LEAD POISONING IN ANIMALS
ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN Pb ASETAT PERORAL TERHADAP DIAMETER SERAT SARAF, DIAMETER AKSON DAN KETEBALAN MIELIN N.ISCHIADICUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TKD 14/06
E 1

Oleh :

ULFA ELFIAH

090314981 M

PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005

MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENGARUH PEMBERIAN Pb ASETAT PERORAL TERHADAP DIAMETER SERAT SARAF, DIAMETER AKSON DAN KETEBALAN MIELIN N.ISCHIADICUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

ULFA ELFIAH

090314981 M

PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005

Lembar pengesahan

TESIS TELAH DISETUJUI
TANGGAL: 30 Agustus 2005

Oleh
Pembimbing ketua

dr.H.Abdoel Khamid I,MS

NIP.130 541 811

Pembimbing

Prof.dr.H.Ari Gunawan,MS.,Ph.D

NIP.130 531 759

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga

Prof.dr.Retno Handayani,MS,PhD
NIP. 130 541 984

Halaman Penetapan Panitia Penguji Tesis

Ketua : dr.Sudibyo,MS

Anggota : dr.H.Abdoel Khamid I,MS

Prof.dr.H.Ari Gunawan,MS.,Ph.D

dr.Subagyo,MS

drh.Chairul Anwar,Ms

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rakhmat dan hidayahNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih yang tak terhingga kepada dr.H.Abdoel Kamid,MS selaku pembimbing ketua dan Prof. dr. H. Ari Gunawan,MS.,PhD yang penuh perhatian dan kesabaran dalam memberikan dorongan , bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terima kasih pula kepada drh.H.Chairul Anwar,MS yang selalu ikhlas membantu setiap saat sehingga meringankan beban dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini , perkenanlah saya juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr Med. H. Puruhito, dr, SpBTRV atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister.
- Direktur Program Pasca Sarjana Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr dan seluruh jajaran stafnya, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof.Dr.dr H.M.S. Wiyadi, Sp THT dan seluruh jajaran stafnya yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti program Magister.
- Seluruh dosen Bagian Anatomi Histologi yang sudah memberikan banyak ilmu pengetahuan yang tak ternilai harganya selama saya menempuh pendidikan program Magister.
- Mantan Rektor Universitas Jember Prof. Dr. Kabul Santoso dan Rektor Universitas Jember Ir. Sutikto, PhD yang sudah memberikan ijin bagi saya untuk menambah ilmu dengan menempuh S2 di UNAIR
- Ketua PSPD Universitas Jember dr.Wasis Prayitno,SpOG beserta seluruh stafnya yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk dapat meneruskan pendidikan saya.

- Suami dan anak saya tercinta yang selalu memberikan semangat, inspirasi bagi saya setiap waktu untuk dapat menyelesaikan pendidikan program Magister.
- Aba yang terhormat, papa mama mertua yang terhormat, saudara dan sahabat–sahabat saya yang tidak dapat saya sebut satu persatu terima kasih atas doanya.
- Nenek saya tercinta yang tidak pernah putus asa memberikan semangat, nasehat dan doa.
- Almarhum ibunda saya yang tercinta semoga apa yang saya raih di dunia bisa memenuhi segala keinginannya yang masih belum terwujud.
- Semua pihak baik yang secara langsung maupun tidak langsung selalu membantu saya dalam menyelesaikan semua tugas selama menempuh program Magister.

RINGKASAN

PENGARUH PEMBERIAN Pb ASETAT PERORAL TERHADAP DIAMETER SERAT SARAF , DIAMETER AKSON DAN KETEBALAN MIELIN N.ISCHIADICUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

ULFA ELFIAH

Pb atau timbal adalah salah satu logam berat yang sering dimanfaatkan oleh manusia untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Misalnya timbal digunakan dalam industri kabel, baterai, insektisida, bahan pembuat pipa. Meskipun timbal mempunyai kegunaan bagi kehidupan manusia di sisi lain timbal dapat menimbulkan efek negatif dalam jumlah kadar tertentu. Pada sistem saraf tepi keracunan timbal dapat menyebabkan neuropati perifer. Secara klinis ditandai adanya wrist drop dan foot drop.

