

Pengaruh Induksi Plumbum Asetat Terhadap Memori Spasial Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

Teguh Dwi Wicaksono¹, Anggraeini Janar Wulan², Ratna Dewi Puspita Sari³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Kendaraan menyumbang 70-80% polusi udara, salah satu komponen polusi tersebut adalah plumbum. Plumbum merupakan logam bersifat neurotoksik yang dapat menurunkan memori spasial. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap dengan sampel 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berusia 2-3 bulan terbagi ke dalam 4 kelompok yang diinduksi dengan plumbum asetat selama 7 hari, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 dosis 50 mg/kg (P1), kelompok perlakuan 2 dosis 100 mg/kg (P2) dan kelompok perlakuan 3 dosis 200 mg/kg (P3). Memori spasial dinilai menggunakan alat *Morris-water maze* metode *probe test* dengan latihan 4 kali/hari selama 2 hari. Data dianalisis menggunakan metode *One-way Anova*. Hasil rerata nilai memori spasial pada K: 35.28%, P1: 25.55%, P2: 25.28%, P3: 21.39% didapatkan pengaruh yang bermakna dengan nilai $p=0.037$. Induksi plumbum asetat selama 7 hari dapat menurunkan memori spasial dan *intake* sukrosa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Kata kunci: Memori Spasial, Plumbum, *Watermaze*

The Effect of Lead Acetate Induced to Spatial Memory on Male Rats (*Rattus norvegicus*) Strain *Sprague dawley*

Abstract

Vehicle contributes for 70-80% of air pollution, one of the components such pollution is plumbum. Plumbum is a neurotoxic metal that can lower spatial memory. This is a completely randomized design method used 24 male rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* aged 2-3 months were divided into 4 groups induced by lead acetate for 7 days, the control group (K), group 1 dose of 50 mg/kg (P1), group 2 doses of 100 mg/kg (P2) and the treatment group 3 doses of 200 mg/kg (P3). Spatial memory assessed using a *Morris water maze* test probe method with exercise 4 times/day for 2 days and. Data were analyzed using *One-way ANOVA*. The results of the average number of spatial memory in K: 35.28%, P1: 25.55%, P2: 25.28%, P3: 21.39% obtained significant influence with $p = 0.037$. Induction of plumbum acetate for 7 days can reduce spatial memory of white rats (*Rattus norvegicus*) male *Sprague dawley*.

Keywords: Lead, Spatial Memory, *Watermaze*

Korespondensi: Teguh Dwi Wicaksono, alamat Perumahan kampus resident hijau blok D8, Kel. Kampung baru, Kec. Rajabasa, Bandarlampung, HP 08127292048, e-mail teguhwicaksono118@gmail.com

Pendahuluan

Jumlah penduduk di Indonesia pada tahun 2010 tercatat sebanyak 238 juta jiwa. Setiap tahunnya jumlah penduduk Indonesia meningkat, hal ini berbanding lurus dengan peningkatan jumlah kendaraan bermotor.¹ Dimana, sampai tahun 2013 jumlah kendaraan bermotor di Indonesia sebesar 105 juta unit.² Peningkatan jumlah kendaraan bermotor ini, tentunya akan menurunkan kualitas lingkungan yang disebabkan oleh meningkatnya polusi udara.³ Hasil dari berbagai observasi menyebutkan bahwa kontribusi polusi udara dari kendaraan bermotor mencapai 70-80% dari total pencemaran.⁴

Perlu disadari oleh masyarakat bahwa 89% karbon monoksida (CO), 100% plumbum (Pb), 73% hidrokarbon (HC), 61% oksida nitrogen (NOx), 53% karbon dioksida (CO₂) dan 1% asap di udara dihasilkan oleh kendaraan bermotor bensin (*spark ignition engine*) dari keseluruhan gas buangan kendaraan bermotor. Diantara sumber polusi yang terdapat pada gas buangan kendaraan bermotor tersebut, terdapat satu logam berat berbahaya yaitu plumbum (Pb). Plumbum merupakan salah satu logam berat yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan jika terhirup ke dalam sistem pernapasan. Plumbum banyak dihasilkan dari kendaraan bermotor bensin, kurang lebih 25-50% Pb tinggal di udara. Dengan demikian, semakin banyak kendaraan

