

EFEK POLIMORFISME GENA GSTP-1 TERHADAP AKTIVITAS GLUTATION S-TRANSFERASE (GST) PADA INDIVIDU TERPAPAR LOGAM BERAT TIMBAL
(*Effect of GSTP-1 Gene Polymorphism on Glutathione S-Transferase (GST) Activity in Heavy Metals Lead-Exposed Individual*)

Hernayanti^{1*}, Agung Saprasetya Dwi Laksana² dan Saefuddin 'Aziz¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. dr. Suparno 63, Purwokerto 53122.

²Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. dr. Gumbreg 1, Purwokerto 53146.

*Penulis korespondensi. Tel: 081542912469. Email: hernyantioentoro@gmail.com.

Diterima: 3 Oktober 2014

Disetujui: 29 April 2015

Abstrak

Gena GSTP-1 merupakan penghasil enzim glutathione S-transferase (GST), yang berfungsi dalam proses detoksifikasi senyawa toksik di hati. Faktor keberadaan polimorfisme gena GSTP-1 akan menyebabkan penurunan ekspresi GST, sehingga proses detoksifikasi terhadap senyawa toksik akan terhambat. Kerentanan terhadap paparan senyawa toksik pada manusia akan meningkat apabila dijumpai polimorfisme gena. Salah satu senyawa toksik yang dapat menghambat aktivitas GST adalah timbal (Pb), terutama dalam bentuk *tetra ethyl lead* (TEL). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh polimorfisme gena GSTP-1 terhadap aktivitas GST pada individu terpapar Pb, yang diwakili pekerja bengkel mobil. Faktor keberadaan polimorfisme gena individu ditentukan dengan metode PCR-RFLP dan enzim restriksi BsmA1. Parameter yang diukur adalah kadar Pb dan aktivitas GST. Analisis molekuler gena GSTP-1 dilakukan secara deskriptif. Data kadar Pb dan aktivitas GST dianalisis dengan uji t independent. Hasil analisis gena GSTP-1 dari 40 orang subyek kasus setelah dilakukan digesti dengan enzim BsmA1, ditemukan sebanyak 10 orang individu dengan polimorfisme Ile105Val gena GSTP-1 atau sekitar 25% dengan genotip Ile-Val, sedangkan 30 orang atau 75% ditemukan tanpa polimorfisme dengan genotip Ile-Ile. Pita DNA individu dengan polimorfisme terpotong menjadi 3 fragmen sepanjang 176, 91 dan 85 pp (mutan heterozygot), sedangkan tanpa polimorfisme terletak pada 176 bp. Subyek kasus dengan polimorfisme gena GSTP-1 memiliki kadar Pb lebih tinggi dan aktivitas GST lebih rendah dibandingkan individu non polimorfisme. Telah terbukti bahwa polimorfisme gena GSTP-1 menyebabkan penurunan ekspresi enzim GST. Pada individu terpapar Pb dengan polimorfisme gena GSTP-1 memiliki aktivitas GST lebih rendah dibandingkan individu tanpa polimorfisme.

Kata kunci: logam berat, polutan, polimorfisme gena, Glutathione S-Transferase, timbal.

Abstract

GSTP-1 gene regulates the expression of glutathione S-transferase enzyme, which role in detoxification of toxicant on liver. If the polymorphisms gene is found in individual, the production of GST is decreased and the enzyme failed to eliminate toxicants. Lead is one of toxic agents that could inhibit GST activity especially tetra ethyl lead (TEL). The susceptibility to lead exposure will increase if the polymorphisms gene is found in population. The objective of this studies were to know the effect of gene GSTP-1 polymorphisms to GST activity on lead-exposed individual ie. autorepair workers. The genotype individu were analyzed by Polymerase Chain Reaction (PCR)-Restriction Fragment Length Polymorphisms with BsmA1 restriction enzyme followed by descriptived analyzed. Parameter recorded were blood lead and GST activity and data were analyzed by independent t-test. These result showed that 25% of 40 individual cases subject were detected by enzyme BsmA1 as polymorphisms individual of GSTP-1 gene, with Ile105Val genotype. As many as 75% were detected as non polymorphisms with Ile-Ile genotype. Three fragment DNA of polymorphisms individual of GSTP-1 is located on 176, 91 and 85 bp (heterozygote mutant) but non polymorphisms individual is only located on 176 bp. The Pb level of individual with polymorphisms GSTP-1 gene is higher than non polymorphisms individual but their GST activity was lower than non polymorphisms individual. It could be concluded that polymorphisms GSTP-1 gene could decrease the expression gene of GST enzyme and intoxication of lead-exposed could increased the decreasing of this activity.

