

**PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (*Pb*) PER ORAL TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI TESTIS**

Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)

**Karya Tulis Ilmiah**

untuk memenuhi sebagian persyaratan

untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

**Putri Endah Puspitaningtyas**

**01.207.5547**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

**2011**

**PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (*Pb*) PER ORAL TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI TESTIS**

**Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus  
novergicus*)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

**Putri Endah Puspitaningtyas**

**01.207.5547**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal, 18 Mei 2011

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

**Pembimbing I**

**Anggota Tim Penguji**

**dr. H. M. Agus Supriyono, M. Kes.**

**dr. H. Sumarno, M.Si Med., Sp. PA**

**Pembimbing II**

**dr. Hj. Chodidjah, M. Kes.**

**dr. Kristanto Muliana**

Semarang, .....

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

**Dekan,**

**DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And**

## PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan rahmatNya sehingga Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) per Oral terhadap Gambaran Histopatologi Testis Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar”** ini dapat terselesaikan.

Karya Tulis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. DR. dr. H. Taufiq R Nasihun, M.Kes, Sp.And., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. H.M.Agus Suprijono, M.Kes., dan dr. Hj. Chodidjah, M.Kes., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. dr. H. Sumarno M.Si Med., Sp. PA dan dr. Kristanto Muliana, selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Mbak Tika dan seluruh staf Laboratorium Biologi FMIPA Universitas

5. Negeri Semarang yang telah membantu dalam penelitian ini.
6. Papah (dr.H. Mulyoto Adhi, Sp.B) dan mamah (Hj. Ety Wahyu Purwati), penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus dan ikhlas atas cinta, kasih sayang, dukungan serta doa yang tiada henti.
7. Sahabat dan semua pihak yang telah ikut membantu terselesainya Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

*Wassalamu'alaikum Wr.Wb*



Semarang, 18 Mei 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>PRAKATA</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>INTISARI</b> .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Manfaat Praktis .....	4

1.4.2 Manfaat Teoritis.....	4
-----------------------------	---

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Testis .....	5
2.1.1 Anatomi Testis.....	5
2.1.2 Histologi Tesis .....	5
2.1.3 Fisiologi Testis.....	6
2.1.4 Patologi Testis.....	7
2.1.1.1 Faktor Penyebab Perubahan Histopatologi Testis .....	7
2.1.1.2 Mekanisme Toksik pada Testis .....	8
2.2 Timbal ( <i>Pb</i> ) .....	10
2.2.1 Definisi Timbal.....	10
2.2.2 Kegunaan Timbal .....	11
2.2.3 Sumber Timbal ( <i>Pb</i> ).....	12
2.2.4 Bahaya Timbal.....	14
2.2.5 Faktor Resiko.....	17
2.2.6 Mekanisme Kerja Timbal ( <i>Pb</i> ) Masuk ke Dalam Tubuh.....	17
2.3 Hewan Coba .....	19
2.4 Pengaruh Timbal ( <i>Pb</i> ) terhadap Testis.....	19
2.5 Kerangka Teori.....	24

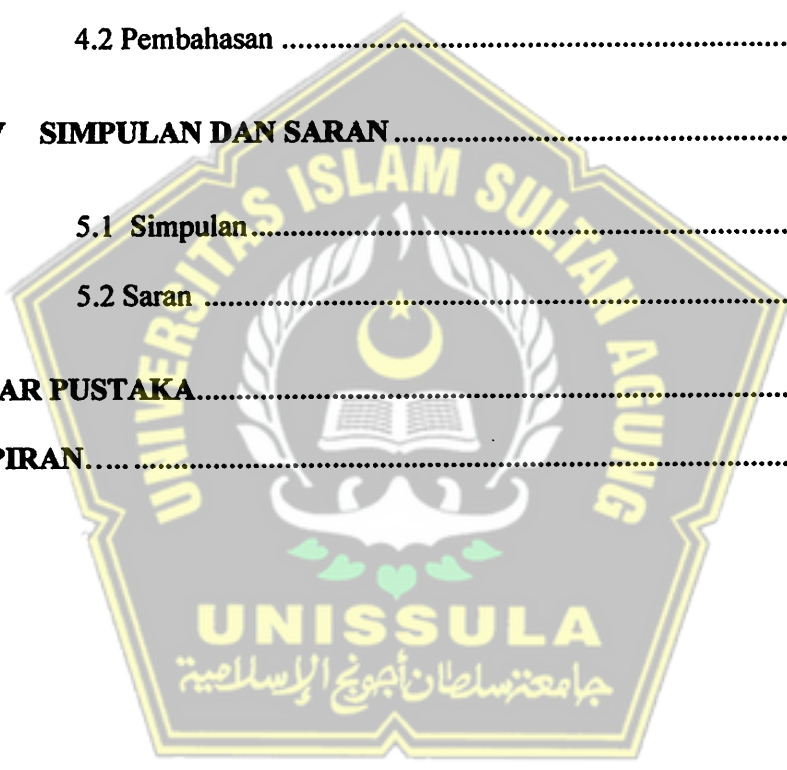


2.6 Kerangka Konsep.....	25
2.7 Hipotesis.....	25

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	26
3.2 Variabel dan Definisi Operasional .....	26
3.2.1 Variabel.....	26
3.2.2 Definisi Operasional .....	26
3.3 Populasi dan Sampel .....	28
3.3.1 Populasi.....	28
3.3.2 Sampel.....	28
3.3.2.1 Kriteria Inklusi .....	28
3.3.2.2 Kriteria Eksklusi.....	28
3.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	29
3.4.1 Alat dalam Penelitian.....	29
3.4.2 Bahan Penelitian.....	29
3.5 Cara Penelitian.....	30
3.5.1 Dosis Timbal (Pb).....	30
3.5.2 Cara Kerja penelitian .....	30
3.5.3 Cara Pembuatan Preparat Jaringan dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE).....	32
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	35

3.6.1	Tempat .....	35
3.6.2	Waktu.....	35
3.7	Analisa Data.....	35
3.8	Alur Penelitian .....	37
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>38</b>
4.1	Hasil Penelitian .....	38
4.2	Pembahasan .....	41
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>44</b>
5.1	Simpulan.....	44
5.2	Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>47</b>





## DAFTAR TABEL

Tabel.1 Tingkat Pencemaran <i>Pb</i> .....	14
Tabel.2 Median dan nilai minimum-maksimum masing-masing kelompok .....	39
Tabel.3 Nilai P dari <i>Uji Mann-Whitney</i> kerusakan sel testis pada tikus jantan galur wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi timbal per oral .....	40



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Hasil Penelitian Gambaran Histopatologi Testis.....	47
Lampiran 2. Hasil Analisis Data dengan SPSS.....	49
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian.....	57
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Testis .....	60
Lampiran 5. Foto-foto penelitian.....	63



## INTISARI

Timbal (*Pb*) diketahui tidak mempunyai kegunaan bagi tubuh kita, sangat beracun dan dapat terjadi penumpukan dalam tubuh. Sumber pencemaran timbal berasal dari asap kendaraan bermotor, minuman, dan makanan. Efek toksik timbal menyebabkan kerusakan sel testis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal (*Pb*) per oral terhadap gambaran histopatologi Testis.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test randomized control group design* dilakukan selama 30 hari dengan menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur wistar dibagi 5 kelompok uji secara random. K-I (kelompok kontrol) diberi pakan standar dan aquades, K-II diberi pakan standar, aquades dan timbal 2,5 mg *Pb*/hari per oral, K-III diberi pakan standar, aquades dan timbal 5 mg *Pb*/hari per oral, K-IV diberi pakan standar, aquades dan timbal 7,5 mg *Pb*/hari per oral dan K-V diberi pakan standar, aquades, dan timbal 10 mg *Pb*/hari per oral. Pada hari ke 31 tikus diterminasi dan diambil jaringan testisnya untuk dibuat preparat dan pemeriksaan histopatologi testis.

Hasil penelitian menunjukkan, setelah perlakuan tidak ada kerusakan sel testis pada K-I, K-II, K-III, K-IV, dan ada kerusakan testis pada K-V. Pada hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,001 ( $p > 0,05$ ). Dan pada uji *Mann-Whitney U* didapatkan hasil yang signifikan pada KI-KV, KII-KV, KIII-KV dengan nilai 0,005 ( $p < 0,05$ ).

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian timbal (*Pb*) per oral selama 30 hari pada dosis 2,5mg, 5mg, dan 7,5mg tidak berpengaruh sedangkan dosis 10 mg menimbulkan perubahan gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar yang bermakna.

**Kata kunci :** Timbal (*Pb*), gambaran histopatologi testis

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Timbal (*Pb*) merupakan salah satu logam berat penyebab pencemaran lingkungan hidup (Suprijono, 2001). Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan, pembersihan, dan berbagai penggunaannya dalam industri yang menggunakan bahan baku plumbum (misalnya pabrik cat, kabel, enamel, gelas, baterai dan pestisida) dan tidak kalah pentingnya timbal (*Pb*) juga dapat berasal dari asap kendaraan bermotor (Hariono, 2005). Hasil penelitian *The National Food Processors Association* mengungkapkan, kehadiran partikel *Pb* merupakan salah satu sumber kontaminasi di dalam produk makanan/minuman yang dikalengkan. Air minum dapat PVC tercemar cukup tinggi oleh timbal karena penggunaan pipa berlapis timbal dan pipa (Lu, 2006). Organ tubuh yang banyak terkena keracunan adalah saraf, ginjal, sistem reproduksi atau testis, sistem pernafasan, sistem endokrin dan jantung yang masing-masing akan memberikan efek yang berbeda (Suprijono, 2001). Timbal yang diberikan secara oral ternyata juga dapat meningkatkan kadar MDA testis, serta menyebabkan perubahan pada gambaran histologi testis dimana terlihat eksudasi interstisial, degenerasi dan nekrosis sel spermatogenik (Hamadouche NA et al, 2009).