Mengingat efek toksik timbal pada saraf perifer khususnya n.ischiadicus ini maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh Pb asetat peroral terhadap diameter serat saraf , diameter akson dan ketebalan mielin. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh Pb asetat terhadap sistem saraf tepi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 30 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok yang mendapatkan paparan Pb asetat peroral masing-masing dengan dosis 65, 125, 250, dan 500 mg/kgbb. Pemaparan Pb asetat dilakukan selama 10 minggu. Sampel yang didapat berupa potongan saraf n.ischiadicus yang diwarna dengan teknik modifikasi pra-TEM yang menggunakan asam osmik sebagai fiksasi dan toloidin blue sebagai pewarna. Kemudian sampel diamati dan diukur dengan mikrometer dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 450x.

Data yang diperoleh diuji dengan analisis varians satu arah (uji Anova satu arah). Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna dengan $p<0,05$ terhadap ukuran rerata diameter serat saraf dan rerata ketebalan mielin antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapatkan Pb asetat dosis 65, 125, 250 dan 500 mg/kgbb. Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin kecil diameter serat saraf dan semakin tipis mielinnya. Sedangkan pada akson tidak ada perbedaan yang bermakna terhadap ukuran rerata diameter akson antara kelompok kontrol dengan kelompok masing-masing perlakuan atau paparan dengan nilai $p>0,05$.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Pb asetat peroral masing-masing dosis 65, 125, 250 dan 500 mg/kgbb mempunyai pengaruh terhadap ukuran diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus. Tetapi tidak mempengaruhi ukuran diameter akson. Namun demikian hasil penelitian ini perlu dilanjutkan dengan menggunakan fasilitas yang lebih lengkap seperti mikroskop elektron sehingga perubahan ultrastruktur yang terjadi dapat diketahui.

Summary

THE EFEECT OF LEAD ACETATE ON DIAMETER OF MYELINATED FIBRES AND AXON AND THE THICKNESS OF MYELIN AFTER ORAL ADMINISTRATION TO RATS

ULFA ELFIAH

Lead is commonly used in batteries, in electrical cabel, in hose and pipe manufacture,etc. Although lead has advantages, it has side effect for example chronic lead exposure in human results in peripheral neuropathy often manifest outside the NS, such as gastritic, colicky abdominal pain, and anemia. Peripheral neuropathy is a classic manifestation of lead toxicity, particularly the footdrop and wristdrop.

The aim of this research was to know the effect of lead acetate on diameter of myelinated fibres, diameter of axon and the thickness of miclin n.ischiadicus after oral administration to rats. The result was reported to be able to provide information to study about lead intoxication in peripheral nerves.

This experiment used 30 rats diveded into five groups. Group I as control was administered with aquadest. The other four groups were administered with lead acetate doses : 65, 125, 250 and 500 mg/kb bw. Rats were exposed for 10 weeks. Histological preparation was made from n.ischiadicus with Osmic acid as fixation and toloidin bluc as staining. Then, the samples were observed and measured by micrometer under light microscop 450x.

One way anova was used to analysis the data statistically. The result of this research showed that there was significantly different between group I (control) and the other four groups were exposed by lead acetate ($p<0,05$). The higher the dose given, the smaller the diameter of myelinated fibres and the thinner of myelin. In diameter of axon, there was not significantly different between control and groups were administered with lead acetate ($p>0,05$).

Based on the result, it might be concluded that lead acetate oral dosing could affect size of myelinated fibres and thickness of myelin n.ischiadicus but couldn't affect size of axon diameter.

The results of this study should be reinvestigated with completely instrument like transmission electron microscope to know ultrastructure changes.

Abstract

THE EFEECT OF LEAD ACETATE ON DIAMETER OF MYELINATED FIBRES AND OF AXON AND THE THICKNESS OF MYELIN AFTER ORAL ADMINISTRATION TO RATS

ULFA ELFIAH

This research showed the oral administration of lead acetate to rats could affect diameter of myelinated fibres and axon and the thickness of myelin n.ischiadicus. The post test only control group design was used in this research. 30 male rats were divided into five groups of treatment. Aquadest was administered to group I (K1). Lead acetate with doses : 65, 125, 250 and 500 mg/kgbw were adminestered to group II, III, IV and V. Lead acetate in rats were exposed for 10 weeks and then made histological preparation from n.ischiadicus with osmic acid as fixation and toloidin blue as staining.