yang digunakan, maka akan semakin banyak juga Pb yang tertinggal di udara.⁵

Tingginya kadar Pb pada pencemaran udara oleh kendaraan bermotor ini, dapat mengakibatkan terhirupnya logam berat ini ke dalam saluran pernapasan. Plumbum akan masuk ke dalam tubuh manusia bersama udara yang terhirup melalui saluran pernapasan dan saluran pencernaan, sedangkan absorpsi melalui kulit sangat kecil sehingga dapat diabaikan. Rerata 10-30% Pb yang terinhalasi diabsorpsi oleh paru-paru dan sekitar 5-10% dari yang tertelan diabsorpsi melalui saluran cerna, sedangkan sebanyak 30-40% Pb yang diabsorpsi melalui saluran pernapasan akan masuk ke aliran darah, masuknya Pb ke aliran darah tergantung pada ukuran partikel, daya larut, volume pernapasan dan variasi faal antar individu.⁶

Di dalam tubuh, Pb dapat menyebabkan stres oksidatif. Salah satu organ yang paling peka terhadap stres oksidatif ialah hipokampus.^{7,8} Oksidan yang dicetuskan oleh Pb maupun efek langsung terhadap membran sel dapat memicu terjadinya cedera sel yang dapat berlanjut menjadi kematian sel-sel. Pb dapat menginduksi peroksidasi lipid sel neuron di semua bagian otak. Jika peroksidasi lipid ini berlanjut maka kematian sel pun dapat terjadi. Paparan Pb ini dapat menyebabkan kematian sel-sel di hipokampus dan mengakibatkan gangguan pada memori spasial.⁹⁻¹²

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, penulis berminat untuk melakukan penelitian tentang pengaruh induksi plumbum asetat dalam 7 hari terhadap memori spasial pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tujuan penelitian ini adalah Untuk mengetahui pengaruh Plumbum asetat terhadap memori spasial dengan *water morris maze test* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Metode

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan pendekatan *post test only control group design*. Dengan rancangan ini, peneliti dapat membandingkan hasil perlakuan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober tahun 2016 di

animal house Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober tahun 2016 di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Sampel yang dipakai pada penelitian ini adalah tikus, tikus adalah hewan terbaik sebagai hewan coba pada *morris water maze*, karena hewan ini adalah hewan yang sama digunakan morris pada penelitian memori spasial.¹³ Sampel penelitian sebanyak 24 ekor tikus terbagi ke dalam 4 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri 6 ekor tikus sampai akhir penelitian.

Penelitian ini terbagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K): kelompok tikus yang tidak diinduksi plumbum asetat, perlakuan satu (P1): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 50mg/kgbb per hari, perlakuan dua (P2): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 100mg/kgbb per hari, perlakuan tiga (P3): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 200mg/kgbb per hari.

Definisi operasional variabel penelitian ini yaitu: 1. Plumbum asetat adalah Bahan kimia beracun yang diberikan pada tikus jantan secara intraperitoneal. Alat ukur menggunakan spuit 1 milimeter. Hasil ukur yaitu K = 0 mg/kg, P1 = 50 mg/kg, P2 = 100 mg/kg, P2 = 200 mg/kg. Skala variabel adalah kategorik. 2. Memori Spasial adalah kemampuan mengingat ruang bidang, mengenali bentuk, jarak, dan luas serta posisi yang dinilai dengan menggunakan alat *morris maze radial*.¹⁴ Alat ukur menggunakan stopwatch. Hasil ukur yaitu persentase waktu yang dihabiskan tikus berenang pada kuadran target terhadap keseluruhan waktu yang ditempuh tikus melewati seluruh kuadran.¹⁴ Skala variabel adalah numerik.

Pengolahan dan analisis data dengan menggunakan *software* computer, dilakukan uji bivariat menggunakan uji statistik *one-way ANOVA*.

Hasil

Hasil rerata penilaian memori spasial dengan metode *Morris water maze* sebagai berikut:

Tabel. 1 Hasil Rerata Penilaian Memori Spasial

Kelompok	Rerata Memori Spasial (%)	SD
K	35.28	8.65
P1	25.55	10.68
P2	25.28	4.64
P3	21.39	5.81

Berdasarkan uji normalitas data yang dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai p sebagai berikut

Tabel 2. Uji *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Nilai P
K	0.501
P1	0.937
P2	0.525
P3	0.488

Data terdistribusi normal jika nilai $p > 0.05$, berdasarkan tabel 2 tiap kelompok memiliki data yang terdistribusi normal. dilakukan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene's*. Setelah dilakukan uji homogenitas data dengan menggunakan uji *Levene's* didapatkan nilai $p = 0.175$, data homogeny bila $p > 0.05$, sehingga data pada penelitian ini memiliki varian yang homogen.