Timbal merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya bagi lingkungan, jika timbal terbuang ke lingkungan telah melampaui nilai ambang yang telah ditentukan, maka lingkungan tidak mampu lagi untuk menetralkannya (Permana, 2003). Anak perkotaan di Negara berkembang memiliki resiko tinggi, pada tahun 1994 sebanyak 100% darah dari anak berumur di bawah 2 tahun mengandung timbal 10g/dL menurut *US Centre for Disease Control* dan 80% darah dari anak 3-5 tahun melebihi ambang batas tersebut (Anonim, 2004). Di Indonesia dilakukan penelitian pada 400 anak SD di Jakarta, hasilnya menunjukkan lebih dari 50% murid tercemar timbal di atas 50 mg/dL (Anonim, 2008)

Pemaparan timbal kronik merupakan masalah yang serius karena dihubungkan dengan timbulnya efek-efek yang buruk bagi kesehatan (Permana, 2003). Kira-kira sekitar 95% timbal dalam darah diikat oleh sel darah merah (Anies, 2005). Timbal yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ lain, salah satunya testis (Hariono, 2005). Timbal yang masuk ke dalam tubuh manusia meskipun dalam kadar sedikit dapat menjadi berbahaya, karena terakumulasi dalam tubuh dan akhirnya menimbulkan efek keracunan terhadap berbagai fungsi organ salah satunya testis (Yuniar, 2009). Walaupun tubuh dapat mensekresi timbal (*Pb*), namun hal itu tidak sebanding dengan absorpsinya sehingga dapat menimbulkan efek negatif baik akut maupun kronis (Hariono, 2007). Pemaparan ringan sampai menyeluruh kepada timbal memberikan pengaruh kepada sistem reproduksi laki-laki. Pada pemaparan



berat efek bahaya ini mengenai pria maupun wanita. Pengaruh pada pria mengakibatkan penurunan jumlah struktur dan motilitas sperma (Sabki, 2002)

Sebelumnya telah dilakukan beberapa penelitian tentang pengaruh timbal (*Pb*) antara lain Pengaruh *Pb* Per Oral terhadap Kerusakan Sel-Sel Reproduksi dan Penurunan Jumlah Anak Tikus Putih Galur Swiss (Suprijono, 2001), Efek Pemberian *Plumbum* Anorganik terhadap Otak, Jantung, Paru-Paru, Ginjal dan Testis Tikus Putih (Hariono, 2005), Pengaruh Pemberian *Plumbum* (*Pb*) Asetat Peroral terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Mencit (Luthfiah, 2006), Pengaruh Timbal (*Pb*) pada Udara Jalan Tol terhadap Gambaran Mikroskopis Testis dan Kadar Timbal (*Pb*) dalam Darah Mencit Balb/C Jantan (Yuniar, 2010). Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa timbal (*Pb*) juga berpengaruh pada kerusakan sel-sel reproduksi dan penurunan jumlah anak tikus putih galur swiss. Sehingga dapat diasumsikan timbal (*Pb*) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi testis. Oleh karena itu, peneliti ingin melihat tentang pengaruh timbal (*Pb*) per oral terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar.

## 1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang di atas, maka dapat ditarik perumusan masalah :

“Apakah ada pengaruh pemberian timbal (*Pb*) terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar? ”



### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal (*Pb*) per oral terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal (*Pb*) berbagai dosis per oral terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat Praktis**

Penelitian ini untuk menambah pengetahuan masyarakat tentang pengaruh timbal terhadap tubuh terutama testis.

#### **1.4.2 Manfaat Teoritis**

Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian penelitian selanjutnya mengenai pengaruh timbal terhadap testis dan memberikan informasi mengenai pengaruh timbal terhadap testis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Testis**

##### **2.1.1 Anatomi Testis**

Testis adalah pasangan kelenjar berbentuk telur yang secara normal terletak di dalam skrotum, di mana spermatozoa berkembang. (Dorland, 2003)

##### **2.1.2 Histologi Testis**

Testis terdiri atas beberapa lobulus yang dipisahkan oleh sekat jaringan ikat yang tersusun seperti jari-jari dengan pusat pada hilus. Pada lobulus terdapat ruangan-ruangan yang merupakan kelenjar-kelenjar (tubuli seminiferi contorti) yang dipisahkan oleh stroma jaringan ikat. Lapisan basal kelenjar ini jelas, dan makin tua makin tebal.

Di dalam tubuli seminiferi terdapat sel-sel penunjang (sel sertoli) dan sel epitel germinativum yang mengalami spermatogenesis. Pada stroma terdapat sel interstisium (sel leydig), yaitu sel bulat atau poliglona dengan sitoplasma banyak, berwarna merah, inti besar mengandung kromatin kasar dan anak inti jelas.

Epididymis terdiri atas saluran berlingkar-lingkar yang sebenarnya merupakan kumpulan ductus deferens yang berlapis torak

berambut getar berlapis semu dengan inti di bagian basal sitoplasma yang mengandung lemak dan pigmen (Paparo, 2001).

### 2.1.3 Fisiologi Testis

Fungsi reproduksi pria dapat dibagi dalam tiga subgolongan utama: pertama, spermatogenesis yang berarti pembentukan sperma; kedua, pelaksanaan kerja seksual pria; dan ketiga, pengaturan fungsi seksual pria oleh berbagai hormon (Guyton, 2007).

Fungsi testis sebagai spermatogenesis diawali oleh pertumbuhan beberapa spermatogonia menjadi sel sangat besar yang disebut spermatosit, kemudian bermiosis dan setiap spermatosit mengandung 23 kromosom, spermatid membelah lagi dan matur selama beberapa hari dan menjadi spermatozoa.

Pematangan sperma pada epididimis, setelah pembentukan pada tubulus seminiferus, sperma masuk epididimis. Sperma yang dikeluarkan dari tubulus seminiferus belum bergerak sama sekali dan tidak dapat membuahi ovum. Setelah sperma berada pada epididimis selama 18 jam sampai 10 hari, mereka mengembangkan kemampuan bergerak walaupun beberapa faktor menghambat motilitas sampai ejakulasi.

Penyimpanan sperma, sejumlah kecil sperma dapat disimpan dalam epididimis dan sebagian besar disimpan dalam ampulla vas deferens.

Sperma matang yang motil dan fertile mampu melakukan pergerakan dengan flagel melalui media cair dengan kecepatan 1-4 mm/menit. Sperma normal cenderung bergerak dalam rotasi lurus. Aktivitas sperma sangat diperbesar pada media netral dan sedikit alkali (Guyton,2007).

#### **2.1.4 Patologi Testis**

##### **2.1.4.1 Faktor Penyebab Perubahan Histopatologi Testis**

###### **a. Alkohol**

Mengonsumsi minuman beralkohol pada pria dapat mengakibatkan pengaruh buruk pada testis dan hipotalamus, yang pada akhirnya akan mengurangi produksi testosteron dan terjadinya feminisasi. Selain itu, pengaruh etanol pada organ reproduksi pria dapat berupa keterlambatan pubertas, atrofi testis, disfungsi ereksi, ginekomastia, gangguan proses spermatogenesis hingga infertilitas (Foa, 2004).

###### **b. Timbal (Pb)**

Pemberian (Pb) dosis tinggi pada pria akan melemahkan fungsi reproduksi, hal ini di buktikan dengan bertambahnya frekuensi asthenospermia, hipospermia, dan teratospermia. Pengaruh timbale terhadap alat reproduksi jantan terutama pada tingkat spermatogenesis yaitu: spermatosit, spermatid, atau spermatozoa, sehingga tidak terjadi kematangan sperma. Juga berpengaruh langsung pada kerusakan sel

reproduksi, sel leydig, sel sertoli, dan adenohipofise yang dapat mengakibatkan azoospermia (Suprijono, 2001).

### c. Asap Rokok

Rokok adalah salah satu hasil bahan olahan tembakau dengan ataupun tanpa bahan tambahan. Efek bahan kimia rokok terhadap sistem reproduksi menunjukkan adanya gangguan spermatogenesis. Pemberian nikotin dapat menyebabkan penurunan hormone testostosterone dan menghambat sel leydig (Priyanto, 2007).

#### 2.1.4.2 Mekanisme Toksik pada Testis

Pada umumnya sel memiliki respon adaptasi ketika mengalami stress fisiologi atau rangsang patologis. Jika kemampuan adaptif berlebihan maka sel mengalami jejas, cedera bisa bersifat reversibel dan sel mengalami keadaan stabil seperti semula; namun sel juga bias mengalami cedera irreversibel dan sel akan mengalami kematian (Robbin, 2007). Menurut Robbin (2007) terdapat dua proses kematian sel:

##### a. Nekrosis

Terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein, dan kerusakan organela. Jalur kematian sel tersebut bias menyebabkan disfungsi berat jaringan

## b. Apoptosis

Terjadi akibat sel “bunuh diri” yang dikontrol secara internal, setelah sel mati telah disingkirkan dengan gangguan minimal pada lingkungan sekitar.

Penyebab jejas sel bisa dikarenakan jejas fisik menyeluruh ataupun penyakit metabolik yang spesifik. Penyebab jejas sel dapat digolongkan sebagai berikut:

### a. Deprivasi Oksigen

Hipoksia bisa mengganggu oksidatif aerobik dan merupakan penyebab cedera tersering dan terpenting, serta menyebabkan kematian.