The result of this research proved that oral administration of lead acetate affected diameter of myeilinated fibres and thickness of myelin with $p<0,05$. But diameter of axon was not affected by lead acetate oral dosing ($p>0,05$).

Keyword: *diameter of myelinated fibres, diameter of axon, thickness of myelin, lead acetate oral dosing*

DAFTAR ISI

Halaman

Sampul depan			i
Sampul dalam			ii
Lembar prasyarat gelar			iii
Lembar pengesahan			iv
Halaman penetapan panitia penguji tesis			v
Ucapan terima kasih			vi
Ringkasan			viii
Summary			ix
Abstract			x
DAFTAR ISI			xi
DAFTAR GAMBAR			xiii
DAFTAR TABEL			xiv
DAFTAR LAMPIRAN			xv
DAFTAR GRAFIK			xvi
BAB	1	PENDAHULUAN	1
	1.1	Latar Belakang Masalah	1
	1.2	Rumusan Masalah	4
	1.3	Tujuan Penelitian	4
	1.4	Manfaat penelitian	5
BAB	2	TINJAUAN PUSTAKA	
	2.1	Tinjauan tentang timbal	6
	2.1.1	Persenyawaan Pb	6
	2.1.2	Sifat-sifat Pb	7
	2.1.3	Sumber Pb	8
	2.1.4	Penyebaran Pb di lingkungan	10
	2.1.5	Penyerapan Pb	13
	2.1.6	Distribusi Pb di dalam tubuh	15
	2.1.7	Pemberian Pb lewat jalur oral	15
	2.1.8	Pengaruh Pb bagi kesehatan	16
	2.1.9	Pengaruh Pb terhadap sistem saraf	17
	2.2	Anatomi dan histologi sistem saraf	18
	2.3	Katagori efek neurotoksik timbal terhadap sistem saraf perifer	23
	2.4	Prosedur pengujian	25
	2.5	N.ischiadicus	25
BAB	3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
	3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	27
	3.2	Hipotesis	29

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN
4.1 Rancangan Penelitian..... 30
4.2 Populasi,Sampel,Besar sampel dan Teknik Pengambilan Sampel..... 31
4.3 Variabel Penelitian..... 32
4.3.1 Klasifikasi variabel..... 32
4.3.2 Definisi Operasional..... 32
4.4 Bahan Penelitian..... 34
4.5 Alat/instrumen penelitian..... 34
4.6 Lokasi dan waktu penelitian..... 35
4.7 Prosedur pengumpulan data..... 35
4.7.1 Prosedur pelaksanaan penelitian..... 35
4.7.2 Cara pembedahan mencit..... 37
4.7.3 Pembuatan preparat histologis.....37
4.7.4 Teknik pengumpulan data..... 41
4.8 Teknik analisa data..... 41

BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN..... 43

BAB 6 PEMBAHASAN..... 51
6.1 Pembahasan Metode Penelitian..... 51
6.2 Pembahasan Hasil Penelitian..... 53

BAB 7 PENUTUP..... 59
7.1 Kesimpulan..... 59
7.2 Saran..... 59

DAFTAR PUSTAKA..... 60

LAMPIRAN..... 65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 : Potongan melintang saraf tepi dan selubung mielin... 20

Gambar 2.2 : Pattern of neurotoxic injury..... 24

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1: Rerata diameter serat saraf n.ischiadicus 43

Tabel 5.2: Rerata diameter akson serat saraf n.ischiadicus 44

Tabel 5.3: Rerata ketebalan mielin serat saraf n.ischiadicus 44

Tabel 5.4: Hasil uji anava satu arah diameter serat saraf, diameter akson dan ketebalan mielin n.ischiadicus..... 48

Tabel 5.5: Beda Rerata diameter serat saraf dan Probabilitas p antara 2 kelompok perlakuan..... 49

Tabel 5.6: Beda Rerata diameter serat saraf dan Probabilitas p antara 2 kelompok perlakuan..... 49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Perhitungan Takaran Dosis.....	65
Lampiran 2	: Uji Normalitas Setiap Perlakuan Pada Variabel...	67
Lampiran 3	: Uji Homogenitas Varian.....	68
Lampiran 4	: Rumus Penghitungan Ukuran Sampel dengan Mikrometer	69
Lampiran 5	: Foto Sampel.....	70

DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1: Rerata diameter serat saraf n.ischiadicus 45

