically, erythrocyte showed that immature and abnormal in shape (like teardrops, dumb bell, and bottles). The result of variant analysis followed by linier regression shows that the higher the dosage of Pb in diet the higher the quantity of immature erythrocyte and abnormal erythrocyte shape found ($P0.01$).

Keywords: plumbum, erythrocytes, duckling.

PENDAHULUAN

Polusi lingkungan oleh berbagai unsur kimia merupakan sumber utama keracunan pada hewan ternak, terutama unggas air yang terlepas mencari makanan di tanah atau limbah-limbah yang terkontaminasi zat-zat kimia yang bersifat racun. Plumbum banyak digunakan sebagai bahan dasar dalam berbagai industri dan pembuatan obat-obatan, menghasilkan produk yang digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Limbahnya tersebar ke alam bebas dan menimbulkan polusi yang merugikan bagi kehidupan manusia dan hewan serta makhluk hidup lainnya (Anonimus, 1999).

Plumbum merupakan salah satu unsur kimia yang bersifat racun dan banyak

digunakan dalam pembuatan barang-barang seperti batu baterai, cat, plastik pembungkus kabel, kertas perak, pipa air, pestisida, bahan amunisi, dan lain-lain. Bila pemakaian barang-barang tersebut atau pembuangan bekasnya di sembarangan tempat dapat mengakibatkan polusi air, udara, tanah atau padang rumput, merupakan sumber utama keracunan pada unggas dan hewan ternak lain (Goyer dan Rhyne, 1989).

Itik merupakan jenis unggas air yang paling menyenangi limbah-limbah cair, selokan atau air tergenang untuk mencari makanan. Dengan demikian limbah cair yang banyak terdapat pada barang-barang bekas yang mengandung senyawa Pb merupakan sumber utama keracunan Pb pada unggas air.

Berdasarkan kenyataan di atas timbul hipotesis bahwa pemberian Pb ke dalam ransum anak itik dapat menyebabkan peningkatan jumlah eritrosit immatur baik dalam fase normoblas maupun retikulosit dan perubahan bentuk eritrosit (poikilositosis) (Wintrobe, 1981). Peningkatan dosis Pb dalam ransum anak itik tegal menyebabkan pula jumlah eritrosit immatur serta perubahan bentuk eritrosit semakin meningkat.

Penelitian ini bertujuan mengetahui gejala klinis dan jumlah eritrosit imaturus serta perubahan bentuk eritrosit akibat pemberian Pb, guna menegakkan diagnosis terhadap keracunan Pb pada anak itik tegal (*Anas javanica*) sedini mungkin.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 25 ekor anak itik tegal (*Anas javanica*) betina, berumur tujuh hari dan berat badan rata-rata $60,5 \pm 5,07$ g. Itik ditempatkan di dalam kandang yang terbuat dari keranjang plastik berukuran alas 60 cm x 30 cm dan tingginya 20 cm. Kandang diberikan kawat jaring berjarak 2 cm dari lantai kandang agar itik tidak memakan tinjanya dan kandang ditutupi dengan kawat jaring. Tempat makanan dan air minum terbuat dari kotak plastik.

Itik diberi makanan ayam broiler (511), produksi PT. Charoen Pokphan Animal Feedmeal, Medan, Indonesia. Plumbum yang digunakan adalah Pb asetat produksi B.D.H. Chemical Ltd. Poole England No.29021.

Alat yang digunakan antara lain objek glas, spuit syringe 1 ml. Zat warna yang dipakai adalah *Wrights-Eosin* produksi *Merck Darmstat* Jerman, No.1383. Dalam pemeriksaan mikroskopis digunakan anisol (minyak emersi) untuk memperjelas kelihatan sel darah merah.

Penelitian ini dirancang dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas lima perlakuan berturut-turut dengan pemberian 0,0; 5,7; 11,4; 17,1; dan 22,8 mg Pb/kg ransum dan masing-masing perlakuan. Sebelum dilakukan penelitian itik dipelihara selama enam hari dan diberikan ransum broiler broiler tanpa dicampurkan Pb. Pada umur tujuh hari diberikan ransum yang telah dicampurkan Pb asetat. Makanan dan air minum diberikan *ad libitum*. Pergantian makanan dan air minum dilakukan pada pagi dan sore hari.