Keywords: heavy metal, lead, pollutant, polymorphisms gene GSTP-1, Glutathione S-Transferase.

PENDAHULUAN

Senyawa timbal (Pb) terutama *tetra ethyl lead* (TEL), yang digunakan sebagai bahan aditif pada bensin, merupakan senyawa Pb yang paling toksik

bagi manusia. Timbal dalam bentuk TEL mudah larut dalam lemak dan mudah berdifusi ke dalam jaringan lunak seperti hati dan ginjal serta ke dalam jaringan keras seperti tulang. Senyawa Pb yang masuk tubuh manusia lewat inhalasi, akan

diabsorpsi paru-paru sebesar 10-30% dan sekitar 90% Pb yang terbawa aliran darah akan berikatan dengan eritrosit. Sifat timbal mudah berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) penyusun enzim dan molekul protein, sehingga dapat menimbulkan hambatan terhadap aktivitas enzim. Salah satu enzim yang dihambat aktivitasnya oleh Pb adalah Glutation S-Transferase (GST). Fungsi GST adalah melakukan proses detoksifikasi terhadap senyawa toksik seperti Pb, dengan cara mengkatalisis konjugasi senyawa toksik hidrofobik dan komponen elektrofilik dengan kofaktor glutation. Kemudian konjugat glutation-Pb mengalami pemecahan enzimatik dan asetilasi membentuk turunan N-asetil sistein (asam merkapturat) yang bersifat hidrofilik sehingga Pb mudah dikeluarkan lewat urine (Patrick, 2006; Ping,dkk 2006; Konwar dkk, 2010).

Glutation S-Transferase dihasilkan oleh gena GSTP-1 yang terletak pada kromosom 11q13. Polimorfisme GSTP-1 berupa perubahan A menjadi G pada nukleotida posisi 313, menyebabkan substitusi asam amino Isoleucin (Ile) menjadi Valin (Val) pada codon 105 dan ekson 5. Chuang dkk. (2006) menyatakan bahwa polimorfisme gena merupakan faktor penting yang mempengaruhi kerentanan manusia terhadap senyawa toksik, termasuk Pb. Polimorfisme pada tingkat DNA dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim sebesar 20-30 %, sehingga keberadaan polimorfisme gena GSTP-1 akan menyebabkan penurunan produksi GST di hati dan penghambatan terhadap proses detoksifikasi Pb. Hal ini akan menyebabkan peningkatan kadar Pb dalam tubuh (Khansakorn dkk, 2012).

Pekerja bengkel mobil merupakan salah satu kelompok individu yang beresiko terpapar Pb. Pencemaran Pb pada pekerja bengkel dapat berasal dari asap kendaraan bermotor yang mengandung TEL, lokasi bengkel yang terletak di tepi jalan raya dan pemakaian cat semprot. Menurut Palar (2008) cat semprot mengandung Pb oksida (4%), Fe Pb oksida (14%), Pb fosfat (21%), Fe Pb sulfat (3%) dan Mn Pb oksida (2%). Cat yang berisi senyawa Pb mempunyai ukuran partikel yang sangat kecil, sehingga mudah tersebar di udara. Pb yang terhirup pekerja akan masuk ke dalam paru-paru dan proses berikutnya Pb akan masuk ke dalam peredaran darah dan diedarkan ke seluruh tubuh (Vitayavirasuk dkk., 2005). Penelitian Wahyuningsih dkk, (2003) menemukan peningkatan kadar Pb pada pekerja cat semprot yaitu berkisar antara 0,52-0,75 ppm (nilai normal Pb < 0,2 ppm).