### b. Bahan Kimia

Semua bahan kimia dapat menyebabkan jejas. Bahan toksik mengubah permeabilitas membran, homeostatis osmotik, atau keutuhan enzim atau kofaktor, dan dapat berakhir dengan kematian seluruh organ.

### c. Agen Infeksius

Agen infeksius berkisar antara virus, riketsia, bakteri, fungi, dan protozoa.



#### d. Reaksi Immunologis

Terkadang reaksi imun dapat menyebabkan jejas sel dan jaringan. Contohnya pada penyakit autoimun, hilangnya toleransi dengan respon terhadap antigen sendiri.

#### e. Agen Fisik

Trauma, temperatur yang ekstrem, radiasi, syok elektrik, dan perubahan mendadak tekanan atmosfer, semuanya memiliki efek pada sel.

#### f. Penuaan

Proses penuaan sel menyebabkan kemampuan berespon terhadap rangsang dan cedera menurun, dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Robbin, 2007).

## 2.2 Timbal (*Pb*)

### 2.2.1 Definisi Timbal (*Pb*)

Timbal adalah suatu logam berat berwarna kelabu kebiruan dengan titik leleh dan didih 327 derajat Celcius dan 1.621 derajat Celcius. Pada suhu 500-600 derajat Celcius (Anies,2005). Timbal menguap dan bereaksi dengan oksigen dalam udara membentuk timbal oksida. Bentuk oksida yang paling umum adalah timbal (II) dan senyawa organometalik yang terpenting adalah timbal tetraetil, timbal tetrametil dan timbal stearat (WHO, 2002). Logam ini termasuk ke

dalam kelompok logam-logam golongan IV-A dengan nomor atom 82 dan bobot 207,2 (Palar,2004).

### 2.2.2 Kegunaan Timbal (*Pb*)

Timbal dan persenyawaannya digunakan dalam industri baterai sebagai bahan yang aktif dalam pengaliran arus elektron. Kemampuan timbal dalam membentuk aloy dengan logam lain telah dimanfaatkan dalam penerapan yang sangat luas, contohnya digunakan untuk kabel listrik, konstruksi pabrik-pabrik kimia, kontainer dan memiliki kemampuan tinggi untuk tidak mengalami korosi (Palar, 2004). Hampir 10% dari total produksi tambang logam timbal digunakan untuk pembuatan *tetraethyl lead* atau TEL yang dibutuhkan sebagai bahan penolong dalam proses produksi bahan bakar bensin karena dapat mendongkrak nilai oktan bahan bakar sekaligus berfungsi sebagai *antiknocking* untuk mencegah terjadinya ledakan saat berlangsungnya pembakaran dalam mesin.

Timbal logam juga digunakan pada : pelindung kabel listrik; pembuatan pipa, tangki dan genting atap; sambungan penyekat, sebagai logam pelapis yang terpapar cuaca terutama air laut (timbal merah); pembuatan baterai penyimpanan asam timbal (plat akumulator); industri kimia untuk melapisi kontainer asam sulfat, panci pemanas, dll; pembentukan berbagai senyawa dengan timah dan tembaga pada industri cat dan amunisi; produksi pigmen timbal untuk cat dan vernis; serta pembuatan kaca pemantik dan pelapis bening. Tembikar

berglasir timbal dan serpihan cat timbal di rumah-rumah kuno adalah sumber paparan yang mungkin di lingkungan rumah (WHO, 2002).

### 2.2.3 Sumber Timbal (*Pb*)

Timbal lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya. Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan, pembersihan, dan berbagai penggunaannya dalam industri (Lu, 2006). Timbal terdapat secara universal dalam jumlah kecil pada batu-batuan, tanah dan tumbuhan. Logam timbal juga terdapat di perairan baik secara alamiah ataupun sebagai dampak dari aktifitas manusia. Logam ini masuk ke perairan melalui pengkristalan timbal di udara dengan bantuan air hujan. Di samping itu, proses korosifikasi dari batuan mineral akibat hempasan gelombang dan angin, juga merupakan salah satu jalur sumber timbal yang akan masuk ke dalam perairan (Palar, 2004).

Penggunaan utama dalam industri, misalnya sebagai zat tambahan bahan bakar dan pigmen timbal dalam cat, yang merupakan penyebab utama peningkatan kadar timbal di lingkungan, kini secara berangsur-angsur telah dihentikan. Tetapi penggunaan dalam aki mobil dan kabel tidak banyak berkurang. Air minum dapat tercemar cukup tinggi oleh timbal karena penggunaan pipa berlapis timbal dan pipa PVC. Bagi kebanyakan orang, sumber utama asupan timbal dalam makanan yang biasanya menyumbang 100-300  $\mu\text{g}/\text{hari}$  (Lu, 2006).

Serta sumber polusi timbal menurut Fasdiaz (2004) antara lain:

a. Asap kendaraan bermotor

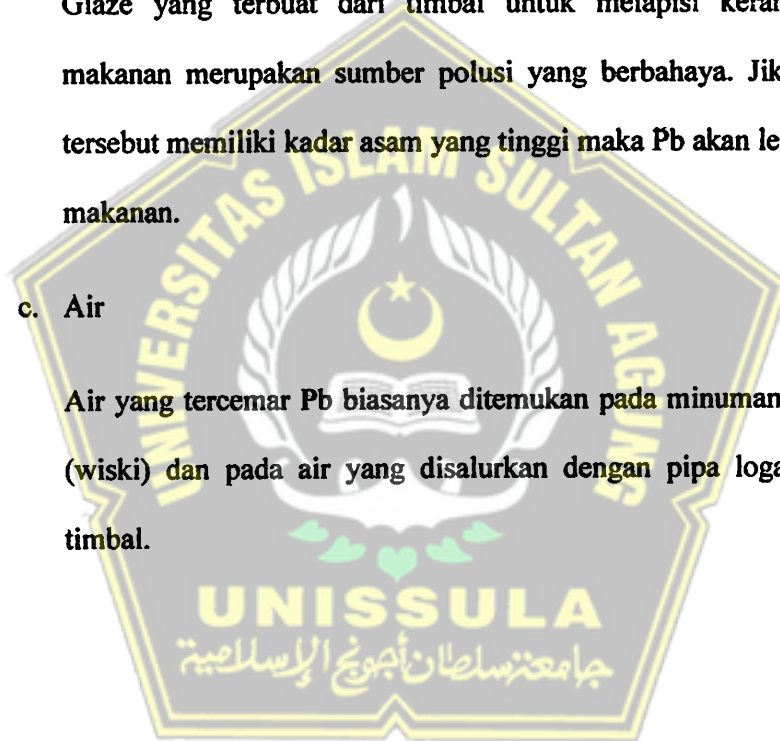
Dari asap mobil zat yang banyak terkandung antara lain Pb oksikarbonat, Pb oksida, Pb karbonat.

b. Glaze dari keramik pelapis wadah makanan

Glaze yang terbuat dari timbal untuk melapisi keramik wadah makanan merupakan sumber polusi yang berbahaya. Jika makanan tersebut memiliki kadar asam yang tinggi maka Pb akan lepas larut ke makanan.

c. Air

Air yang tercemar Pb biasanya ditemukan pada minuman beralkohol (wiski) dan pada air yang disalurkan dengan pipa logam berlapis timbal.



Tingkat sumber pencemaran Pb berdasarkan sektor kegiatan menurut Widowati (2004) dapat dilihat dengan tabel.1 berikut.

No.	Sektor	Total Pb (ton) berdasarkan pencemaran pada tahun 2002	Total Pb case (ton) urutan berdasarkan rata-rat per tahun
1.	Manufaktur	0,646	0,700
2.	Bangunan	0,379	0,417
3.	Transportasi dan komunikasi	0,351	0,367
4.	Jasa lainnya	0,255	0,281
5.	Listrik, gas, dan air	0,252	0,277
6.	Restoran, hotel, dan perdagangan	0,095	0,104

Sumber: Efek Toksik Logam, Widowati, 2007

#### 2.2.4 Bahaya Timbal (Pb)

Timbal (plumbum /Pb ) atau timah hitam adalah satu unsur logam berat yang lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya. Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan dan berbagai penggunaannya dalam industri. Keracunan dapat berasal dari timbal dalam mainan, debu di tempat

latihan menembak, pipa ledeng, pigmen pada cat, abu dan asap dari pembakaran kayu yang dicat, limbah tukang emas, industri rumah, baterai dan percetakan. Makanan dan minuman yang bersifat asam seperti air tomat, air buah apel dan asinan dapat melarutkan timbal yang terdapat pada lapisan mangkuk dan panci. Sehingga makanan atau minuman yang terkontaminasi ini dapat menimbulkan keracunan.

Kandungan timbal yang tinggi di lingkungan sangat berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Terdapat 3 macam limbah industri yaitu limbah padat, cair, dan gas. Apabila jumlah limbah yang terbuang sedikit lingkungan masih mampu menetralkan, maka belum akan membahayakan lingkungan. Apabila jumlah limbah *Pb* sudah di atas nilai ambang batas yang ditetapkan oleh *American Standard Technical Method (ASTM)*, yaitu  $Pb = 283,3 \text{ nm}$ , maka akan membahayakan dan merugikan kesehatan manusia serta lingkungan sekitar (Suprijono, 2001).