Selama perlakuan diamati gejala klinis yang timbul dan setiap hari ditimbang berat badannya. Pengambilan darah dilakukan setelah 10 hari perlakuan, dengan menusuk pembuluh darah vena pada bagian bawah sayap. Kemudian dibuat preparat hapus darah tipis, setiap ekor itik disediakan lima preparat (sediaan).

Preparat diwarnai dengan zat warna *Wrights Eosin* yang dilarutkan dengan bufer (pH 6,4) dan perbandingan 1:1. Setelah tiga sampai lima menit preparat direndam dalam zat warna, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan kering pada udara terbuka.

Pemeriksaan mikroskop dilakukan dengan pembesaran 1000x dengan menggunakan minyak emersi. Setiap preparat diamati dengan menghitung jumlah eritrosit immatur serta bentuk abnormal eritrosit dalam 100 eritrosit. Kemudian dihitung rata-rata dan standar deviasi dari masing-masing perubahan tersebut. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan setiap perlakuan yang masing-masing mendapatkan ransum mengandung 5,7; 11,4; 17,1; dan 22,8 mg Pb/kg ransum, setiap ulangan pada masing-masing perlakuan menunjukkan tinja berwarna coklat kehitaman, sedangkan gejala klinis diare berwarna kehijau-hijauan, anemia, dan pertumbuhan terhambat (Tabel 1).

Tabel 1. Frekuensi gejala klinis pada anak itik yang diberikan Pb

Dosis Pb (mg)	Jumlah Itik	Diare Hijau	Anemia	Pertumbuhan Terhambat
0,0	5	0	0	0
5,7	5	0	0	3
11,4	5	2	2	4
17,1	5	3	3	4
22,8	5	5	4	5

Tabel 1 menunjukkan bahwa anak itik yang mendapatkan 5,7 mg Pb/kg ransum tidak memperlihatkan diare berwarna kehijau-hijauan dan anemia, tetapi mengalami pertumbuhan terhambat sebanyak tiga ekor masing-masing pada ulangan satu, dua, dan empat. Anak itik yang mendapatkan 22,8 mg Pb/kg ransum, pada kelima ulangan mengalami

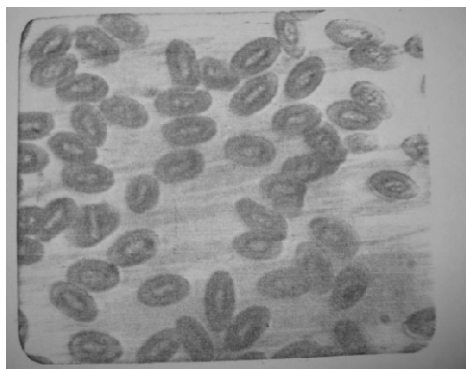
diare berwarna kehijau-hijauan dan penambahan berat badan terhambat.

Perubahan Histopatologis Eritrosit

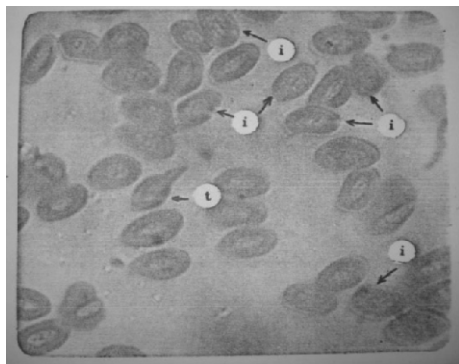
Perubahan histologi eritrosit yang diamati akibat pemberian Pb adalah eritrosit imaturus dan bentuk abnormal eritrosit. Perubahannya diamati dan dihitung dalam 100 butir eritrosit pada setiap area pandang preparat, kemudian dihitung rata-ratanya.