Grafik 5.2: Rerata diameter akson serat saraf n.ischiadicus 45

Grafik 5.3: Rerata ketebalan mielin n.ischiadicus 46

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Kemajuan yang dicapai sektor industri Indonesia sangatlah pesat yang membawa dampak kemakmuran dan peningkatan taraf hidup masyarakat, tetapi di lain sisi kemajuan industri membawa dampak negatif yaitu adanya pencemaran dan gangguan keseimbangan lingkungan hidup. Masalah pencemaran lingkungan sampai sekarang masih merupakan masalah yang belum terpecahkan, baik pencemaran hasil limbah industri maupun hasil limbah lain yang dapat mengganggu keseimbangan lingkungan.

Pencemaran logam berat merupakan pencemaran yang banyak mendapat sorotan dari berbagai pihak dan paling banyak berasal dari limbah industri. Hal ini dikarenakan senyawa ataupun logam berat banyak digunakan oleh manusia dalam kehidupannya. Selain penggunaannya di bidang industri, logam berat ini juga digunakan di bidang pertanian atau kedokteran. Dengan demikian semakin banyak digunakan logam berat dalam kehidupan manusia maka kadar logam berat di dalam lingkungan juga makin meningkat. Akibatnya kadar pencemaran logam berat juga meningkat (Lu,1995).

Timah hitam atau yang sering disebut dengan timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang sering dimanfaatkan oleh manusia untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Pada zaman dulu timah bersama logam lainnya seperti besi dan tembaga digunakan untuk membuat peralatan, perlengkapan mesin dan senjata. Dalam tahun belakang ini timbal digunakan dalam baterai , industri kabel,

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

insektisida, zat tambahan bahan bakar serta pigmen dalam cat (Lu,1995). Bahkan timbal juga masih didapatkan pada produk makanan yang disimpan di dalam kaleng berlapis timbal. Susu hasil olahan juga dapat mengandung kadar timbal yang lebih besar jika dibandingkan dengan susu sapi segar maupun ASI (Adiwisastro, 1987). Selain itu karena sifatnya yang mudah dibentuk Pb juga digunakan untuk membuat pipa air dan peralatan makan (Kendall, 1983).

Keracunan timah hitam merupakan penyakit tertua di dunia yang ditimbulkan sebagai akibat pekerjaan. Keberadaan timah hitam tersebar luas baik dalam air, makanan, dan udara sehingga sukar untuk mendapatkan lingkungan yang bebas dari timah hitam (Katzung,1987).

Timbal dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran nafas, saluran pencernaan, maupun kulit. Apabila ada timbal yang masuk ke dalam tubuh manusia akan timbul dampak negatif. Akumulasi timbal di dalam tubuh manusia ini akan memberikan pengaruh buruk kepada organ tubuh manusia. Organ tubuh yang dapat terkena dampak akumulasi timbal ini antara lain: hati, ginjal, jantung, sistem saraf, sistem reproduksi, dan sistem endokrin (Palar,1994).

Pada sistem saraf sifat toksik timbal ini dapat menimbulkan kerusakan pada sistem saraf pusat maupun sistem saraf perifer. Pada SSP setelah tingkat paparan yang tinggi dengan kadar Pb darah di atas 80 mikrogram/dl dapat terjadi encephalopati. Secara klinis ditandai dengan munculnya ataksia, stupor, koma dan kejang-kejang (Lu,1995).

Studi toksikitas menunjukkan bahwa kandungan timbal dalam darah sebanyak 100 mikrogram/liter dianggap tingkat aktif (level of action) yang berdampak pada gangguan perkembangan dan penyimpangan perilaku. Bahkan

keracunan timbal ini bisa menurunkan IQ seorang anak sampai 15 point (Arisandi, 2005). Sedangkan pada saraf perifer keracunan timbal menyebabkan neuropati perifer yang secara klinis ditandai oleh wrist drop dan foot drop, sebagai tanda-tanda kerusakan saraf motorik (Lu,1995). Saraf perifer yang sering mengalami kerusakan adalah nervus ischiadicus dan nervus tibialis. Akibat keracunan kronik timbal selama 6-7 bulan nervi ini dapat mengalami segmental demielinisasi karena degenerasi sel Schwann atau kerusakan langsung pada sarung mielin sehingga mielin tidak terbentuk. Selain terjadi segmental demielinisasi keracunan kronik timbal pada manusia juga dapat menyebabkan degenerasi aksonal (Casarett,1999).