Semua bentuk senyawa logam *Pb* bersifat racun yang berbahaya bagi kesehatan. Organ tubuh yang banyak terkena keracunan adalah sistem saraf, jantung, ginjal, reproduksi, respirasi dan endokrin yang masing-masing akan memberikan efek yang berbeda (Palar, 2008).

Pekerjaan yang berisiko terpapar timbal antara lain peleburan dan pembuatan baterai, pengecatan, kerajinan pot, industri keramik,



pengecoran logam, tukang patri, sedangkan pencampur bahan bakar adalah pekerja yang menanggung risiko paparan terbesar (Anies, 2005).

Jika mengabsorpsi lebih dari 0,2,5 mg/hari akan terjadi akumulasi yang selanjutnya menyebabkan keracunan. Dosis fatal kira-kira 0,5 gr. Efek toksik timbal, terutama pada otak dan sistem saraf pusat. Akibat keracunan timbal adalah gangguan sistem saraf pusat, saluran cerna dan dapat juga timbul anemia (Sartono, 2001).

Timbal yang terserap oleh anak, walaupun dalam jumlah kecil, dapat menyebabkan gangguan pada fase awal pertumbuhan fisik dan mental yang kemudian berakibat pada fungsi kecerdasan dan kemampuan akademik. Anak perkotaan di negara berkembang memiliki risiko yang tinggi dalam keracunan timbal. Sistem syaraf dan pencernaan anak masih dalam tahap perkembangan, sehingga lebih rentan terhadap timbal yang terserap. Pada kadar rendah, keracunan timbal pada anak dapat menyebabkan penurunan IQ dan pemusatan perhatian, kesulitan membaca dan menulis, hiperaktif dan gangguan perilaku, gangguan pertumbuhan dan fungsi penglihatan dan pergerakan, serta gangguan pendengaran.

Pada kadar tinggi, keracunan timbal pada anak dapat menyebabkan: anemia, kerusakan otak, liver, ginjal, syaraf dan pencernaan, koma, kejang-kejang atau epilepsi, serta dapat menyebabkan kematian. Anak dapat menyerap hingga 50 persen

timbal yang masuk ke dalam tubuh, sedangkan dewasa hanya menyerap 10-15 persen. Anak dapat menyerap tiga kali dosis lebih besar dibandingkan orang dewasa karena memiliki perbandingan permukaan penyerapan dan volume yang lebih besar (Awati, 2009).

Sedangkan pada ginjal, timbal dapat mempengaruhi tubulus proksimal menyebabkan glukosuria, aminoasiduria dan hiperproteinemia (Priyanto, 2007).

#### **2.2.5 Faktor Resiko**

Para pekerja di peleburan dan pembuatan baterai penyimpan, tukang cat, perajin pot, pekerja industri keramik, pekerja pengecoran logam, tukang patri, dan pencampur bahan bakar adalah mereka yang menanggung resiko paparan terbesar (WHO,2002).

#### **2.2.6 Mekanisme Kerja Timbal (*Pb*) Masuk ke Dalam Tubuh**

Absorpsi. Timbal dan senyawanya masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi dan penelanan. Absorpsi melalui kulit hanya penting dalam hal senyawa organik, misalnya alkil timbal dan naftenal timbal (WHO,2002).

Partikel yang lebih kecil dari 10 $\mu$ m dapat tertahan di paru-paru sedangkan partikel yang lebih besar mengendap di saluran nafas bagian atas. Rata-rata 10-30% timbal yang terinhalasi diabsorpsi melalui paru-paru (WHO, 2002).

**Distribusi.** Timbal yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ lain. Sekitar 95% timbal dalam darah diikat oleh sel darah merah. Sebagian timbal plasma adalah dalam bentuk yang dapat berdifusi, diperkirakan dalam keseimbangan dengan *pool* timbal tubuh lainnya, yang dapat dibagi menjadi dua: jaringan keras (tulang, rambut, kuku dan gigi); dan jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, ginjal, hati, jantung, testis). Diperkirakan bahwa hanya timbal dalam jaringan lunak saja yang toksik secara langsung. Timbal jaringan keras tetap terikat erat pada jaringan (Anies, 2005). Timbal yang diabsorpsi lalu didistribusikan melalui darah, 95% timbal dalam darah diikat melalui sel darah merah. Sebagian timbal plasma adalah dalam bentuk yang mudah untuk berdifusi. Setelah itu oleh darah diangkut ke organ lain, diangkut ke jaringan keras maupun lunak. Timbal memiliki toksik secara langsung pada jaringan lunak sedangkan pada jaringan keras tetap terikat erat pada jaringannya (WHO, 2002).

**Ekskresi.** Timbal diekskresi lewat kemih (75-80%) dan feses (sekitar 15%). Bahkan setelah absorpsi sedang, timbal dengan cepat muncul dalam kemih. Tampaknya tubuh telah mencapai suatu keseimbangan antara absorpsi dan ekskresi, di mana jumlah timbal yang diekskresikan dalam kemih, feses, empedu, keringat, rambut dan kuku sesuai dengan jumlah yang diabsorpsi (WHO, 2002).

### 2.3 Hewan Coba

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar. Adapun taksonominya menurut Sharp (1998) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Animalia*  
Phylum : *Chordata*  
Class : *Mammalia*  
Ordo : *Rodentia*  
Subordo : *Myomorpha*  
Family : *Muridae*  
Genus : *Rattus*  
Species : *Rattus norvegicus*

Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang digunakan berumur antara 2– 3 bulan dengan berat 150 – 250 gram. Alasan tidak digunakannya tikus betina adalah karena pengaruh faktor hormonal pada tikus betina lebih besar daripada tikus jantan, sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian. Sedangkan alasan digunakannya tikus jantan berumur antara antara 2 – 3 bulan dengan berat 150 – 250 gram adalah karena pada tikus yang berumur 2- 3 bulan organ-organ dalam tubuhnya sudah terbentuk sempurna.

### 2.4 Pengaruh Timbal (*Pb*) terhadap Testis

Timbal (*Pb*) Asetat yang bersifat toksik terhadap organ reproduksi. Pada sistem reproduksi pria Timbal bisa menimbulkan penurunan libido, kerusakan fungsi testis dengan penurunan jumlah spermatozoa, kelainan motilitas dan

bentuk spermatozoa, kualitas sperma serta dapat menyebabkan atrofi testis. Hal ini bisa terjadi karena Timbal dapat memberikan pengaruh langsung terhadap sel spermatogenik dan juga bisa menghambat mekanisme kontrol hormonal gonad pada level hipotalamus hipofisis (Almarmudah, 2006). Timbal (*Pb*) dapat menyebabkan kelainan pada testis karena efek timbal pada mekanisme pratestikuler dan testikuler. Pada tingkat pretestikuler timbal yang tertimbun dalam darah dapat melewati sawar darah otak dan mengganggu metabolisme sel-sel saraf melalui penghambatan respirasi mitokondria sel saraf. Hambatan pada tingkat biokimiawi ini dapat menimbulkan gangguan pada poros hipotalamus-hipofisis-testis. Dengan terganggunya poros tersebut makanya menyebabkan terganggunya sekresi hormon-hormon hipofisis anterior yang penting dalam proses spermatogenesis yaitu FSH dan LH. Dengan adanya penurunan hormon-hormon tersebut dapat mengganggu proses spermatogenesis pada testis (Yuniar, 2009).

Pemberian (*Pb*) dosis tinggi pada pria akan melemahkan fungsi reproduksi, hal ini di buktikan dengan bertambahnya frekuensi asthenospermia, hipospermia, dan teratospermia. Pengaruh timbal terhadap alat reproduksi jantan terutama pada tingkat spermatogenesis yaitu: spermatosit, spermatid, atau spermatozoa, sehingga tidak terjadi kematangan sperma. Juga berpengaruh langsung pada kerusakan sel reproduksi, sel leydig, sel sertoli, dan adenohipophise yang dapat mengakibatkan azoospermia (Suprijono, 2001).

Timbal (*Pb*) yang masuk ke dalam jaringan akan berikatan dengan gugus sulfhidril ( $\text{SH}^-$ ) dan akan mengendap dan ditimbun dalam sel Leydig dan mengalami endositosis dan juga terjadi kebocoran-kebocoran, sehingga timbal (*Pb*) akan bereaksi dengan asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) di dalam sitosol dan akan menghasilkan *Pb* fosfat dan air. Timbal (*Pb*) fosfat bersama dengan asam fosfat di jaringan akan mempengaruhi proses oksidatif fosforilasi menjadi turun dan pembentukan adenosin trifosfat (ATP) yang berasal dari reaksi ADP dengan fosfat yang menurun. ATP yang menurun menyebabkan sintesis protein dan transpor aktif menurun yang akan berpengaruh terhadap perubahan keasaman yang mengakibatkan lisosom menjadi ruptur dan terjadi pelepasan enzim lisosomal. Akibat lainnya adalah peningkatan tekanan osmotik, yang menyebabkan sel menjadi bengkak dan akhirnya lisis.

Pemberian *Pb* dalam air minum dalam konsentrasi 0 – 1000 ppm selama 7 minggu akan menyebabkan pengecilan hepar, vesikula seminalis, duktus epididimis dan penurunan jumlah sperma binatang percobaan. Apabila konsentrasi pemberian *Pb* ditingkatkan dan lama pemberian diperpanjang maka akan terlihat perubahan histologi yang lebih nyata (Suprijono, 2001).