Eritrosit imaturus

Eritrosit imaturus merupakan sel darah merah yang tidak sempurna proses maturasinya sehingga masih dalam bentuk retikulosit yang kemudian masuk ke dalam sirkulasi. Jumlah eritrosit imaturus meningkat secara nyata sesuai dengan peningkatan dosis pemberian Pb di dalam ransum (Tabel 2). Eritrosit imaturus ini dapat terjadi akibat gangguan proses eritropoesis, sehingga terlihat masih dalam bentuk normoblas atau retikulosit. Bentuk eritrosit imaturus lebih besar dari yang matur, inti sel lebih besar dan cerah (kurang padat), sitoplasma lebih terang, pucat, dan tidak merata. Bentuk sel agak bulat, dinding sel tebal, dan tidak rata, inti sel lebih besar dari pada eritrosit yang matur (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Bentuk eritrosit normal pada anak itik tegal tanpa perlakuan (kontrol)

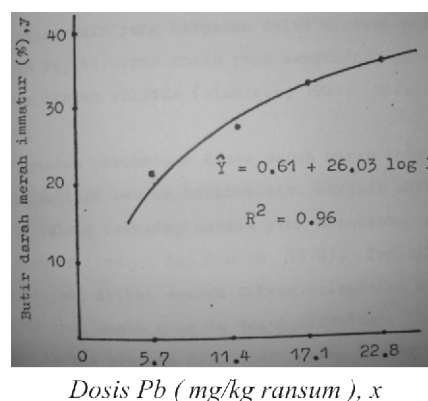


Gambar 2. Bentuk eritrosit tidak normal pada anak itik tegal yang diberikan Pb

Tabel 2. Jumlah eritrosit imaturus akibat pemberian Pb

Dosis Pb (mg)	Eritrosit imaturus/100 butir
0,0	4,2 ± 0,70 ^a
5,7	21,0 ± 2,44 ^b
11,4	26,6 ± 2,40 ^c
17,1	32,8 ± 2,86 ^d
22,8	36,6 ± 1,34 ^e

Tabel 2 menunjukkan bahwa peningkatan dosis pemberian Pb dalam ransum anak itik tegal (*Anas javanica*) menyebabkan peningkatan persentase eritrosit imaturus ($P < 0,01$). Selanjutnya hubungan antara persentase eritrosit imaturus dengan dosis Pb yang diberikan terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva eritrosit imaturus akibat keracunan Pb

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan dosis Pb dalam ransum anak itik tegal, menyebabkan persentase jumlah eritrosit imaturus semakin meningkat. Peningkatan tersebut sesuai dengan persamaan regresi linier $Y = 0,61 + 26,03 \log X$ ($R^2 = 0,96$), Y = persentase eritrosit imaturus dan X = besar dosis Pb dalam mg/kg ransum yang diberikan.

Pemberian Pb ke dalam ransum anak itik dapat menyebabkan terganggunya proses eritropoesis, dengan mempengaruhi pembentukan hemoglobin sehingga menimbulkan anemia oligokromik/normokromik yang ditandai oleh terbentuk bintang granul basofilik (*basophilic stippling*) di dalam eritrosit dan monositosis. Hal ini terjadi akibat Pb dapat menghambat aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam sintesis hem dan metabolisme Fe, terutama enzim yang mengandung gugus S-H dan ikatan disulfida (Wintrobe, 1981; Granick *et al.*, 1993; Hofstad *et al.*, 1996).

Peningkatan persentase eritrosit muda (imaturus) baik fase normoblas maupun retikulosit, terjadi akibat respon sumsum tulang terhadap anemia yang disebabkan oleh keracunan Pb (George dan Duncan, 1979; Goyer dan Rhyne, 1989). Peningkatan tersebut terjadi akibat sumsum tulang melepaskan sel-sel darah merah yang masih muda ke dalam sirkulasi. Hal ini disebabkan karena Pb dapat merusakkan barier sinusoid sumsum tulang, sehingga sel darah merah yang belum mengalami deformabilitas dapat melewati sinusoid dan masuk ke dalam sirkulasi (George dan Duncan, 1979; Robbin *et al.*, 2001).