Pada hasil bivariat penelitian menggunakan uji *one-way ANOVA*, didapatkan nilai $p = 0.037$, dimana terdapat pengaruh bermakna bila $p < 0.05$, setelah dilakukan uji *one-way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji *post hoc Bonferroni* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok.

Tabel 3. Uji *Post hoc Bonferroni*

Kelompok	Kelompok	Nilai p
K	P1	0.044*
	P2	0.038*
	P3	0.006*
P1	K	0.044*
	P2	0.951
	P3	0.367
P2	K	0.006*
	P1	0.367
	P3	0.399
P3	P1	0.006*
	P2	0.367
	P3	0.399

Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna memori spasial antara kelompok kontrol dengan seluruh kelompok perlakuan, yaitu K dengan

P1, K dengan P2, dan K dengan P3 akan tetapi, tidak terdapat pengaruh besarnya dosis plumbum asetat yang diberikan terhadap memori spasial antara ketiga kelompok perlakuan satu dengan yang lain.

Pembahasan

Pada analisa statistik variabel memori spasial yang telah dilakukan didapatkan nilai $p = 0.037$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh induksi plumbum asetat selama tujuh hari terhadap memori spasial tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Penelitian ini merupakan informasi baru karena sedikitnya penelitian yang menilai pengaruh plumbum terhadap memori spasial dalam periode akut.

Penelitian yang menilai pengaruh plumbum terhadap memori spasial banyak dilakukan dalam periode kronik. Dalam periode kronik, plumbum asetat dapat menurunkan memori spasial. Induksi plumbum menurunkan pembelajaran dan memori spasial pada tikus wistar. Plumbum Klorida diberikan kepada tikus selama 3 minggu dan pengujian memori spasial dilakukan dengan menggunakan metode *morris water maze*. Memori spasial dinilai dari persentase waktu yang dihabiskan pada kuadran target selama 60 detik. Terdapat penurunan memori spasial pada kelompok perlakuan 1 (17.79 ± 1.97), dan 2 (17.15 ± 2.26), dibandingkan dengan kelompok kontrol (32.70 ± 2.56), namun tidak terdapat pengaruh antara kelompok perlakuan.¹⁶

Penelitian lain menginjeksikan 0.2% plumbum asetat selama 1 bulan pada kelompok sebelum kehamilan (PG), masa kehamilan (G), masa laktasi (L) dan masa kehamilan-laktasi (GL). Gangguan pada memori spasial dilihat dari penurunan waktu yang dihabiskan pada kuadran target. Pada seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan waktu (PG:12s, G:10s, L:7s, GL: 5s) yang dihabiskan pada kuadran target dibandingkan dengan kelompok kontrol (C:18s).¹⁷

Penelitian lain menilai pengaruh Pb 8 mg/kg selama 21 hari terhadap memori spasial pada tikus putih jantan yang baru lahir. pada penelitian tersebut memori spasial dinilai dari *probe trial* yaitu *platform location latency*, *Swimming speed* dan *traveled distance*. Tidak ada pengaruh *Swimming speed* dan *traveled*

distance pada kedua kelompok dan kelompok kontrol (20s) memiliki waktu yang lebih lama untuk mencapai *platform* dibandingkan dengan kelompok perlakuan (29s; $p < 0.05$). Meng *et al.*, (2016) menginduksi 0.2mg/100g pb asetat pada tikus putih galur *Sprague-dawley* selama 5 minggu. Memori spasial dinilai menggunakan *morris water maze* metode *probe test* yang dilakukan satu hari setelah latihan terakhir. Terjadi penurunan rerata memori spasial pada kelompok perlakuan (21.3 ± 1.5) dibandingkan dengan kelompok kontrol (28.1 ± 1.8 ; $p < 0.05$).¹⁸