Wujud efek toksik berupa perubahan gangguan biokimiawi, fungsional, atau struktural suatu sel. Contoh dari perubahan struktural adalah degenerasi dan nekrosis. Perubahan pada sel testis yang terjadi yaitu:



## 1. Degenerasi

Degenerasi merupakan perubahan bentuk atau jaringan ke bentuk yang lebih rendah atau kurang aktif fungsinya, degenerasi dapat terjadi pada inti maupun sitoplasmanya. Tingkat degenerasi sel antara lain :

### a. Degenerasi bengkak keruh (pembengkakan sel)

Pembengkakan sel adalah manifestasi yang pertama terjadi dari hampir semua bentuk jejas sel, muncul setiap sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ionik dan cairan. Perubahan ini ditandai oleh adanya sel-sel yang membengkak disertai sitoplasma yang bergranula (berbutir-butir) sehingga jaringan nampak keruh. Alat tubuh yang terkena menjadi besar, padat dan pucat. Perubahan kemunduran ini hampir selalu reversibel.

### b. Degenerasi hidropik atau degenerasi vakuoler

Pada degenerasi hidropik, edema intra seluler lebih mencolok daripada degenerasi bengkak keruh. Meskipun juga masih reversibel, tetapi menunjukkan kerusakan yang lebih keras, intensitasnya lebih dan jangka waktunya lebih lama. Pembengkakan tidak hanya terjadi pada endoplasmik retikulum dan mitokondria tetapi air juga mengumpul dalam rongga-rongga sel. Mikroskopik tampak vakuol-vakuol yang jernih tersebar dalam sitoplasma. Kadang-kadang vakuol kecil-kecil bersatu membentuk vakuol lebih besar sehingga inti sel terdesak ke pinggir.

### c. Perlemakan

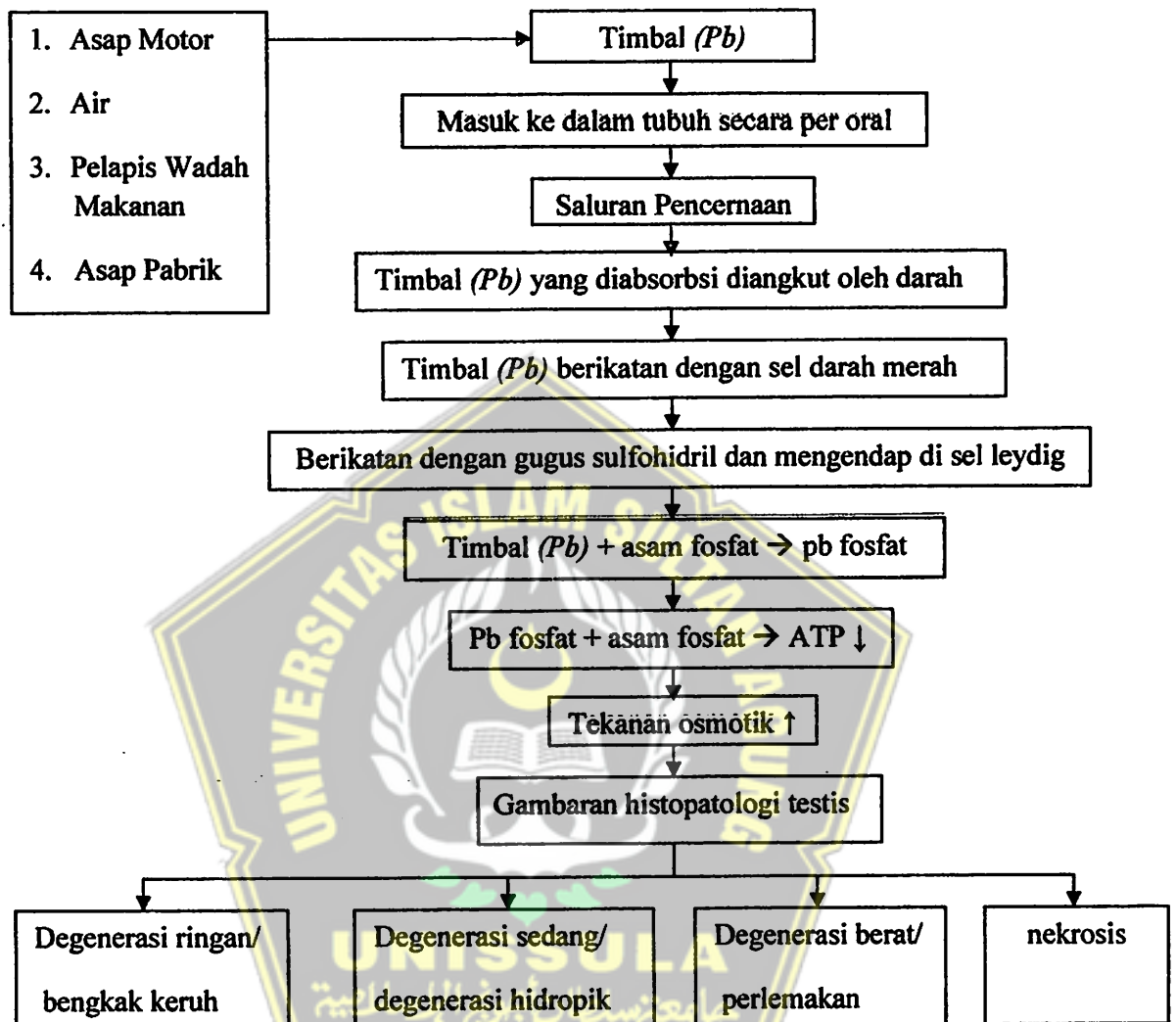
Perubahan kemunduran ini menunjukkan bahwa di dalam sel parenkim terdapat pengumpulan lemak secara abnormal. Perlemakan terjadi pada jejas hipoksik dan berbagai bentuk jejas toksik atau metabolik, bermanifestasi dengan munculnya vakuola lipid dalam sitoplasma. Perlemakan merupakan reaksi yang kurang sering terjadi, terutama ditemukan pada sel yang berperan dalam metabolisme lemak dan juga bersifat reversibel.

## 2. Nekrosis

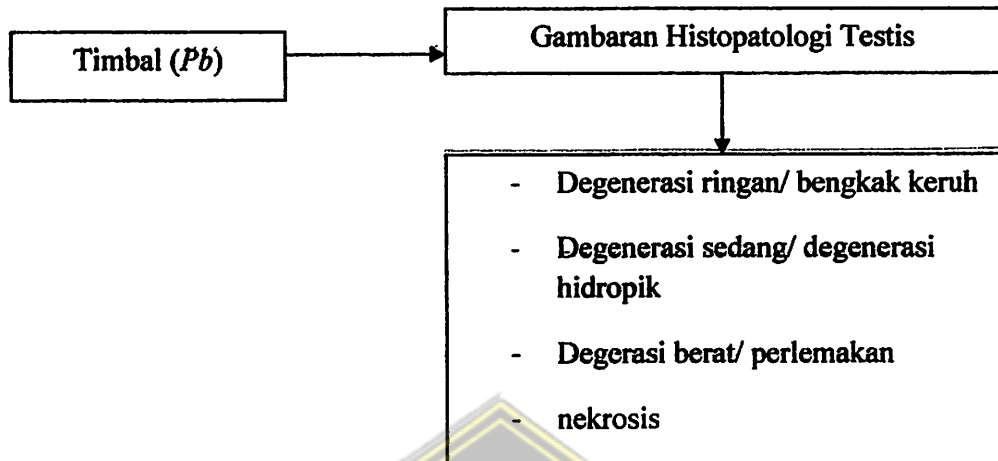
Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada tubuh yang hidup. Pada nekrosis perubahan terutama tampak pada inti, berbeda dengan degenerasi yang perubahannya hanya terdapat pada sitoplasma. Perubahan inti diantaranya adalah :

- a. Hilangnya gambaran kromatin
- b. Inti menjadi keriput, tidak vesikuler lagi
- c. Inti tampak lebih padat dan warnanya gelap hitam (piknotik)
- d. Inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (kariorexis)
- e. Inti tidak lagi mengambil warna banyak karena itu pucat, tidak nyata (kariolisis) (Robbin, 2007).

## 2.5 Kerangka Teori



## 2.7 Kerangka Konsep



## 2.8 Hipotesis

Pemberian timbal (*Pb*) per oral berpengaruh terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar.



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan : ” *Post test randomized control group design*”

#### 3.2 Variabel dan Definisi Operasional

##### 3.2.1 Variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah Timbal (*Pb*).

b. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini ialah gambaran histopatologi testis.

##### 3.2.2 Definisi Operasional

a. Pemberian timbal (*Pb*) per oral

Adalah pemberian timbal (*Pb*) per oral dengan menggunakan sonde, berupa serbuk berwarna putih yang dilarutkan dengan aquadest 1 ml, dengan pemberian dosis masing - masing

perlakuan adalah 2,5 mg; 5 mg dan 7,5 mg, 10 mg selama 30 hari, satu kali per hari.

Skala data : Rasio.

#### b. Gambaran histopatologi Testis

Adalah perubahan gambaran histopatologi yang terjadi pada testis tikus putih jantan galur wistar, berupa gambaran secara mikroskopik sehingga dapat dilihat degenerasi dan nekrosis pada sel-sel testis. Tingkat kerusakan jaringan dihitung rata-rata jumlahnya, yang dilakukan 3 kali lapang pandang per slide. Satu lapang pandang berjumlah 40 sel, pada obyek penelitian setiap tikusnya dengan perbesaran 400 kali.

