

## Studi Histopatologi dan Kadar Timbal Pada Otak Sapi Bali Di Tempat Pembuangan Akhir Suwung Denpasar

(HISTOPATHOLOGIC STUDY AND LEVELS OF HEAVY METALS PB BRAIN OF THE BALI CATTLE MAINTAINED IN SUWUNG DENPASAR LANDFILL)

Erena Hajar Kartika<sup>1</sup> I Ketut Berata<sup>2</sup> I Made Kardena<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail: [erenahajarkartika@gmail.com](mailto:erenahajarkartika@gmail.com)

### ABSTRAK

Tempat Pembuangan Akhir Suwung sebagai lokasi pemeliharaan ternak dapat menimbulkan risiko kontaminasi logam berat, salah satunya yaitu timbal (Pb). Salah satu jaringan yang rentan terhadap logam berat adalah otak. Meskipun jaringan saraf atau otak dilindungi oleh struktur pembuluh khusus (*brain blood barrier*) namun Pb mampu melintasi *brain blood barrier*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan logam berat Pb pada otak sapi bali dan gambaran histopatologi otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar. Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif dengan menggunakan rancangan *cross sectional study*. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 otak sapi yang berasal dari TPA Suwung Denpasar. Pengambilan sampel jaringan otak sapi bali dilakukan di RPH Dharmasaba. Pengukuran kadar logam berat Pb dilakukan dengan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS). Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kadar logam berat Pb yakni : 0,5582 ppm, 1,1860 ppm, 1,1864 ppm, 1,245 ppm, 1,246 ppm. Perubahan histopatologi yang ditemukan bervariasi diantaranya degenerasi sel neuron, demielinasi dan peradangan (vaskulitis). Dapat disimpulkan bahwa ada cemaran logam berat Pb dan perubahan histopatologi otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar.

Kata kunci: histopatologi, otak, sapi bali, timbal (Pb), Tempat Pembuangan Akhir (TPA).

### ABSTRACT

Landfill of Suwung as livestock maintaining place can cause the risk of heavy metal contamination, like lead (Pb). One of the tissue that weak against heavy metal is brain. Even if central nervous system or brain is protected by brain blood barrier but lead (Pb) can bypass brain blood barrier. The purpose of this research was to know the content of heavy metal lead (Pb) on bali cattle's brain and histopathological changes of bali cattle's brain that is maintained in landfill Suwung Denpasar. This research is observational descriptive research using cross sectional method. The sample's amount that is used on this research is 5. Brain tissue samples are in Dharmasaba slaughterhouse. The research result shows the variance of the heavy metal lead (Pb) amount, which are : 0,5582 ppm, 1,1860 ppm, 1,1864 ppm, 1,245 ppm, 1,246 ppm. Also histopathological changes variates enough like neuron cell degeneration, demyelination and inflammation (vaskulitis). It can be concluded that the variance of the heavy metal lead (Pb) amount and histopathological changes of bali cattles brain that is maintained in landfill Suwung Denpasar.

Keywords: histopathology, brain, bali cattle, lead (Pb), landfill.

## PENDAHULUAN

Sapi bali merupakan plasma nutfah untuk menghasilkan bibit sapi yang bermutu karena keunggulannya yang tidak dimiliki oleh sapi jenis lainnya di dunia. Keunggulan sapi bali dibandingkan sapi lain yaitu memiliki daya adaptasi sangat tinggi terhadap lingkungan yang kurang baik, seperti: dapat memanfaatkan pakan dengan kualitas rendah atau kurang baik, dapat hidup pada kondisi yang kurang menguntungkan (lahan kering) sehingga dikenal sebagai sapi perintis (PKSB Unud, 2012) dan juga mampu beradaptasi hidup di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) dengan sampah sebagai sumber pakan.