Masalah yang belum terpecahkan adalah belum pernah dilakukan analisis molekuler adanya

pengaruh polimorfisme gena GSTP-1 terhadap kadar Pb darah individu terpapar Pb, padahal gena GSTP-1 adalah penghasil enzim GST yang berperan penting dalam proses detoksifikasi Pb dalam hati.

Tujuan penelitian adalah untuk melakukan analisis molekuler adanya polimorfisme gena GSTP-1 pada individu terpapar Pb yang diwakili pekerja bengkel mobil, mengetahui efek polimorfisme gena GSTP-1 terhadap kadar Pb darah dan aktivitas GST pada pekerja bengkel mobil.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan berupa sampel darah probandus pekerja bengkel mobil di Purwokerto (Jawa Tengah) dan kit ELISA Glutation S-Transferase. Alat yang digunakan terdiri dari *Atomic Absorbtion Spectrofotometer* (AAS) merk Perkin Elmer dan seperangkat alat ELISA (Labotron)

Prosedur Penelitian

Penelitian menggunakan metode survai dengan rancangan kasus kontrol. Subyek penelitian adalah pekerja bengkel mobil sebagai subyek kasus, yang mewakili individu terpapar Pb, sebanyak 40 orang. Jumlah total pekerja bengkel mobil di Purwokerto, sebanyak 80 orang. Jumlah populasi ini kurang dari 100 orang, sehingga diambil 50 % yaitu sebanyak 40 orang. Subyek kasus harus memenuhi kriteria inklusi laki-laki, usia 25-55 tahun, masa kerja minimal 3 tahun dan bersedia menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi masa kerja kurang dari 3 tahun dan menderita penyakit hati.

Setelah menandatangani *Informed consent*, responden diambil darah pada bagian vena mediana cubiti dengan spuit terumo ukuran 10 mL. Darah sebanyak 10 mL dibagi menjadi 3 bagian yaitu 3 mL untuk Isolasi DNA, 1 mL untuk pemeriksaan GST dan 6 mL untuk pemeriksaan Pb. Selanjutnya darah untuk pemeriksaan Pb dan GST ditampung pada tabung Ependorff dan disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang berwarna kuning yaitu plasma dipisahkan dari eritrosit untuk analisis Pb dan GST.

Isolasi DNA (Metode Guanidin). Darah EDTA 3 mL disiapkan kemudian diberi eritrosit lysing buffer 8-12 mL, dikocok ringan bolak balik dan diletakkan di dalam lemari es selama 20 menit. Selanjutnya darah disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit, supernatan dibuang dan ditambah dengan 100 μ L SE buffer kemudian dimasukkan ke tabung Ependorff ukuran 1,5 mL.

Proses berikutnya ke dalam tabung eppendorf dipipetkan 100 μ L guanidin, 700 μ L chloroform dan 400 μ L NaCl 4 M lalu dikocok kuat, disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasil sentrifugasi menghasilkan 3 lapisan dan bagian paling atas dari lapisan diambil, dimasukkan ke dalam tabung Eppendorff dan ditambah dengan 1,1 μ L isopropanol, dikocok dan muncul kabut. Larutan tersebut disentrifuse selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasilnya berupa pellet dan supernatan dibuang. Sisa ditiriskan dengan tissue dan diberi etanol 70% sebanyak 500 μ L. Kemudian disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan supernatan yang terbentuk dibuang, sisa supernatan diusap dengan tissue dan dikeringkan selama 15 menit serta ditambah dengan TE buffer 100-400 μ L dan disimpan pada suhu 4 $^{\circ}$ C.