Eritropoiesis dimulai dengan pembentukan eritroblas oleh stem sel dan kemudian mengalami proses diferensiasi, proliferasi, dan maturasi sampai menjadi sel darah merah dewasa (eritrosit). Plumbum menghambat sintesis hemoglobin, maka kadar hemoglobin darah menurun sehingga proses maturasi sel darah merah terganggu. Hal ini menyebabkan terjadi peningkatan butir darah imaturus di dalam sirkulasi. Hemoglobin merupakan pembawa oksigen (*oxygen carrier*), kapasitas hemoglobin dalam mengikat oksigen tergantung kepada kadar protein darah yaitu hem (Wintrobe, 1981; Goyer, 1995; Robbin *et al.*, 2001).

Enzim-enzim yang dihambat aktivitasnya oleh Pb terutama asam amino levulinat dehidrase (ALAD), asam amino levulinat sintetase (ALAS), hem sintetase atau feroshelatase. Asam amino levulinat dehidrase (ALAD) merupakan enzim yang diperlukan dalam konjugasi asam amino levulinat menjadi porfobilinogen, sedangkan feroshelatase merupakan enzim yang menginsersi Fe ke dalam protoporfirin IX. Akibat keracunan Pb, maka aktivitas enzim-enzim tersebut terganggu, sehingga terjadi hambatan sintesis hem. Hal ini menyebabkan akumulasi feritin di dalam sitoplasma sel darah merah membentuk granula-granula basofilik (*basophilic stippling*) (George dan Duncan, 1979; Doull *et al.*, 1996; Granick *et al.*, 1993; Klaassen, 2001).

Bentuk abnormal eritrosit

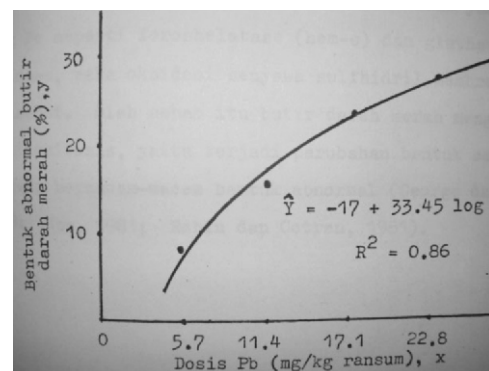
Bentuk abnormal eritrosit akibat keracunan Pb meningkat secara nyata sesuai dengan peningkatan dosis pemberian Pb (Tabel 3). Bentuk eritrosit abnormal tersebut terdiri dari bentuk lonceng, biji gandum, botol, bulan sabit, dan tetesan air (Gambar 1 dan 2), sedangkan bentuk normal eritrosit adalah berbentuk bujur telur (oval).

Tabel 3. Bentuk abnormal eritrosit akibat pemberian Pb

Dosis Pb (mg)	Bentuk Abnormal Eritrosit/100 butir
0,0	3,40 ± 0,54 ^a
5,7	8,60 ± 1,34 ^b
11,4	15,60 ± 1,94 ^c
17,1	24,20 ± 2,28 ^d
22,8	28,40 ± 3,64 ^e

^{a,b,c,d,e} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa peningkatan dosis Pb dalam ransum anak itik tegal (*Anas javanica*) menyebabkan peningkatan persentase bentuk abnormal eritrosit ($P < 0,01$).

Selanjutnya hubungan antara persentase bentuk abnormal eritrosit dengan dosis Pb yang diberikan (Gambar 4). Peningkatan dosis Pb dalam ransum anak itik tegal (*Anas javanica*) menyebabkan peningkatan persentase bentuk abnormal eritrosit. Peningkatan tersebut sesuai dengan persamaan regresi berikut ini, $Y = -17 + 33,45 \log X$ ($R = 0,86$), Y = Persentase bentuk abnormal eritrosit dan X = besar dosis Pb dalam mg/kg ransum yang diberikan.



Gambar 4. Kurva bentuk eritrosit abnormal akibat keracunan Pb

Bentuk abnormal eritrosit terjadi akibat hambatan kerja enzim-enzim yang mengatur konversi energi dan pertukaran ion K serta Na di dalam sel. Plumbum menghambat kerja enzim membran sel seperti K-ATPase dan Na-ATPase. Akibat hambatan kerja enzim-enzim tersebut maka pertukaran ion K dan Na pada sel darah merah terganggu, sehingga integritas membran sel menurun. Hal ini menyebabkan perubahan bentuk sel menjadi bermacam-macam bentuk (poikilositosis) dan umur sel darah merah meningkat. Perubahan bentuk tersebut akibat fragilitas dinding sel meninggi sehingga sel mudah pecah dan menyebabkan anemia hemolitika (George dan Duncan, 1979; Wintrobe, 1981; Anonimus, 1999).