Sampah adalah semua zat atau benda yang tidak dapat dipakai lagi, baik yang berasal dari rumah maupun dari sisa-sisa produksi. Sampah yang mengandung logam berat timbal (Pb) diantaranya adalah, baterai, amunisi, produk logam (logam lembaran, solder, dan pipa), perlengkapan medis (penangkal radiasi dan alat bedah), cat, keramik, peralatan kegiatan ilmiah, papan sirkuit (CB) untuk computer. Disamping itu dekomposisi anaerobik sampah menghasilkan cairan *leachate* dan gas. *Leachate* kemungkinan besar mengandung bahan-bahan beracun bagi kehidupan. *Leachate* tergantung dari kualitas sampah, dalam *leachate* dapat mengandung mikroba patogen dan logam berat berbahaya (Wardhayani *et al.*, 2006).

Berdasarkan penelitian Wardhayani *et al.* (2006), TPA sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai lokasi pemeliharaan ternak, karena sampah dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak. Ternak yang dipelihara di area TPA sampah umumnya merupakan ternak kambing dan sapi. Namun cara pemeliharaan seperti ini dapat menimbulkan permasalahan keamanan pangan dari sumber daging. Banyaknya sapi yang digembalakan di TPA berisiko terkontaminasi logam berat.

Hasil penelitian Berata *et al.* (2015) melaporkan adanya cemaran logam berat Pb dalam darah sapi bali yang dipelihara di TPA. Hal ini menunjukkan bahwa logam berat Pb telah terdistribusi di dalam jaringan tubuh sapi yang terpapar logam berat Pb. Salah satu jaringan yang rentan terhadap logam berat adalah otak. Meskipun jaringan saraf atau otak dilindungi oleh struktur pembuluh khusus (*brain blood barrier*) yang menyebabkan toksikan sulit masuk, namun menurut Wang *et al.* (2011), Pb mampu melintasi *brain blood barrier*. Penelitian dengan pelacak radioaktif pada tikus membuktikan bahwa Pb sampai ke otak dalam bentuk ion bebas  $PbOH^-$  melalui difusi pasif (Yoke, 2006).

Sapi bali yang dipelihara di TPA sangat rawan tercemar oleh logam berat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap gangguan/kerusakan organ salah satunya otak.

Laporan ilmiah mengenai gambaran histopatologi otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar belum ditemukan.

### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan metode *cross sectional study*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 organ otak sapi bali (*cerebrum*) yang berasal dari TPA Suwung Denpasar dan dipotong di RPH Dharmasaba. Organ otak diambil kemudian dibagi menjadi 2 bagian yaitu 1 bagian seberat 15 g untuk pengukuran kadar logam berat Pb, sedangkan 1 bagian lainnya untuk diproses pembuatan preparat histopatologi.

Pengukuran kadar logam berat Pb pada otak disesuaikan dengan metode pengukuran logam berat Pb menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrofotometri (AAS)* Irasanti *et al.* (2012). Pembacaan dilakukan dengan alat spektrofotometer serapan atom *graphite furnace* pada panjang gelombang 288,3 nm untuk logam Pb.

Pembuatan preparat histopatologi jaringan otak menggunakan metode Kiernan (2010). Sampel dimasukkan ke dalam *Neutral Buffer Formalin 10%*, selanjutnya dipotong dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun dalam *tissue cassette*, kemudian diproses di dalam *tissue processor* untuk dibuat preparat. Jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut: ethanol 70%(2 jam), ethanol 80%(2 jam), ethanol 90%(2 jam), ethanol absolute (2 jam), xylol (2 jam), paraffin cair (2 jam). Preparat diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Pengamatan sediaan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya binokuler masing-masing dengan pembesaran 400x.

Hasil pengukuran kadar logam berat Pb dalam otak dianalisis dengan analisis deskriptif kuantitatif dan pemeriksaan histopatologi otak ditabulasi dan selanjutnya dianalisis dengan analisis deskriptif kualitatif.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pemeriksaan kadar logam berat dan perubahan histopatologi jaringan otak dari 5 ekor sapi sampel, diperoleh hasil yang cukup bervariasi. Kadar logam berat Pb serta perubahan histopatologi masing-masing sapi sampel, disajikan pada Tabel 1.