Mengingat efek toksik timbal yang cukup berbahaya terhadap sistem saraf maka perlu adanya penelitian secara terus menerus terhadap berbagai bentuk persenyawaan Pb. Secara umum dan berdasarkan sifat kimianya Pb dalam bentuk logam, garam, dan senyawa organik menunjukkan sifat racun terhadap hewan, tumbuhan dan manusia. Tubuh manusia mempunyai mekanisme pertahanan yang dapat mentolerir pemasukan timbal hingga 0,3 mg perhari. Keracunan baru timbul bila dosis menjadi 0,6 mg atau lebih perhari (Pikir,1993).

Salah satu contoh persenyawaan Pb yang sering dipakai dalam penelitian adalah Pb asetat. Karena senyawa ini selain bersifat patologis, senyawa ini memiliki bentuk kristal yang mudah larut dalam air sehingga pemberian melalui makanan lebih mudah dilakukan..

Penelitian efek toksik timbal ini dapat dilakukan pada manusia yang tercemar secara langsung oleh timbal yang dibuang ke lingkungan maupun studi toksikitas di laboratorium yang dilakukan pada hewan uji. Hasil penelitian pada

hewan uji ini nantinya dapat dijadikan dasar untuk memperkirakan adanya pengaruh Pb pada sistem saraf manusia khususnya sistem saraf perifer.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latarbelakang diatas dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian dosis Pb Asetat berpengaruh terhadap diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus putih?
2. Apakah pemberian Pb asetat juga berpengaruh pada diameter akson n.ischiadicus tikus putih?
3. Apakah ada perbedaan pengaruh antara pemberian Pb Asetat dengan dosis 65 mg/kg berat badan, 125 mg/kg berat badan, 250 mg/kg berat badan, dan 500 mg/kg berat badan terhadap diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus putih?

1.3.Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian dosis Pb Asetat terhadap diameter serat saraf, diameter akson, dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus putih.

1.3.2.Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian dosis Pb asetat terhadap gambaran histologik diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus.

2. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh antara pemberian Pb Asetat dengan dosis 65 mg/kg berat badan, 125 mg/kg berat badan, 250 mg/kg berat badan, dan 500 mg/kg berat badan terhadap diameter serat saraf dan ketebalan mielin n. Ischiadicus.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipergunakan sebagai:

1. Bahan acuan menentukan dosis Pb Asetat yang sudah menunjukkan pengaruh terhadap n.ischiadius sebagai saraf perifer
2. Bahan acuan untuk dilakukan penelitian lanjutan pada tingkat ultra struktur dengan pemeriksaan yang lebih lengkap dan canggih khususnya pemeriksaan sel saraf.
3. Memberi informasi kepada masyarakat dan pengusaha industri agar lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb karena efek toksik Pb yang cukup berbahaya terhadap sistem saraf baik sistem saraf pusat maupun perifer.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Timbal

Sejarah perkembangan timah berhubungan erat dengan sejarah peradaban manusia. Timah hitam dikenal dan dipergunakan orang lebih kurang 6000 tahun yang lalu (Raffle et al, 1987). Logam ini secara umum dan luas digunakan dalam budaya-budaya kuno (Dobson dan Zenz, 1988). Timbal dikenal juga dengan nama timah hitam atau lead, yang dalam bahasa ilmiahnya disebut sebagai plumbum. Logam ini seringkali disimbolkan dengan huruf Pb.

2.1.1. Persenyawaan Pb

Pb nyaris tidak pernah ditemukan dalam bentuk logam murninya (Palar, 1994). Di alam terdapat 4 macam isotop Pb, yaitu:

- Pb 204 1,48 %
- Pb 206 23,60 %
- Pb 207 22,60 %
- Pb 208 52,32 %

Persenyawaan Pb terutama terdapat sebagai Galena atau Pb S (Cotton, 1989), selain itu juga dalam bentuk $PbSO_4$ dan Pb_3O_4 (Palar, 1994).