Dalam pemberian periode akut, penelitian ini sejalan dengan penelitian sejenis, yang menilai pengaruh injeksi plumbum asetat selama periode akut 6 hari terhadap memori spasial tikus putih jantan. Pada penelitian tersebut plumbum asetat dan natrium asetat diinjeksikan ke tikus putih jantan, memori spasial dinilai dengan metode *morris water maze*. Terdapat pengaruh yang bermakna pada pemberian plumbum asetat selama 6 hari terhadap memori spasial tikus putih jantan. Tikus putih jantan yang disuntikan dengan natrium asetat memiliki waktu mencapai *platform* tujuan lebih cepat (8.3 detik) dibandingkan dengan tikus jantan yang disuntikan dengan plumbum asetat (15.2 detik; $p < 0.02$).¹⁹

Semua dosis yang digunakan pada penelitian ini dapat menurunkan memori spasial pada hewan coba. Penelitian ini diharapkan menjadi gambaran bahaya plumbum terhadap manusia, dimana dosis 50 mg/kg plumbum asetat sudah dapat menurunkan memori spasial pada hewan coba. Jika dikonversi dari dosis tikus ke manusia dengan koefisien sebesar 56 maka didapatkan plumbum asetat sebesar 560 mg.²⁰ Penelitian lain, 714 mg plumbum asetat terdapat 450 mg plumbum maka pada 560 mg plumbum asetat terdapat 352,9 mg plumbum.²¹ Sehingga berdasarkan penelitian ini plumbum sebesar 352,9 mg dapat menurunkan memori spasial pada manusia dengan berat badan 70 kg.

Plumbum merupakan suatu logam yang bersifat neurotoksin yang dapat mengganggu dan menurunkan fungsi dari otak. Salah satu fungsi otak yang menurun adalah proses pengingatan dalam bentuk spasial. Kandungan plumbum dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif yang merupakan awal dari

kematian-kematian sel. Plumbum dapat memicu pembentukan dari *reactive oxygen species* (ROS) dan menekan sistem antioksidan tubuh, kedua hal tersebut merupakan mekanisme stres oksidatif yang diakibatkan oleh logam berat ini.¹⁰ Stres oksidatif mengakibatkan terjadinya perubahan pada struktur hipokampus terutama pada *AMPA receptor* yang berperan dalam proses penyimpanan dan pengambilan ingatan. Perubahan ini mengakibatkan penurunan fungsi memori spasial pada hewan coba.²²

Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian plumbum asetat sebesar 50 mg/kg selama 7 hari pada tikus memiliki hubungan yang signifikan terhadap kematian sel-sel yang ada di otak. Penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan enzim-enzim yang berperan dalam proses kematian sel di otak, yaitu *caspase 8* dan *caspase 9*.²³ Serupa dengan penelitian sebelumnya, dimana plumbum dapat menginduksi kematian sel-sel di otak yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada memori spasial. Dalam penelitian lainnya, penurunan fungsi memori spasial dihubungkan dengan kerusakan dan penurunan jumlah sinaps yang ada di hipokampus. Pada penelitian ini dijelaskan bahwa pajanan Pb merusak proses diferensiasi dan migrasi neuron yang berperan dalam proses penyimpanan dan pengambilan suatu ingatan.¹³

Ringkasan

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan pendekatan *post test only control group design*. Dengan jumlah sampel penelitian sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*, yang dibagi dalam empat kelompok. (K): kelompok tikus yang tidak diinduksi plumbum asetat, perlakuan satu (P1): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 50mg/kgbb per hari, perlakuan dua (P2): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 100mg/kgbb per hari, perlakuan tiga (P3): kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 200mg/kgbb per hari. Hasil ukur memori spasial yaitu Persentase waktu yang dihabiskan tikus berenang pada kuadran target terhadap keseluruhan waktu yang ditempuh tikus melewati seluruh kuadran. Hasil penelitian

menunjukkan rerata waktu tidur mencit pada kelompok K 35.28%, kelompok P1 25.55%, P2 25.28%, P3 21.39%. Hasil uji *One-Way ANOVA* pengaruh plumbum asetat terhadap memori spasial didapatkan $p=0.037$.