Pemeriksaan PCR polimorfisme gena GSTP-1. Amplifikasi gena dengan PCR (Chen, dkk ; 2010). P 105 F : 5'-ACC CCA CGG CTC TAT GGG AA-3' dan primer reverse. P 105 R : 5' TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT'-3'. Kondisi PCR meliputi denaturasi awal 94 $^{\circ}$ C 5 menit, 35 siklus, terdiri dari denaturasi 94 $^{\circ}$ C 5 menit, annealing 60 $^{\circ}$ C 1 menit, elongasi 72 $^{\circ}$ C selama 2 menit dan elongasi akhir 72 $^{\circ}$ C selama 20 menit. Pemotongan PCR product dengan enzim BsmA1. Hasil digesti dianalisis dengan elektroforesis menggunakan gelagarosa 2%, divisualisasikan dengan etidium bromida dibawah sinar UV. Hasil elektroforesis adalah Alel homozigot (I/I) : 176 bp, Alel heterozigot (I/V) : 176 bp, 91 bp, 85 bp dan Alel homozigot mutan (V/V) : 91 bp dan 85 bp.

Pemeriksaan kadar Pb darah (Anonim, 2000), menggunakan larutan standar PbSO₄. Larutan standar PbSO₄ dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, 9 ppm dan 15 ppm. Pembacaan dengan alat AAS pada panjang gelombang 217,6 nm dan kuat arus 3,5mA. Hasil akan tercatat pada alat AAS dalam satuan ppm.

Pemeriksaan aktivitas GST dengan metode ELISA Sandwich (Anonim, 2002). Disiapkan plate ELISA yang terdiri dari 96 sumuran untuk sampel, kontrol negatif dan kontrol positif. Masing-masing sumuran diberi 50 μ L sampel dan 50 μ L GST assay buffer. Untuk kontrol positif diambil 10 μ L kemudian ditambah 40 μ L GST assay buffer. Selanjutnya ditambahkan 5 μ L glutation pada tiap sumuran. Dibuat campuran substrat dengan GST buffer sesuai dengan jumlah sampel. dengan perbandingan : GST buffer 45 μ L dan GST substrat (1- chloro-2,4- dinitrobenzen), 5 μ L. Absorbansi dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm, pada menit pertama dan kedua.

Perhitungan dilakukan dengan persamaan (1) berikut:

$$\text{Aktivitas GST } (\mu\text{mol/L}) = \Delta A_{340}/\text{menit} \times 0,1578 \times \text{pengenceran sampel} \quad (1)$$

Keterangan:

$\Delta A_{340}/\text{menit}$ = pembacaan rerata absorbansi menit 1 dan ke-2.

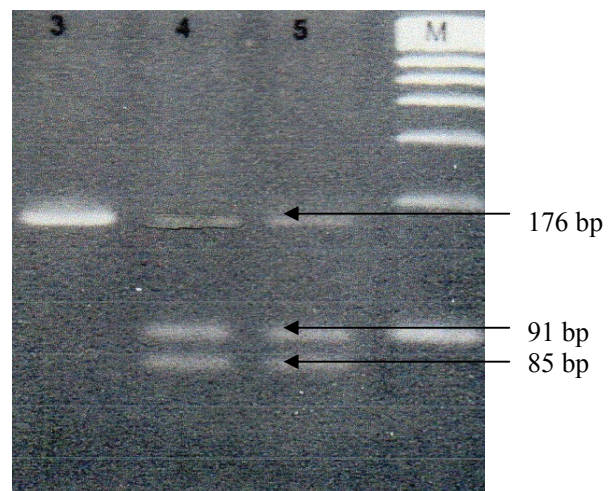
Nilai 0,1578 = koefisien penambahan glutation-CDNB (1-chloro -2,4 dinitrobenzen).