Persenyawaan Timbal lainnya:

- Timbal Nitrat $Pb(NO_3)_2$
- Timbal Clorat $Pb(ClO_3)_2$
- Timbal Carbonat $Pb\ CO_3$

- Timbal Asetat $Pb(C_2H_3O_2)_2$
- Timbal Tetraethyl $[(C_2H_5)4\ Pb]$
- Timbal Tetramethyl $[(CH_3)4\ Pb]$

Bentuk persenyawaan Pb dengan unsur kimia lain dan gunanya antara lain:

- Pb dan Sb (Stibium) untuk kabel telpon
- Pb dan As (Arsen), Sn (Stannum), dan Bi (Bismuth) untuk kabel listrik
- Pb dan Ni (Nikel) untuk bahan peledak
- Pb asetat untuk pengkilap keramik dan bahan tahan api
- Pb dengan Cr (Cromium), Mo (Molibdenum), dan Cl (Chlor) untuk pewarna cat
- Pb dengan Te (Telurium) untuk pembangkit listrik tenaga panas

(Palar, 1994)

2.1.2. Sifat-Sifat Pb

Pb merupakan logam lunak yang mudah dibentuk, tahan terhadap karat, mempunyai kerapatan yang besar, merupakan penghantar listrik yang baik, mudah diekstrak dari tambang dan jumlahnya pun cukup melimpah (Palar, 1994.

Pb berwarna kebiruan atau perak abu-abu, dengan berat atom 207,19; berat jenis 11,34; titik lebur 327,5 ^{0}C; titik didih pada tekanan 1 atmosfir 1740 ^{0}C (Cotton, 1989).

Timbal merupakan logam yang tidak dipengaruhi oleh udara, walaupun dalam keadaan lembab. Maka timbal banyak digunakan untuk melapisi tembaga atau besi supaya kedua logam tersebut tidak dapat dioksidasi oleh udara (Adiwisastra, 1987).

Alkil yang lebih rendah adalah cairan non polar yang sangat beracun. Tetramethyl terdekomposisi pada suhu sekitar 200 ^{0}C, sedangkan tetraethyl lebih awal terdekomposisi, yaitu pada suhu sekitar 110 ^{0}C oleh proses radikal bebas.

Ion plumbo terhidrolisis sebagian dalam air dan dalam larutan perklorat. Dalam larutan pekat dengan penambahan basa maka ion-ion polimer yang mengandung 3, 4, dan 6 atom Pb akan terbentuk garam kristal bersifat basa. Penambahan lebih banyak basa akhirnya akan menghasilkan oksida terhidrat yang larut jika basanya berlebihan menghasilkan ion plumbat.

Kebanyakan garam timbal hanya larut sebagian dalam air. Pb Sulfat, dan Pb Cromat tidak larut dalam air. Sedangkan garam yang larut antara lain adalah Pb nitrat dan Pb asetat (Cotton, 1989).

2.1.3. Sumber Pb

Pb yang ada di alam dapat diperoleh dari berbagai sumber:

1. Sumber alami

   Pb terdapat secara alami dapat ditemukan di:

   a) Batu

      Lapisan kerak bumi dengan konsentrasi sekitar 13 mg/kg batu yang mengandung karbonat 10-70 mg/kg. Sementara di Amerika dan Eropa pada endapan laut dalam dapat ditemukan kadarnya mencapai 100-200 mg/kg.

   b) Tanah

Tanah yang bersifat asam umumnya mengandung Pb lebih sedikit daripada tanah yang bersifat alkali. Konsentrasi Pb di tanah yang jauh dari aktivitas manusia adalah antara 5-25 mg/kg.

c) Air

Analisa air bawah tanah yang telah disaring menunjukkan konsentrasi Pb yang bervariasi antara 1-60 µg/l. Kandungan Pb pada air laut lebih rendah daripada air tawar. Pada air yang dalam, konsentrasinya juga jauh lebih kecil.

d) Udara

Konsentrasi Pb terukur di atmosfir yang jauh dari kegiatan manusia sekitar 0,0001-0,001 µg/m^3.

e) Tanaman

Pb secara alami terdapat pada semua tanaman, dimana konsentrasi normal pada buah dan gandum diperkirakan sekitar 0,1-1,0 mg/kg berat kering.

Pengaruh sumber Pb alami terhadap konsentrasi Pb di lingkungan sangat kecil, oleh karena itu dampaknya bagi manusia dari sumber alami dapat diabaikan (WHO, 1977).