Untuk melihat ada tidaknya degenerasi dan nekrosis yang terjadi pada sel-sel testis berdasarkan kriteria sebagai berikut:

- 1 : Normal
- 2 : Ringan (degenerasi bengkak keruh / pembengkakan sel)
- 3 : Sedang (degenerasi hidropik atau degenerasi vakuoler)
- 4 : Berat (perlemakan)
- 5 : Nekrosis (adanya sel nekrosis) (Robbin, 2007).

Skala data : Ordinal.



### 3.3 Populasi dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini ialah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dikembangbiakan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang berjumlah 40 ekor.

#### 3.3.2 Sampel

Sampel berupa tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan dalam berat 150-250 gram. Besar sampel ideal menurut kriteria WHO minimal 5 ekor atau lebih (Kusumawati, 2004). Dengan demikian jumlah tikus jantan semua kelompok uji secara keseluruhan adalah 25 ekor, kemudian dibagi dalam 5 kelompok.

##### 3.3.2.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus jantan galur wistar berumur 2-3 bulan (Kusumawati, 2004)
- b. Berat 150-200 gram (Kusumawati, 2004)
- c. Tikus yang tidak cacat secara anatomi

##### 3.3.2.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang sakit.

Dalam hal ini jumlah tikus putih jantan yang diperkirakan sudah sesuai dengan jumlah tikus putih menurut kriteria WHO. Dengan demikian proses penelitian dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya.

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :**

- a. Kandang tikus, timbangan, mikroskop dan oven
- b. Gelas ukur dan pengaduk dari kaca
- c. Sonde oral
- d. Alat pemotong jaringan (mikrotom), kaca obyek dan deck glass
- e. Pencetak blok jaringan dan tabung penyimpanan

#### **3.4.2 Bahan yang digunakan adalah :**

- a. Serbuk timbal (*Pb*) nitrat dan aquades
- b. Tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan
- c. Zat pewarna hematoksilin eosin dan larutan emersi
- d. Alkohol 70%, 85%, 90%, 100%
- e. Karbol xylol, xylol lilin, dan xylol pembersih
- f. Formalin, aceton, parafin cair dan balsem kanada
- g. Larutan zoutzure 70% yang dibuat dengan campuran alkohol 100%

### 3.5 Cara Penelitian

#### 3.5.1 Dosis timbal (*Pb*)

Dosis pemberian timbal (*Pb*) sesuai dengan penelitian Luthfiah (2006), yang menyatakan bahwa dengan dosis 25 mg/kgBB/hari telah menyebabkan perubahan histopatologi dalam 30 hari percobaan.

Adapun dosis timbal (*Pb*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Dosis keracunan timbal (*Pb*) adalah 25 mg/kgBB/hari.
- b. Dosis timbal (*Pb*) untuk 1 ekor tikus (200 gram)
  - = 25 mg/kgBB/hari
  - = 25 mg/1000 g/hari
  - = 5 mg/200 g/hari
- c. Volume pemberian timbal (*Pb*) per oral untuk 1 ekor tikus = 5 mg/hari.

#### 3.5.2 Cara kerja penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan hewan uji berupa tikus putih jantan galur wistar sebanyak 25 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok uji secara acak. Pengelompokan tikus sebagai berikut :

a. Kelompok I

Terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur wistar yang mendapatkan perlakuan pemberian 2 ml aquades per oral selama 30 hari lalu diperiksa histopatologinya.

b. Kelompok II

Terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur wistar yang mendapatkan perlakuan pemberian timbal (*Pb*) sebanyak 2,5 mg dalam 2 ml aquadest dengan per oral selama 30 hari lalu diperiksa histopatologinya.

c. Kelompok III

Terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur wistar yang mendapatkan perlakuan pemberian timbal (*Pb*) sebanyak 5 mg dalam 2 ml aquadest per oral selama 30 hari lalu diperiksa histopatologinya.

d. Kelompok IV

Terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur wistar yang mendapatkan perlakuan pemberian timbal (*Pb*) sebanyak 7,5 mg dalam 2 ml aquadest per oral selama 30 hari lalu diperiksa histopatologinya.

e. Kelompok V

Terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur wistar yang mendapatkan perlakuan pemberian timbal ( $Pb$ ) sebanyak 10 mg dalam 2 ml aquadest per oral selama 30 hari lalu diperiksa histopatologinya

**3.5.3 Cara Pembuatan Preparat Jaringan dengan Pewarnaan Hematoksin Eosin (HE)**

Adapun cara pembuatan preparat jaringan dengan pewarnaan HE adalah sebagai berikut:

- 1) Sediaan jaringan yang didapat kemudian diukur secara makroskopik lalu dipotong basah yakni pemotongan jaringan tersebut dengan pemotongan langsung.
- 2) Setelah pemotongan basah dari jaringan tersebut, difiksasi dengan larutan formalin 10% dengan waktu kira - kira 24 jam.
- 3) Preparat dikeluarkan dari larutan formalin 10% dikeringkan lalu direndam air selama 15 sampai 30 menit, dengan tujuan menghilangkan formalin yang masih melekat.
- 4) Setelah 15 – 30 menit direndam air kemudian diganti dengan larutan aceton I, II, dan III selama kira – kira 1 jam dalam setiap larutan aceton.

- 5) Kemudian dimasukkan ke dalam oven yang telah diisi parafin cair I, II, III dengan pemanasan  $60^{\circ}$  Celcius selama 1 jam dalam setiap cairan parafinnya.
- 6) Sediaan dapat dibuat cupe dalam potongan parafin cair ditunggu hingga membeku.
- 7) Potongan tersebut dipotong dengan mikrotom dengan tebal irisan yang biasa dipergunakan adalah  $4^{\mu}$ m.

Cara kerja mikrotom:

- a. Preparat yang telah dimasukkan ke dalam parafin (potongan jaringan) diletakkan pada alat pemegang atau perekat dengan metode pemanasan.
  - b. Alat mikrotom disiapkan untuk pemotongan jaringan (biasanya dipergunakan ketebalan  $4 \mu\text{m}$ ).
  - c. Kemudian alat penarik turun jaringan dijalankan sehingga potongan jaringan akan terpotong dan dapat diambil bagian jaringan yang terpisah dari blok parafin.
- 8) Potongan tadi dimasukkan ke dalam air hangat kuku agar tidak melipat dan mengembang sehingga mudah dibuat preparat.
  - 9) Potongan jaringan yang sudah dimasukkan ke dalam air, diambil dengan menggunakan kaca obyek yang sebelumnya telah dilapisi putih telur sebagai perekat jaringan. Agar jaringan dapat diambil/terekat pada kaca obyek.



- 10) Setelah jaringan merekat pada objek glass maka lapisan parafin yang masih melekat dihilangkan dengan memanaskan di atas lampu spirtus kemudian didinginkan.
- 11) Setelah dingin, jaringan yang sudah melekat pada objek glass dimasukkan ke dalam xylol lilin I, II, dan III selama kurang lebih 30 menit lalu dikeringkan.
- 12) Kemudian dimasukkan ke dalam larutan alkohol 100% I, II, III, dengan menaik turunkan preparat namun tidak diperbolehkan preparat tersebut tergesek pada dinding gelas sekitarnya agar preparat tidak rusak.
- 13) Kemudian dimasukkan ke dalam air, lalu dimasukkan ke dalam larutan cat hematoksilin selama kira – kira 5 menit.
- 14) Dimasukkan ke dalam air kemudian dicelupkan ke dalam larutan zoutzure 70% (terdiri atas alkohol 100% sebanyak 76 cc ditambah aquadest sebanyak 24 cc dengan Hcl 1 cc) yang fungsinya adalah meratakan dari cairan tersebut.
- 15) Dimasukkan ke dalam air lagi lalu dikeringkan kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 96% lalu dimasukkan ke dalam alkohol 70%.
- 16) Setelah itu dimasukkan ke dalam cairan eosin selama 1 menit.
- 17) Masukkan ke dalam alkohol 70% kemudian alkohol 85% kemudian masukan ke dalam alkohol 96% dan keringkan.

- 18) Masukkan dalam xylol, kemudian xylol pembersih I, II, dan III kira – kira 1 jam untuk meratakan zat pewarna lalu keringkan.
- 19) Kemudian ditutup dengan cairan Kanada balsem, beri minyak emersi tutup dengan deck glass dan siap dilihat di bawah mikroskop (Tjarta, 1992).