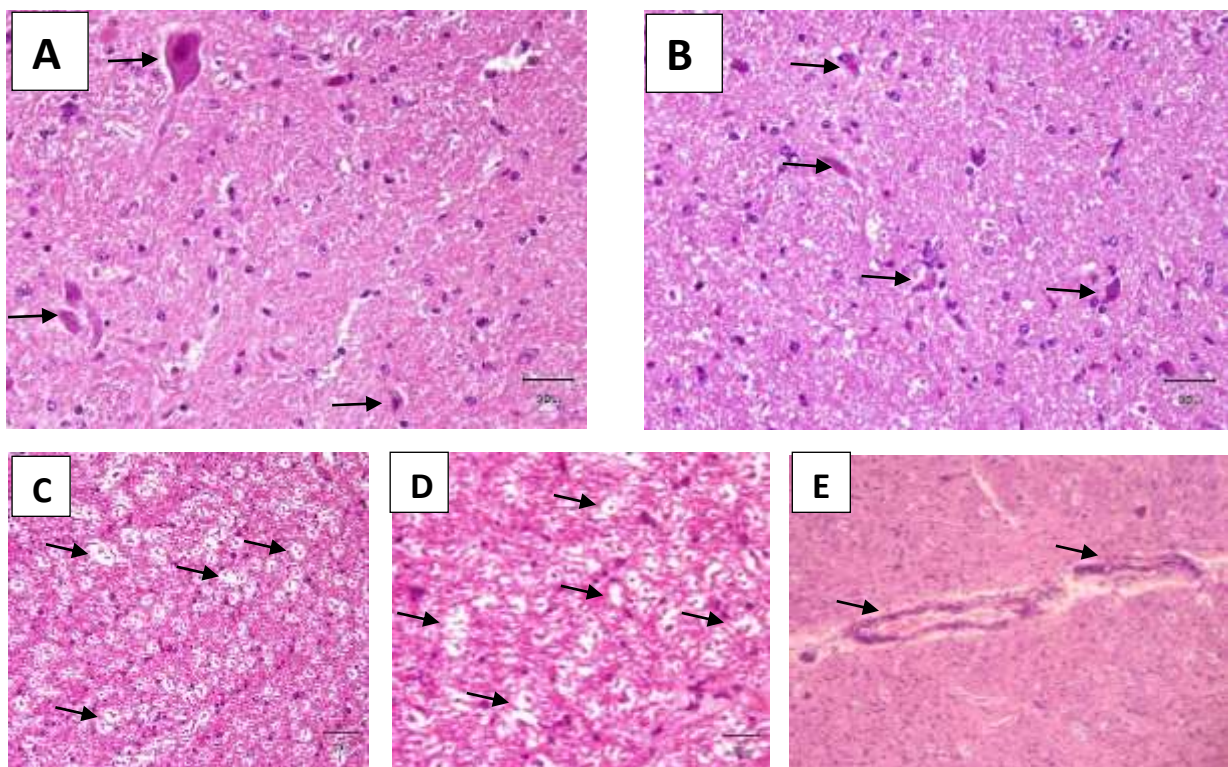
**Tabel 1.** Hasil pemeriksaan kadar logam berat timbal (Pb) dan perubahan histopatologi otak sapi bali

No. Sapi	Kadar Pb (ppm)	Degenerasi neuron	Demyelinasi neuron	Peradangan
1.	1,245	+	-	-
2.	1,246	+	-	-
3.	1,2864	-	+	-
4.	1,1860	-	+	-
5.	0,5582	-	-	+

Keterangan : + = ada lesi; - = tidak ada lesi

Pengukuran kadar logam berat timbal (Pb) menunjukkan hasil yang bervariasi yakni : 0,5582 ppm, 1,1860 ppm, 1,1864 ppm, 1,245 ppm, 1,246 ppm.

Perubahan histopatologi otak sapi yang terpapar logam berat Pb disajikan pada Gambar 1 di bawah ini:



**Gambar 1.** Perubahan histopatologi otak sapi bali (*cerebrum*) terpapar logam berat Pb, HE 400x. (A) Perubahan histopatologi otak sapi 1 berupa degenerasi neuron, (B) Perubahan histopatologi otak sapi 2 berupa degenerasi neuron, (C) Perubahan histopatologi otak sapi 3 berupa demyelinasi sel-sel neuron, (D) Perubahan histopatologi otak sapi 4 berupa demyelinasi sel-sel neuron, (E) Perubahan histopatologi otak sapi 5 berupa peradangan pembuluh darah (vaskulitis) (HE, 100x).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat kandungan logam berat Pb pada otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar dengan kadar yang bervariasi yakni : 0,5582 ppm, 1,1860 ppm, 1,1864 ppm, 1,245 ppm, 1,246 ppm. Logam berat Pb merupakan logam non esensial dan toksik meskipun dalam jumlah yang sedikit (Okoye dan Ugwu, 2010).