Parameter yang diamati adalah variasi genetik polimorfisme gena GSTP-1, kadar Pb darah dan aktivitas GST. Data kadar Pb dan aktivitas GST individu polimorfisme dan non polimorfisme dianalisis dengan uji t independent, sedangkan variasi genetik polimorfisme gena GSTP-1 dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Analisis Gen GSTP-1

Hasil analisis gena GSTP-1 dari 40 orang subyek kasus setelah dilakukan digesti dengan enzim BsmA1, ditemukan sebanyak 10 orang individu dengan polimorfisme Ile105Val gena GSTP 1 atau sekitar 25% dengan genotip Ile-Val, sedangkan 30 orang atau 75% ditemukan tanpa polimorfisme dengan genotip Ile-Ile. Pita DNA individu dengan polimorfisme terpotong menjadi 3 fragmen sepanjang 176, 91 dan 85 pp (mutan heterozygot), sedangkan tanpa polimorfisme terletak pada 176 bp (Gambar 1).



II (Ile-Ile) II (Ile-Val) II(Ile-Val) Marker

Gambar 1. Gen yang mengkode GSTP-1 dipotong dengan enzim restriksi BsmA1 pada subyek kasus. Keterangan : No 3 Ile-Ile = Genotip individu tanpa polimorfisme GSTP-1 Pita DNA tidak terpotong terletak pada 176 bp. No 4 dan 5 Ile-Val = Genotip individu dengan polimorfisme gena GSTP-1 pita DNA terpotong menjadi 3 fragmen terletak pada 176, 91 dan 85 bp.

Kadar Pb Darah

Hasil pengukuran kadar Pb individu pembawa polimorfisme gena GSTP-1 dan individu tanpa polimorfisme dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan pada subyek kasus baik individu tanpa polimorfisme maupun dengan polimorfisme gena GSTP-1 mengalami peningkatan kadar Pb di atas nilai normal, karena memiliki kadar Pb > 0,2 ppm. Senyawa Pb terutama TEL yang terdapat pada bensin merupakan senyawa Pb yang paling toksik, karena Pb tetraetil yang masuk tubuh akan berubah menjadi Pb trietil yang merupakan senyawa radikal bebas. Senyawa ini mudah menembus membran sel dan mudah berikatan dengan gugus -SH penyusun enzim. Akibatnya akan terjadi hambatan pada aktivitas enzim yang mengandung gugus -SH oleh Pb. Salah satu enzim yang dihambat aktivitasnya oleh Pb adalah Glutation S-Transferase yang berfungsi dalam proses detoksifikasi dan banyak dijumpai di hati. Hambatan pada aktivitas GST menyebabkan kadar Pb darah pekerja meningkat, karena proses detoksifikasi oleh GST tidak berjalan dengan baik dan Pb tidak dapat dieliminasi dari tubuh. Proses selanjutnya akan terjadi akumulasi Pb di hati. Selain itu Pb trietil merupakan salah satu senyawa radikal bebas yang dapat merusak membran sel hati, melalui proses pembentukan peroksidasi lipid, sehingga akumulasi Pb di hati semakin banyak. Kadar Pb pada subyek kasus dengan polimorfisme gena GSTP-1 lebih tinggi dibandingkan kadar Pb subyek kasus tanpa polimorfisme gena GSTP-1. Hal ini sesuai dengan pendapat Chuang dkk., (2006) dan Eskhoor dkk., (2011), yang menyatakan bahwa kerentanan seseorang terhadap paparan senyawa toksik akan meningkat apabila dijumpai polimorfisme gena, karena akan menyebabkan penurunan fungsi enzim sebesar 20%-30%.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa subyek kasus yang mengalami polimorfisme gena GSTP-1 lebih rentan terhadap paparan Pb dibandingkan individu tanpa polimorfisme gena GSTP-1 karena memiliki kadar Pb lebih tinggi yaitu sebesar $0,731 \pm 0,049$ ppm, dibandingkan dengan individu tanpa polimorfisme gena GSTP-1 yang hanya sebesar $0,481 \pm 0,095$ ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian Hernayanti, dkk., (2012) yang menemukan peningkatan kadar Pb darah pada individu

pembawa polimorfisme gena NOS3 terpapar Pb yaitu sebesar 0,65 ppm, sedangkan kadar Pb pada individu tanpa polimorfisme ditemukan lebih rendah yaitu sebesar 0,49 ppm.