### **3.6 Tempat dan waktu**

#### **3.6.1 Tempat**

Tempat penelitian dan perlakuan pada hewan coba bertempat di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) selama 30 hari. Tempat pembuatan preparat dan analisa histopatologi testis bertempat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA)

#### **3.6.2 Waktu**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret - April 2011.

### **3.7 Analisis Data**

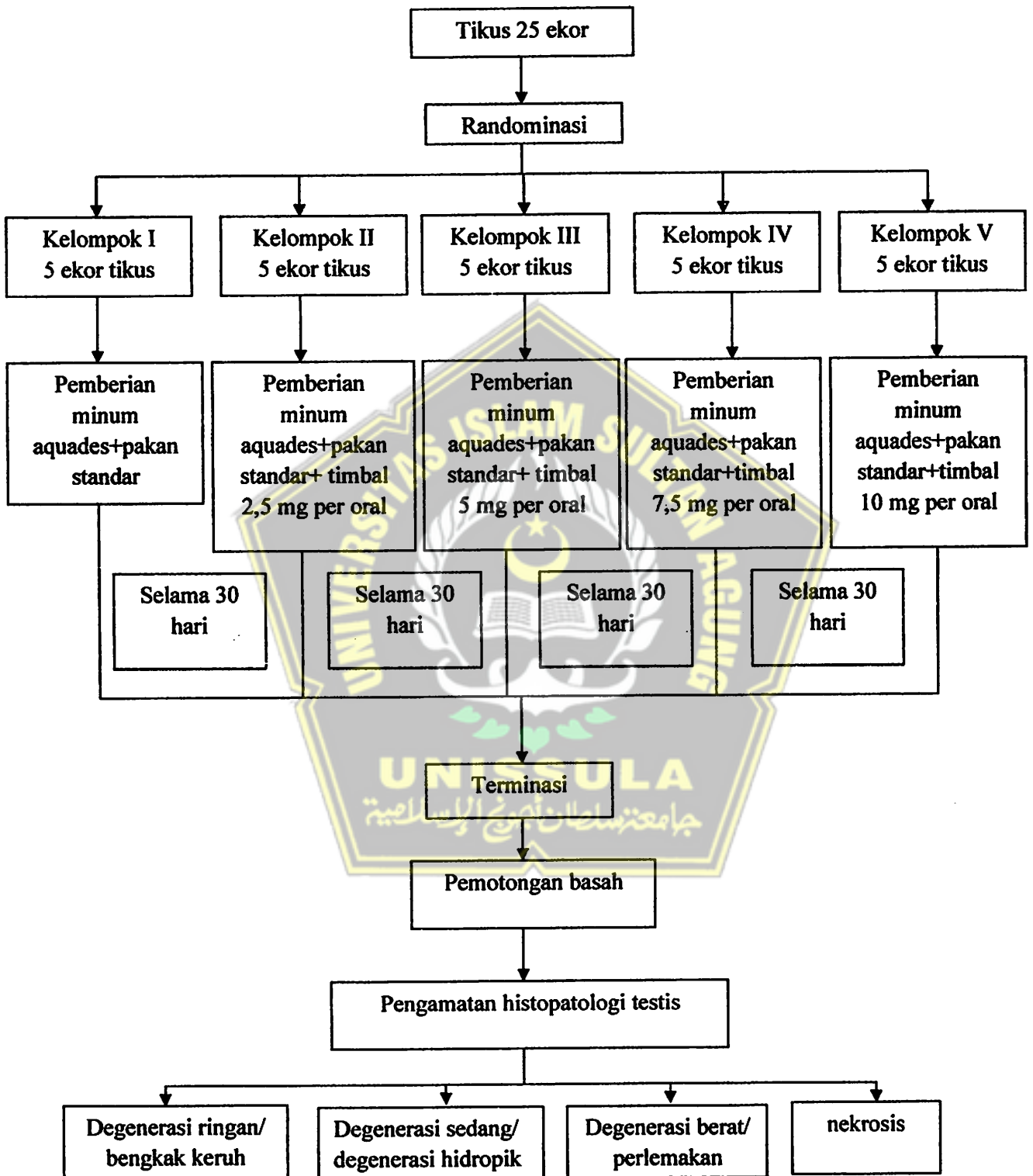
Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan histopatologi, untuk mengetahui gambaran histopatologi testis. Data yang diperoleh dilakukan Pengolahan data meliputi editing, coding, entry, dan counting. Analisis data hasil penelitian disajikan secara deskriptif dengan menggunakan nilai rata-rata (mean). Untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal (*Pb*) per oral

terhadap testis secara histopatologi pada tikus putih jantan galur wistar, maka dilakukan uji anova satu arah atau *One Way Anova*, yang terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dengan *shapiro-wilk* dan uji homogenitas dengan *levne statistic*. Bila syarat *uji anova* terpenuhi yaitu data berdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan *uji Anova*. Jika hasil dari *uji Anova* terjadi perbedaan bermakna yaitu  $< 0,05$  dilanjutkan dengan *uji Post Hoc* dengan menggunakan *uji Bonferroni*.

Jika syarat *uji Anova* tidak terpenuhi, maka dilakukan *uji Kruskal-Wallis*. Jika hasil dari *uji Kruskal-Wallis* terjadi perbedaan bermakna yaitu  $< 0,05$  dilanjutkan dengan *uji Mann-Whitney U* (Dahlan, 2004).



### 3.8 Alur Penelitian



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan berjumlah 25 ekor tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), berumur 2 bulan dengan berat badan 200-250 gram. Kemudian dilakukan random sampling dan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K1) dan 4 kelompok perlakuan (K2, K3, K4, K5). Jumlah sampel masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor tikus, dan tidak ada sampel yang dieksklusi selama penelitian. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara randomisasi, yang bertujuan agar tidak ada perbedaan dalam pembagian, baik berat badan maupun kondisi tikus tersebut.

Masing-masing kelompok uji mendapat perlakuan yang berbeda-beda sesuai dengan alur penelitian. Penelitian yang dilaksanakan bersifat eksperimen yang berlangsung selama 30 hari dengan menggunakan rancangan penelitian *post test randomized control group design*. Pada hari ke 31 tikus diterminasi dan diperiksa gambaran histopatologi testisnya.

Dari gambaran histopatologi didapatkan data jumlah kerusakan sel yang akan di hitung rata-rata jumlahnya, yang dilakukan 3 kali lapang pandang per slide dengan satu lapang pandang berjumlah 40 sel seperti dalam lampiran 1.

Setelah itu, dilakukan uji beda untuk lebih dari dua kelompok yang saling berhubungan (bebas) menggunakan uji One Way Anova. Syarat dari uji *One Way Anova* adalah data berdistribusi normal dan homogen jika  $p > 0,05$ . Maka perlu dilakukan uji normalitas dengan metode *Kolmogorov-Smirnov*. Pada uji normalitas menunjukkan signifikansi *Kolmogorov-Smirnov* normal. Sedangkan uji homogenitas dapat dilihat dengan metode *Lavene Test*. Pada uji homogenitas menunjukkan signifikansi *Levene Test* menunjukkan data tidak homogen 0,000 ( $p < 0,05$ ). Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa distribusi data normal dan tidak homogen, maka uji statistik yang digunakan adalah analisis varian satu arah *Kruskal-Walis*. Oleh karena itu perlu diketahui nilai maksimum dan minimum, standar deviasi dan rerata jumlah kerusakan sel testis tersebut dapat dilihat dalam tabel sebagai berikut:

**Tabel 2. Median dan nilai minimum-maximum masing-masing kelompok**

Kelompok Perlakuan	Jumlah sel testis yang rusak		
	Rerata	Standar Deviasi	Nilai Minimum-Maximum
Kelompok 1 (kontrol)	1	0	0
Kelompok 2	1	0	0
Kelompok 3	1	0	0
Kelompok 4	1,016	0,0255	1-1,058
Kelompok 5	1,044	0,0125	1,025-1,058



Hasil uji statistik analisis *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,001 ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya dilanjutkan uji post hoc *Mann-Whitney* untuk mengetahui secara pasti kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan bermakna. Berikut ini adalah hasil dari uji tersebut:

**Tabel 4. Nilai P dari Uji Mann-Whitney kerusakan sel testis pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi timbal per oral.**

Pasangan kelompok	P	Keterangan
K1 dan K2	1,00	Tidak bermakna
K1 dan K3	1,00	Tidak bermakna
K1 dan K4	0,136	Tidak bermakna
K1 dan K5	0,005	Beda Bermakna
K2 dan K3	1,00	Tidak bermakna
K2 dan K4	0,136	Tidak bermakna
K2 dan K5	0,005	Beda bermakna
K3 dan K4	0,136	Tidak bermakna
K3 dan K5	0.005	Beda bermakna
K4 dan K5	0,109	Tidak bermakna

**Keterangan:**

**K1: Kelompok Kontrol**

**K2: Kelompok dengan dosis timbal 2,5 mg/hari**

**K3: Kelompok dengan dosis timbal 5 mg/hari**

**K4: Kelompok dengan dosis timbal 7,5 mg/hari**

**K5: Kelompok dengan dosis timbal 10 mg/hari**

Dari tabel tersebut dapat dilihat adanya perbedaan yang bermakna kerusakan sel testis yaitu antara K1-K5 (0,005), K2-K5 (0,005), dan K3-K5 (0,005).

#### **4.2 Pembahasan**

Hasil penelitian dari kelima kelompok uji secara patologi anatomi, didapatkan sel testis masih dalam keadaan normal atau belum ada jumlah kerusakan sel testis pada ke empat kelompok yaitu kelompok I, kelompok II, kelompok III, dan kelompok IV. Sedangkan hasil penelitian kelompok V menunjukkan bahwa timbal (*Pb*) dapat mengakibatkan perubahan gambaran histopatologi testis. Perubahan gambaran histopatologi testis menunjukkan adanya kerusakan sel testis yang berupa terjadi pembengkakan sel pada proses degenerasi ringan atau degenerasi bengkak keruh.

Hasil analisa dengan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian timbal (*Pb*) dengan dosis bertingkat per oral selama 30 hari dapat mengakibatkan

timbulnya perbedaan kerusakan sel berupa pembengkakan sel testis tikus jantan galur wistar yang bermakna ( $P=0,05$ ) pada kelompok V (KI-KV, KII-KV, dan KIII-KV). Sedangkan pada kelompok KIV-KV tidak ada perubahan yang bermakna karena pada kelompok ini masih terdapat sel yang normal dan ada sel yang mengalami pembengkakan sel atau degenerasi bengkak keruh.