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan adanya degenerasi neuron, demyelinasi sel-sel neuron, vaskulitis (Gambar 1). Hasil pemeriksaan histopatologi otak menunjukkan bahwa pada sapi 1 dan 2 mengalami cemaran logam berat Pb 1,245 dan 1,246 ppm dengan lesi degenerasi neuron. Degenerasi neuron merupakan suatu perubahan keadaan secara fisik dan kimia dalam sel neuron yang menurunkan efisiensinya. Secara mikroskopis neuron yang mengalami degenerasi tampak membengkak dan berwarna lebih pucat daripada neuron yang normal (Neal dan Guilarte, 2010).

Perubahan histopatologi pada otak sapi bali nomor 3 dan 4 menunjukkan terjadinya demyelinasi neuron. Demyelinasi neuron adalah gejala robek atau hilangnya selubung myelin pada neuron. Logam berat Pb memiliki kemampuan untuk mensubstitusi seng (Zn) yang terlibat dalam regulasi transkripsi genetik melalui *zinc-finger protein* atau *zinc-binding site* pada reseptor. Gangguan dalam sintesis gen pada masa perkembangan otak awal, menyebabkan bagian *gray matter* otak menciut dan pembentukan myelin tidak sempurna (Prashanti *et al.*, 2010).

Pada sampel otak sapi bali nomor 5 menunjukkan terjadinya vaskulitis. Vaskulitis adalah peradangan yang terjadi pada pembuluh darah. Secara mikroskopik digambarkan sebagai infiltrasi sel inflamasi pada dinding pembuluh darah. Hariyanto (2011) menyatakan bahwa sekitar 50% kasus vaskulitis tidak diketahui penyebabnya (idiopatik), sementara penyebab yang diketahui di antaranya adalah infeksi (15-20%), inflamasi (15-20%), obat-obatan (10-15%) (Gonzalez *et al.* 2003). Secara histopatologis vaskulitis tampak kerusakan endotel atau struktur dinding pembuluh darah dan infiltrasi sel-sel inflamatorik pada dinding pembuluh darah, umumnya neutrofil, limfosit dan *nuclear dust*. Patogenesis kompleks imun untuk vaskulitis mengikuti tipe reaksi klasik Arthus. Tubuh host yang memiliki kelebihan antigen, kompleks antigen-antibodi akan terlarut dan bersirkulasi, kemudian berkombinasi dengan amina vasoaktif yang diproduksi oleh trombosit dan *IgE-stimulated basophil*, membentuk celah antar-sel endotel sehingga kompleks imun tersebut terdeposit. Deposit kompleks imun mengaktifkan sistem komplemen dengan c3a dan c5a anafilaktoksin,

menyebabkan infiltrasi neutrofil *polimorfonuklear* (PMN) dan degranulasi sel mast. Sel PMN mengeluarkan kalase dan elastase, yang merusak komponen pembuluh darah. Mekanisme imun sel mediator (sel mast) dan sitotoksitas seluler memegang peranan langsung pada patogenesis vaskulitis, meskipun belum jelas diketahui dan memerlukan penelitian lebih lanjut (Hariyanto, 2011).

Akumulasi bahan toksik akan selalu bertambah sejalan dengan bertambahnya waktu. Tahvonen (1996) mengatakan bahwa logam berat mengalami bioakumulasi dan terus meningkat pada organ dan jaringan hewan, sedangkan toksisitas tergantung pada dosis dan lama paparan. Toksisitas logam berat pada hewan komersial biasanya berpengaruh terhadap produksi, juga menimbulkan residu logam berat dalam tubuh ternak. Sapi yang makan sampah dan tercemar bahan toksik Pb, dapat terkumulasi dalam jaringan tubuhnya. Jika sapi tersebut kemudian dimanfaatkan sebagai sumber pangan, maka manusia yang mengkonsumsi bahan pangan tersebut kemungkinan juga akan mengalami cemaran Pb dalam tubuhnya, sehingga akan menimbulkan gangguan kesehatan (Irasanti *et al.*, 2012).