2. Sumber dari pabrik

Selain dari sumber alami, Pb yang terdapat di lingkungan merupakan hasil dari kegiatan berikut:

a) Tambang

Pb dihasilkan dari tambang, terdapat pada berbagai mineral seperti galena (PbS), cerrusite ($PbCO_3$), dan anglesite ($PbSO_4$). Galena

merupakan sumber utama Pb, terdapat sebagai endapan yang bergabung dengan mineral lain, terutama mengandung zinc (Zn).

b) Peleburan dan pemurnian

Peleburan dan pemurnian untuk menghasilkan Pb kepingan, diproses dari kepingan baru yang diperoleh dari hasil tambang, atau mendaur ulang kepingan Pb yang sudah tidak dipergunakan. Peleburan bijih Pb menghasilkan polusi di sekitarnya. Pengaruhnya pada udara dan tanah sekitar sangat bergantung pada besar dan tinggi cerobong, topografi, dan kondisi permukaan tanah sekitarnya. Pengeluaran asap akan menutupi daerah yang cukup luas. Zona pencemaran udara sebuah pabrik peleburan besar di Amerika dapat meluas sejauh 5 km. Sedangkan kontaminasi tanah dapat mencapai 10 km. Pencemaran yang berat juga terjadi pada aliran air sepanjang anak sungai (WHO,1977).

2.1.4 Penyebaran Pb di Lingkungan

Timah hitam adalah logam berat yang bersifat akumulatif dan berada di berbagai tempat (obiquitus). Timah hitam secara terus menerus dan berlangsung lama dapat diabsorbsi oleh tanaman, hewan, ataupun manusia (National Academy of Science,1980). Kadar dalam lingkungan semakin meningkat karena proses penambangan, peleburan, pemurnian, dan berbagai penggunaan dalam industri. Penggunaan Tetraethyl Pb dan Tetramethyl Pb dipakai secara luas sebagai additif bahan bakar kendaraan bermotor, dimana zat tersebut merupakan cairan yang tidak berwarna. (WHO,1977; Palar, 1994).

Tetraethyl Pb dan Tetramethyl Pb dibuat dalam jumlah yang sangat besar untuk dipakai sebagai zat anti knock dalam bahan bakar. Jadi kenaikan konsentrasi timbal di lingkungan sangat berhubungan erat dengan pembakaran bahan bakar yang mengandung timbal, sehingga penggunaan timbal sebagai zat campuran bahan bakar kendaraan saat ini mulai ditinggalkan (Cotton, 1989).

Pada tahun 1975 diperkirakan sekitar 300.000 ton dari pembakaran Pb additif pada bahan bakar kendaraan bermotor. Dari sini yang masuk ke lingkungan sekitar 70% setelah pembakaran, sisanya terperangkap di knalpot kendaraan (Lu, 1995).

Biasanya kadar Pb dalam tanah berkisar antara 5-25 mg/kg, dalam air tanah 1-60 µg/l dan kadarnya agak lebih rendah pada air permukaan di alam. Kadar di udara < 1 $\mu g/m^3$, tetapi dapat jauh lebih tinggi di daerah industri dan di daerah yang lalulintasnya padat. (Lu, 1995).

Derajat pencemaran berbeda di setiap kota, tergantung pada kepadatan lalu lintasnya. Sebagian besar Pb mengkontaminasi daerah dekat jalan raya. Hewan dan tumbuhan yang hidup di sekitar tempat pencemaran akan mengandung kadar Pb lebih tinggi sebagai hasil paparan terhadap sumber pencemaran.

Pencemaran lingkungan juga dapat ditemui pada debu dan tanah di sekitar rumah yang catnya mengandung Pb. Diperkirakan 50% cat mengelupas dari permukaannya dalam periode sekitar 7 tahun sebelum pengecatan berikutnya.

Penggunaan utama Pb dalam industri, misalnya sebagai tambahan bahan bakar dan pigmen cat walaupun sudah mulai dikurangi penggunaannya, akan tetapi sebagai bahan produksi kabel dan aki mobil masih tetap dipakai sampai saat ini. Disamping itu air minum dapat tercemar hebat oleh Pb karena penggunaan

pipa berlapis timbal dan pipa PVC. Sumber utama asupan Pb adalah makanan yang biasa menyumbang 100-300 µg/hari. Bayi dan anak kecil mungkin terpapar pada tingkat yang lebih tinggi daripada orang dewasa, karena kebiasannya menjilat, mengunyah, atau memakan benda di sekitarnya (Lu, 1995).