Aktivitas Glutation S- Transferase (GST).

Hasil pengukuran aktivitas GST individu pembawa polimorfisme gena GSTP-1 dan individu tanpa polimorfisme dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan aktivitas GST pada subyek kasus dengan polimorfisme gena GSTP-1 maupun tanpa polimorfisme mengalami penurunan aktivitas GST karena pada individu normal aktivitas GST berkisar antara $118 \pm 11,69$ $\mu\text{mol/L}$. Jadi secara genetik aktivitas GST pada individu dengan polimorfisme gena GSTP-1 telah mengalami penurunan dibandingkan individu normal dan individu tanpa polimorfisme gena GSTP-1. Pada individu tanpa polimorfisme gena GSTP-1 penurunan aktivitas GST hanya disebabkan oleh Pb, sehingga aktivitas GST masih lebih tinggi dibandingkan individu dengan polimorfisme gena GSTP-1. Pada individu dengan polimorfisme GSTP-1, penurunan aktivitas GST selain disebabkan oleh Pb juga disebabkan karena keberadaan polimorfisme gena, menyebabkan produksi GST berkurang 20-30%, sehingga aktivitas GST subyek kasus dengan polimorfisme gena GSTP-1 lebih rendah dibandingkan dengan subyek kasus tanpa polimorfisme. Glutation S-Transferase merupakan enzim yang berperan penting dalam proses detoksifikasi dan banyak dijumpai dalam organ hati. Pengaturan produksi GST diatur oleh gena GSTP-1 yang terletak pada kromosom 11q13. Polimorfisme gena GSTP-1 ditandai dengan perubahan Arginin (A) menjadi Glisin (G) pada posisi nukleotida 313. Hal ini menyebabkan penurunan ekspresi GST sebesar 20-30%. Dalam keadaan normal apabila ada senyawa toksik seperti Pb masuk ke dalam tubuh, maka enzim GST akan melakukan proses konjugasi dengan senyawa toksik hidrofobik dan komponen elektrofilik dengan kofaktor glutation. Kemudian konjugat glutation-Pb akan terasetilasi membentuk senyawa turunan N-asetil sistein (asam merkapturat) yang bersifat hidofilik sehingga Pb mudah dikeluarkan lewat urin (Patrick, 2006 ; Ping dkk., 2006 ; Konwar dkk, 2010 ; Khasankorn dkk.,

Tabel 1. Kadar Pb dalam darah subyek kasus.

Grup	Kadar Pb (ppm)
Polimorfisme ¹⁾	$0,731 \pm 0,049^a$
Tanpa polimorfisme ²⁾	$0,481 \pm 0,095^b$

p = 0, ¹⁾n = 40, ²⁾n = 40. Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada setiap kolom menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

Tabel 2. Aktivitas GST subyek kasus.

Grup	Aktivitas GST ($\mu\text{mol/L}$)
Polimorfisme ¹⁾	$54,00 \pm 7,33^a$
Tanpa polimorfisme ²⁾	$92,13 \pm 15,28^b$

p = 0, ¹⁾n = 40, ²⁾n = 40. Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada setiap kolom menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

2011). Pada kondisi normal yaitu kadar glutation dalam hati tersedia cukup banyak dan dosis Pb yang masuk tubuh kecil, proses konjugasi terhadap Pb oleh GST masih bisa dilakukan. Sebaliknya apabila dosis Pb yang masuk tubuh besar maka glutation di hati jumlahnya tidak cukup untuk mengaktifkan GST. Senyawa TEL juga merupakan senyawa yang bersifat lipofilik sehingga sulit untuk dikeluarkan lewat urin. Peristiwa ini menyebabkan Pb tidak dapat didetoksifikasi sehingga Pb banyak dijumpai dalam darah dan di hati (Patrick., 2006; Buchard dkk., 2007).