Jalur masuknya timbal ke dalam tubuh dapat melalui saluran pernapasan dan saluran pencernaan, kemudian didistribusikan ke dalam darah, dan terikat pada sel darah. Sebagian Pb disimpan dalam jaringan lunak dan tulang, sebagian dieksresikan lewat kulit, ginjal dan usus besar. Logam berat Pb bersirkulasi dalam darah setelah diabsorpsi dari usus, terutama berhubungan dengan sel darah merah kemudian didepositkan dalam tulang dan sebagian kecil tersimpan dalam otak. Logam berat Pb dikenal sebagai neurotoksikan kuat. Meskipun jaringan saraf atau otak dilindungi oleh struktur pembuluh khusus (*brain blood barrier*) yang menyebabkan toksikan sulit masuk, namun menurut Wang *et al* (2011), logam berat Pb mampu menembus *brain blood barrier*. Penelitian dengan pelacak radioaktif pada tikus membuktikan bahwa Pb sampai ke otak dalam bentuk ion bebas PbOH<sup>-</sup>. Molekul PbOH<sup>-</sup> mampu melintasi *blood brain barrier* (BBB) melalui difusi pasif (Yoke, 2006).

Agustina (2010) mengatakan bahwa kelainan fungsi otak terjadi karena timbal secara kompetitif menggantikan mineral-mineral utama seperti seng, tembaga dan besi dalam mengatur fungsi sistem saraf pusat. Akumulasi Pb di jaringan saraf menyebabkan munculnya gangguan pada sistem saraf baik struktural maupun fungsional. Logam berat Pb diketahui mempengaruhi berbagai bagian otak yang berbeda yaitu *korteks cerebral*, *cerebellum* dan *hippocampus*. Struktur pembuluh darah di otak kemungkinan juga dirusak yang dapat menyebabkan terjadinya perdarahan dan pembengkakan otak (Block dan Garciduenas, 2009).

Neuron dalam bekerjanya saling berinteraksi satu sama lain. Impuls yang terjadi pada satu neuron akan dihantarkan ke neuron berikutnya dengan dibantu oleh senyawa elektrokimia yaitu *neurotransmitter*. Penghambatan terhadap pembebasan neurotransmitter dapat menghambat kerja sistem saraf. Pembebasan *neurotransmitter* pada akhiran ujung saraf sangat dipengaruhi oleh keberadaan ion Ca. Ion Pb dapat menghambat mekanisme pembebasan *neurotransmitter* pada bagian akhir saraf, melalui mekanisme substitusi ion Ca dengan ion Pb atau dengan menghambat kanal ion  $Ca^{2+}$  peka voltase (*voltage-gated calcium Ca<sup>2+</sup> channels/VGCCs*). Ion Ca terhambat masuk atau Pb menghambat masuknya ion Ca melalui sinaps *N methyl D aspartate receptor* (NMDAR), sehingga kerja penghantaran impuls antar neuron terganggu (Neal dan Guilarte, 2010).

Senyawa Pb organik terutama bersifat neurotoksik. Bila kadar Pb darah di atas 80 mg/dl (800 ppm) dapat terjadi ensefalopati, keadaan ini disertai oleh munculnya ataksia, koma dan kejang-kejang. Kondisi ini mungkin disebabkan rusaknya fungsi neurotransmitter dan ion kalsium. Senyawa tetraetil Pb dan tetrametil Pb yang merupakan senyawa Pb organik dapat menyebabkan ensefalopati melalui penyerapan kulit ataupun penghirupan (Cecil *et al.*, 2008).

Perubahan histopatologi otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar, tampak bervariasi yang kemungkinan ada faktor lain selain dari akibat cemaran logam berat Pb. Untuk mengetahui variabel-variabel yang berpengaruh pada otak sapi TPA Suwung Denpasar, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

### SIMPULAN

Otak sapi bali yang dipelihara di TPA Suwung Denpasar tercemar logam berat Pb, dengan perubahan histopatologi berupa degenerasi neuron, demyelinasi sel-sel neuron dan vaskulitis.