Perubahan tahap awal akibat toksikasi Pb adalah retikulositosis, anisositosis, dan mikrositosis. Plumbum dapat menghambat aktivitas enzim yang mengandung Fe seperti feroselatase (hem-s) dan glutathion peroksidase, maka oksidasi senyawa sulfidril membran sel terhambat. Oleh sebab itu eritrosit mengalami poikilositosis, yaitu terjadi perubahan bentuk sel darah merah (eritrosit) menjadi bermacam-macam bentuk abnormal seperti bentuk tetesan air, botol, biji gandum, dan lonceng (George dan Duncan, 1979; Hsu, 1981; Goyer, 1989; Fleming *et al.*, 1998). Efek utama keracunan Pb terhadap sumsum tulang menyebabkan pelepasan eritrosit abnormal ke dalam aliran darah, kemudian sel tersebut mengalami hemolisis dan reduksi resistensi osmotik dan asidik serta masa hidupnya (*life-spans*) singkat (Goyer, 1998; Robbin *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Pemberian Pb di dalam ransum anak itik tegal (*Anas javanica*) dapat menyebabkan gangguan eritropoiesis ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit imaturus (retikulosit) dan bentuk abnormal eritrosit. Semakin tinggi dosis pemberian Pb semakin meningkat jumlah eritrosit imaturus bentuk abnormal eritrosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Dr. Ahmad Damhoeri yang telah banyak memberikan arahan dalam desain dan analisis hasil penelitian ini. Selain itu juga terima kasih kepada laboran di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1999. **Toxicological Profile for Lead**. Agency for toxic substances and Diseases Registry (ATSDR). Washington, D.C., U.S. Department Health Services.
- Dull, J., C.D. Klaassen, and M.O. Amdur. 1996. **Veterinary Clinical Pathology**. 6th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Fleming, D.E.B., D.R. Chettle, and J.G. Wetmur. 1998. Effect of the delta-aminolevulinate dehydratase polymorphism on the accumulation of lead in bone and blood in lead workers. **Environ. Res.** 77:49-61.
- George, J.W. and J.R.Duncan. 1989. The haematology of lead poisoning in man and animals. **Vet. Clin. Pathol.** XI:123-130.
- Goyer, R. A. and B.C. Rhyne. 1989. Pathological effects of lead. **Int. Rev. Exp. Pathol.** 12: 1-77.
- Goyer, R. A. 1995. Lead toxicity: Current concerns. **Environ. Health Perspect.** 100: 177-187.
- Goyer, R.A. 1998. Nutrition and metal toxicity. **Am. J. Clin. Nutr.** 61: 646-650.
- Granick, J.L., S. Sassa, and R.D. Granick. 1993. Studies in lead poisoning: Correlation between the ratio activated to inactivated ALAD of whole blood and blood lead level. **Biochem. Med.** 18:249-259.
- Hofstad, M.S., H.J. Barnes, B.W. Calnek, W.M. Reid, and H.W. Yoder. 1996. **Diseases of Poultry**. 8th ed. The Iowa State University, USA.
- Hsu, J.M. 1981. Lead toxicity as related to glutathione metabolism. **J. Nutr.** 26-33.
- Klaassen, C.D. 1980. Heavy metals and heavy metals antagonist. P.1616-1620. In **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. A.G. Gilman, L.S. Goodman, and A. Gilman (eds). 6th ed. Macmillan Publishing Co., Inc., New York.
- Klaassen, C. D. 2001. **Toxicology**. 6th. Ed. McGraw-Hill, New York.
- Robin, S.L., R.S. Cotran, and V. Kumar. 2001. **Pathology Basis of Diseases**. 2nd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Wintrobe, M.W. 1981. **Clinical Haematology**. 6th Ed. Lea and Febinger, Philadelphia.