Simpulan

Induksi plumbum asetat selama 7 hari dapat menurunkan memori spasial pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Daftar Pustaka

1. Badan Pusat Statistik. Penduduk Indonesia menurut provinsi; 2012. Tersedia pada: www.bps.go.id/linkTabelStatis/View/id/1426 diakses tanggal 12 Mei 2016.
2. Bada Pusat Statistik. Perkembangan jumlah kendaraan bermotor; 2014. Tersedia pada: www.bps.go.id/linkTabelStatis/View/id/1413 diakses tanggal 12 Mei 2016.
3. Shafii S. The removal of zinc and plumbum (lead) by using hydrogen peroxide [Thesis]. University Malaysia Pahang; 2008.
4. Depkes. Dampak kesehatan akibat polusi udara; 2014. Tersedia pada: <http://pppl.depkes.go.id/berita?id1382> diakses tanggal 12 Mei 2016.
5. Irawan RM. Pengaruh methanol terhadap pengurangan emisi gas buang carbon monoksida pada kendaraan motor bensin. *Traksi*. 2008; 1(6):39-47.
6. Kurniawan W. Hubungan Kadar Pb Dalam Darah dengan Profil Darah pada Mekanik Kendaraan Bermotor di Kota Pontianak [Thesis]. Progam Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang. Universitas Diponegoro; 2008.
7. Ostrovskaya SS, Shatornaya VF, Kolosova I. Combined impact of plumbum and cadmium on the organism. *Foreigning Literature Review*. 2011; 13.
8. Harbani N. Korelasi Kadar Plumbum dalam Darah dengan Gangguan Kognitif pada Petugas Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum Kotamadya Yogyakarta [Thesis]. Universitas Gajah Mada. 2013.
9. Ercal N, Gurer H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress. Part 1. Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem*. 2001; 1(6):529-39.
10. Shafiq-ur-rehman. Lead-induced regional lipid peroxidation lipid in brain. *Toxx let*. 1984; 21(1):333-7.
11. Kumar V, Cotran RS, & Robin SL. Buku Ajar Patologi Robin. Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2007.
12. Meng H, Wang L, He J, Wang Z. The Protective Effect of Gangliosides on Lead (Pb)-Induced Neurotoxicity Is Mediated by Autophagic Pathways. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13(4):365. Tersedia pada: <http://www.mdpi.com/1660-4601/13/4/365>.
13. Watermaze. Learning about Morris Water Mazw. Richard Baker. 2013; Tersedia pada: watermaze.org diakses tanggal 3 juni 2016.
14. Mastrangelo ME, Schleich CE, & Zenuto RR. Short-term effects of an acute exposure to predatory cues on the spatial working and reference memory performance in a subteranean rodent. *Anim Behav*. 2008; 77(3):685-92.
15. Alvin V, Terry J. Methods of behaviour analisis in neuroscience: Spatial Navigation (Water Maze) Tasks. edisi ke-2. Georgia: Medical college of Georgia; 2009.
16. Xiao Y, Fu H, Han X, Hu X, Gu H, Chen Y et al. Role of synpatic structural plasticity in impairment of spatial learning and memory induced by developmental lead exposure in wistar rats. *PLoS ONE*. 2014; 9(12):1-16.
17. Barkour RR, Bairy LK. Evaluation of passive avoidance learning and spatial memory in rats exposed to low levels of lead during specific periods of early brain development. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015; 28(3):533-44.
18. Bazgar M, Goudarzi I, Abrari K, Elahdadi-salmani M, Lashkarbolouki T. Effect of postnatal chronic lead exposure on spatial learning and memory in male rat. *Zahedan J Res Sci*. 2015; 17(9):29-32.
19. Jett DA, Kuhlmann AC, Guilarte TR. Intrahippocampal administration lead (Pb) impairs performance of rats in the morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997; 57(1):263-96.
20. Laurence RR dan Bacharach AL. Evaluation of drug activities, pharmacometrics. London: Academic Press; 1964.
21. Takahashi A. Problem of hygiene maintenance for food coming into contact with rubber and plastics products. *Nippon Gomu Kyokaishi*: 48(9):537 [translated by

- Inglis EA. 1976. *Int Polymer Sci Tech*. 1975; 3(1):93-105]
22. Pandey SP, Singh HK, & Prasad S. Alterations in hippocampal oxidative stress, expression of AMPA receptor GluR2 subunit and associated spatial memory loss by *Bacopa monnieri* extract (CDRI-08) in streptozotocin-induced diabetes mellitus type 2 mice. *PLoS ONE*. 2015; 10(7):1-23.
 23. Ahmed MB, Ahmed MI, Meki AR, Abdarboh N. Neurotoxic effect of lead on rats: Relationship to apoptosis. *Int J Health Sci Qassim*. 2013; 7(2):192-9.