### SARAN

Perlu penelitian eksperimen tentang mekanisme paparan logam berat Pb pada otak sapi yang tanpa dipengaruhi faktor/variabel yang lain. Bagi instansi yang terkait, perlu adanya evaluasi terhadap peternakan sapi di TPA Suwung Denpasar terutama terkait adanya cemaran logam berat Pb.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Pemerintah Daerah Kota Denpasar, Rumah Potong Hewan Dharmasaba, Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Kepala Laboratorium Analitik Universitas Udayana, atas bantuan fasilitas untuk penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agustina T. 2010. Kontaminasi Logam Berat pada Makanan dan Dampaknya pada Kesehatan. *Teknubuga* 2(2):53-65.
- Berata IK, Susari NNW, Kardena IM. 2015. *Mendeteksi Logam Berat Pb dan Cd Pada Darah Sapi yang Dipelihara di TPA Suwung Denpasar*. Prosiding LPPM.
- Block ML, Garciduenas LC. 2009. Air Pollution: Mechanisms of Neuroinflammation & CNS Disease. *Trends Neurosci* 32(9): 506 -516.
- Cecil KM, Brubaker CJ, Adler CM, Dietrich KN. 2008. Decreased Brain Volume in Adults with Childhood Lead Exposure. *PLoS Med.* 5(5): 104-112.
- Gonzalez GMA, Cavaliere LF, Grantkels JM. 2003. Cutaneous vasculitis: diagnosis approach. *Clin Ex Rheumatol.* 21(6):85-92.
- Hariyanto A. 2011. Kriteria dianostik vaskulitis. *CDK188.* 38(7):495-496.
- Irasanti, M, Santi DN, Dharma S. 2012. Analisis Kadar Timbal (Pb) pada Hati Sapi dan Peternakan Sapi Potong di Kabupaten Deliserdang Tahun 2012. *Jurnal Lingkungan dan Kesehatan Kerja* 4(1): 1-6.
- Kiernan JA. 2010. *General Oversight Stains for Histology and Histopatology, Education Guide: Special Stains and H&E.* 2<sup>nd</sup> Edition. California: North America, Carpinteria.
- Neal AP, Guilarte TR. 2010. Molecular Neurobiology of Lead (Pb<sup>2+</sup>): Effects on Synaptic Function. *Mol Neurobiol.* 4(2):151-160.
- Okoye COB, Ugwu JN. 2010. Impact of environmental cadmium, lead, copper and zinc on quality of goat meat in Nigeria. *Chem. Soc. Ethiop.* 24(1): 134-139.
- Prasanthi RP, Bhuvanewari JCD, Chand Basha D, Reddy N, Rajarami RG. 2010. Calcium and zinc supplementation protects lead (Pb)-induced perturbations in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in developing mouse brain. *International Journal of Developmental Neuroscience.* 28(2): 161-167.
- Pusat Kajian Sapi Bali Universitas Udayana [PKSB Unud]. 2012. *Sapi Bali Sumberdaya Genetik Asli Indonesia.* Denpasar: Udayana University Press.
- Tahvonen R. 1996. Lead and cadmium in berries and vegetable on the finnish market 1987-1989. *Fresenius J Anal Chem.* 340(1): 242-240.
- Wang Q, Luo W, Zheng W, Liu Y, Xu H, Zheng G, Dai Z, Zhang W, Chen Y, Chen J. 2011. Iron supplement prevents lead-induced disruption of the blood-brain barrier during rat development. *Pubmed.* 1(1):33-41.
- Wardhayani S, Setiani O, Yusniar HD. 2006. Analisis Risiko Pencemaran Bahan Toksik Timbal (Pb) pada Sapi Potong di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang Semarang. *Jurnal Kesehatan Lingkungan.* 5(1): 11-16.
- Yoke RA. 2006. Blood Brain Barrier Flux of Aluminium, Manganese, Iron and Other Metals Suspected to Contribute to Metal Induced Neurodegeneration. *J Alheimers Dis.* 10(1):223-253.