KESIMPULAN

Polimorfisme gena GSTP-1 dijumpai sebesar 25% pada pekerja bengkel mobil yaitu individu yang terpapar Pb, sedangkan individu tanpa polimorfisme gena GSTP-1 dijumpai sebesar 75%. Kadar Pb pada individu dengan polimorfisme gena GSTP-1 lebih tinggi dan memiliki aktivitas GST lebih rendah dibandingkan dengan individu tanpa polimorfisme.

UCAPAN TERIMAKASIH

Dalam kesempatan ini diucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Nasional melalui tim pengarah Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Jenderal Soedirman, atas bantuan dana Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2013 dengan nomor kontrak 2536.39/UN23.10/PN/2013, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000. *Threshold Limited Value and Detection Method for Chemical Substances and Biological Exposure Indices*. OSHA, Cincinatti.
- Anonim, 2002. Glutathion S-Transferase Activity Manual Assay Kit. *Biovision Research Product*, 980:1-3.
- Buchard, A., Juan J. S., Dalhoff, K dan Morling, N, 2007. Multiplex PCR Detection of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Gene Variations. *Journal of Molecular Diagnostics*, 9(5):612-617.
- Chen, Y.L., Tseng, H.S., Kuo, W.H., Yang, S.F., Chen, D.R dan Tsai, H.T. 2010. Glutathion S-transferase P1 (GSTP1) Gene Polymorphism Increase Age-Related Susceptibility to Hepatocellular Carcinoma. *BMC Medical Genetics*, 11(46):1-8.
- Chuang, H.J., Yu, K.T., Ho, C.K., Wu, M.T., Lin, G.T., dan Wu, T.N., 2004. Investigation of Vitamin D Receptor Polymorphism Affecting Workers' Susceptibility to Lead. *J. Occup. Health*, 46:316-321.
- Eshkoor, S.A., Ismail, P., Rahman, S.A dan Moin, S., 2011. Does GSTP1 Polymorphism Contribute to Genetic Damage Caused by Ageing and Occupational Exposure? *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, 62:291-298.
- Hernayanti, Sukarti, M., Sadewa A.H., Hariono, B., dan Wahyuono, S., 2012. Efek Polimorfisme Gen Nitrit Oksida Sintase3 (NOS3) terhadap Kadar Nitrit Oksida dan Tekanan Darah pada Individu Terpapar Plumbum. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 19(2):160-168.
- Khansakorn, N., Wongwit, W., Tharnpophasiam, H., Hengprasith, B., Suwannathon, L., Chanpraserttyothin, S., Kaojarern, S., Sritara, P dan Srivarasal, J. 2011. Genetic Variations of Glutathione S-transferase Influence on Blood Cadmium Concentration. *Journal of Toxicology*, 11:1-6.
- Konwar, R., Manchanda P.K., Chaudhary dan Nayak, V.L. 2010. Glutathion S- Transferase (GST) Gene Variats and Risk of Benign Prostatic Hyperplasia : A Report in A North Indian Population. *Asian. J. Cancer Prev.*, 11:1067-1072.
- Palar, H., 2008. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. P.T Rineka Cipta, Jakarta.
- Patrick, L.N.D., 2006. Lead Toxicity Part II : The Role of Free Radical Damage and The Use of Antioxidants in The Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medical Review*, 10(4):114-117.
- Ping, J., Wang, H., Huang M., dan Liu, Z.S., 2006. Genetic Analysis of Glutathion S-Transferase A1 Polymorphism in The Chinese Populations and The Influence of Genotype on Enzymatic Properties. *Toxicol. Sci.*, 89(2):438-443.
- Vitayavirasuk, B., Junhom, S., dan Saeranee, P.T., 2005. Exposure to Lead, Cadmium and Chromium Among Spray Painters in Automobile Body Repair Shops. *J. Occup. Health*, 47:56-60.
- Wahyuningsih, Yunus, Ikhsan dan Wijaya, 2003. Dampak Inhalasi Cat Semprot Terhadap Kesehatan Paru. *Cermin Dunia Kedokteran*, 2:1-7.