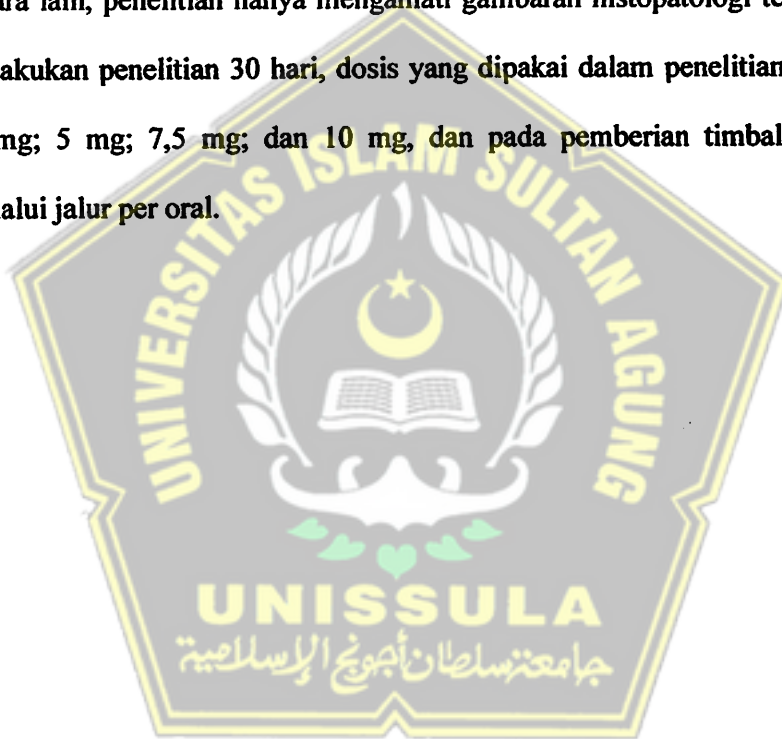
Menurut hasil penelitian sebelumnya Bambang Hariono, 2005, pemberian senyawa plumbum asetat netral 0,5 g/kg BB/oral/hari/tikus selama 16 minggu tidak menyebabkan gejala saraf, namun mengakibatkan anemia disertai penurunan berat badan, selain itu juga dilaporkan bahwa akumulasi timbal (*Pb*) ditemukan akumulasi tertinggi berturut-turut pada ginjal, hati, otak, paru-paru, otot jantung dan testis. Pada penelitian ini pemberian timbal asetat dosis 2,5mg, 5mg, 7,5mg, dan 10mg selama 30 hari, hanya terjadi perubahan histopatologi sel testis pada dosis 10mg. Hal ini menunjukkan bahwa timbal (*Pb*) bersifat komulatif dan memerlukan waktu yang lama untuk menimbulkan gangguan keracunan yang kronis.

Berdasarkan penelitian Luthfiah, 2006, pemberian timbal (*Pb*) per oral selama 14 hari dengan dosis 25 mg/kgBB/hari, 50 mg/kgBB/hari, dan 75 mg/kgBB/hari menunjukkan adanya pengaruh timbal (*Pb*) terhadap perubahan gambaran histopatologi hepar mencit.

Berdasarkan penelitian Almarmudah, 2009, pemberian timbal (*Pb*) asetat per oral selama 14 hari dengan dosis 25 mg/kgBB/hari, 50 mg/kgBB/hari, 75 mg/kgBB/hari dan 100 mg/kgBB/hari menunjukkan adanya

pengaruh timbal (*Pb*) terhadap perubahan gambaran histologi jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli mencit jantan. Hal ini menunjukkan bahwa timbal (*Pb*) dapat mempengaruhi sel sperma dan sel sertoli mencit jantan namun tidak terlalu menunjukkan adanya kerusakan sel testis pada tikus jantan walaupun dengan dosis sama dan waktu yang lebih lama.

Dalam melakukan penelitian ini terdapat keterbatasan yang dilakukan antara lain, penelitian hanya mengamati gambaran histopatologi testis, waktu melakukan penelitian 30 hari, dosis yang dipakai dalam penelitian ini adalah 2,5mg; 5 mg; 7,5 mg; dan 10 mg, dan pada pemberian timbal dilakukan melalui jalur per oral.



## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

Dari uraian hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil simpulan sebagai berikut :

5.1.1 Pemberian timbal (*Pb*) per oral berpengaruh terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) pada pemberian dosis 10mg.

5.1.2 Pemberian timbal (*Pb*) per oral dengan dosis 2,5mg, 5mg, dan 7,5mg selama 30 hari tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*).

Pemberian timbal (*Pb*) per oral dengan dosis 10mg selama 30 hari berpengaruh terhadap histopatologi ginjal tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*).

#### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian diatas :

Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai efek timbal (*Pb*) dengan waktu yang lebih lama, variasi dosis yang lebih banyak, atau pemberian timbal lewat jalur selain oral.



## DAFTAR PUSTAKA

- Almarmudah, 18 September 2006. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Asetat Peroral Terhadap Berat Testis, Diameter, dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan. <http://www.lib.unair.ac.id/gdlhub-gdl-s2-2006-almarmudah-2038>. Dikutip tanggal 15 Oktober 2010
- Anies, 2005, *Seri Kesehatan Umum Penyakit Akibat Kerja*, PT Elex Media Komputindo, Gramedia, Jakarta, 55-56.
- Anonim, 2 Maret 2008. *Timbal Oksida*. Dalam: <http://emildatuak.multiply.com/timbaloksida/> Dikutip tanggal 4 Maret 2010.
- Anonim, 5 Januari 2004. Beberapa Hal Penting tentang Timbal dan Keracunan Timbal. Dalam: <http://ecoton.or.id/timbaldankeracunantimbal/>. Dikutip 4 Maret 2010.
- Awati, 10 November 2009. *Bahaya Timbal bagi Kesehatan*. Dalam: <http://awati.wordpress.com/2009/11/10/bahaya-timbal-bagi-kesehatan/>. Dikutip tanggal 10 Maret 2010.
- Dahlan, S., 2004, *Seri Statistik: Statistik untuk kedokteran dan Kesehatan Uji Hipotesis dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam*, Arkan, Jakarta, 155-156.
- Dorland, 2003, *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, Saunders, Philadelphia, 840.
- Fasdziaz, 2004, *Pollusi Air dan Udara*, Kanisius, Jakarta, 58-65.
- Foa, A. 2004. Pengaruh Pemberian Etanol Peroral terhadap Gambaran Histologi Sel-Sel Spermatogenik dan Sel Leydig pada Tikus Putih. Universitas Airlangga. <http://www.unair.ac.id>. Diakses tanggal 2 Maret 2011.
- Guyton, A., 2007, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 11, EGC, Jakarta, 107.
- Hamadouche NA, Slimani M, Boudia B, C Zaoui, 2009, Reproductive Toxicity of Lead Acetat in Adult Male Rats, *American Journal of Scientific Resarch* 3, 38-50
- Hariono, B., 2005, *Efek Pemberian Plumbum (Timah Hitam) Anorganik pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*, J. Sain Vet Vol 23 No. 2 Th. 2005, Bagian Patologi Klinik FKH UGM, Yogyakarta, 107-108.
- Kusumawati, 2004, *Bersahabat dengan Hewan Coba*, Gajahmada University Press, Yogyakarta, 8, 70, 80.



- Lu, F., 2006, *Toksikologi Dasar*, Edisi Kedua, Universitas Indonesia, Jakarta, 187-201, 352-361.
- Luthfiah, S., 15 September 2006. *Pengaruh Pemberian Plumbum (Pb) Asetat Peroral terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Mencit (Mus Musculus) Penelitian Eksperimental Laboratorik*. Dalam: <http://www.lib.unair.ac.id/gdlhub-gdl-s2-2006-luthfiahs-2068>. Dikutip tanggal 28 Februari 2010.
- Palar, H., 2008, *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Cetakan 4, Rineka Cipta, Jakarta, 30-32.
- Paparo, 2001, *Buku Ajar Histologi*, Cetakan 9, EGC, Jakarta, 511-525.
- Permana, 2003, *Hubungan antara Paparan Timbal kronik dengan Anemia pada Usia 5-10tahun*, FK UNDIP, Semarang, 1-3.
- Priyanto, 2007, *Toksitas obat, zat kimia dan terapi antidotum*, Leskonfi, Jakarta, 39.
- Robbin, 2007, *Buku Ajar Patologi Robbins Volume 2*, Edisi 7, EGC, Jakarta, 408-412,430-433.
- Sabki, 2002, *Hubungan Lama Kerja, Masa Kerja, dan Lokasi Kerja dengan Kadar Timbal dalam Urin Petugas Pencatat Waktu Angkutan Kota Jogjakarta [Tesis]*, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 35
- Sartono, 2001, *Racun & Keracunan*, Widya Medika, Jakarta, 210-211.
- Sharp, Patrick E., Marie C.LaRegina, 1998, *The Laboratory Rat*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1.
- Suprijono, dkk., 2001, *Kerusakan sel-sel Reproduksi dan Pemurunan Jumlah Anak Tikus Putih Jantan Galur Swiss Akibat Paparan Timah Hitam Per Oral*, M Med Indonesiana, Vol. 36 No. 2, Th. 2001, 61-66.
- Tjarta, A., 1992, *Prosedur Baku Pemeriksaan Patologi Anatomi*, FK UI, Jakarta.
- Widowati, 2007, *Efek Toksik Logam*, Penerbit Andi, Jakarta, 109-126
- WHO, 2002, *Deteksi Dini Penyakit Akibat Kerja*, EGC, Jakarta, 86-87, 244-245.
- Yuniar, C, 2010, *Pengaruh Timbal (Pb) pada Udara Jalan Tol Terhadap Gambaran Mikroskopis Testis dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Mencit Balb/C Jantan*. <http://www.undip.ac.id>. Diakses tanggal 18 Mei 2011.