Jenis makanan yang mempunyai kandungan Pb cukup tinggi antara lain makanan kemasan kaleng berlapis Pb atau keramik berlapis Pb. Susu yang diproses memiliki kandungan Pb lebih tinggi dibandingkan ASI maupun susu segar. Kontaminasi air minum, makanan dan minuman yang dihasilkan dari pemakaian pipa yang berlapis Pb, pipa PVC, keramik mengkilap dan kaleng yang dilapisi Pb di bawah kondisi tertentu dapat membahayakan kesehatan manusia (WHO, 1977).

Pb juga dapat ditemukan pada peluru dan senapan berburu, juga ada dalam pestisida, khususnya Pb Arsenat. Pada pekerja yang berhubungan dengan Pb selama penambangan, peleburan, dan bermacam-macam proses pabrik yang menggunakan Pb terungkap paling tinggi melalui inhalasi. Konsentrasi Pb di udara pada lingkungan kerja peleburan dan pabrik aki sering melebihi 1000 $\mu g/m^3$.

Pencemaran Pb yang ditimbulkan manusia mempengaruhi kandungan Pb pada lingkungan sekitar. Konsentrasi Pb di udara di kota besar dengan lalu lintas padat berkisar antara 2-4 $\mu g/m^3$, di luar kota kurang dari 0,2 $\mu g/m^3$, dan di pedesaan kadarnya sangat kecil (WHO, 1977).

Pencemaran Pb pada air minum umumnya kurang dari 10 µg/l, namun di beberapa tempat yang menggunakan pipa mengandung Pb konsentrasinya dapat

UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

mencapai 2000-3000 µg/l. Konsentrasi Pb lingkungan yang tinggi tercermin dari tingginya kadar Pb darah di tubuh organisme daerah tersebut.

Pengangkutan dan penyebaran Pb baik dari sebaran yang diam atau bergerak ke media lingkungan terutama melalui atmosfir, dimana pelepasan yang besar terjadi ke dalam air dan tanah. Proses mekanisme perpindahan Pb dari udara ke media lain dengan pengendapan. Perpindahan Pb dari udara ke biota dapat secara langsung maupun tak langsung. Pada tanaman perpindahan yang secara langsung lewat permukaan atas, sedangkan yang tak langsung melalui tanah (WHO, 1977).

Pb berpindah dengan cepat dari air ke tanah bila air dapat menembus tanah dan lumpur. Akan tetapi materi organik memiliki kemampuan besar dalam mengikat Pb, sehingga konsentrasi Pb di dalam air biasa dan pada air minum pada umumnya rendah.

Lebih dari 50% minyak pelumas yang terkontaminasi Pb alkil dari hasil pembakaran dan kotoran pada selubung oli mesin mengandung 1% Pb, dibuang dan merupakan sarana penyebaran Pb. Bahkan bahan Pb yang didaur ulang pun masih juga akan merupakan limbah toksik (WHO, 1977).

2.1.4. Penyerapan Pb

Penyerapan Pb dari lingkungan tidak hanya bergantung kepada banyaknya Pb yang ada, akan tetapi juga bergantung pada keadaan fisika dan kimia logam tersebut, dan dipengaruhi pula oleh faktor host seperti umur dan keadaan fisiologinya.

Ada beberapa cara penyerapan Pb yaitu:

1. Melalui pernafasan

   Sebagian besar yang terhirup melalui pernapasan masuk ke pembuluh darah paru. Tingkat penyerapan dipengaruhi ukuran partikel dan volume udara yang dihirup. Pb yang berbentuk uap, gas dan partikel Pb yang berukuran 0,001-10 μm akan diserap melalui saluran nafas (Lu, 1995). Partikel berukuran 0,1 - 1,0 μm akan mengendap terutama di alveoli atau daerah yang lebih dalam dari sistem tracheo-bronchial, sedangkan partikel yang lebih besar mengendap di nasopharynx. Lebih dari 90% Pb yang diserap akan berkaitan dengan darah dari paru-paru, kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh (WHO, 1977; Palar, 1994; Siswanto, 1994).

2. Melalui makanan

   Rata-rata Pb yang masuk melalui makanan sebanyak 300 μg/hari (Goyer, 1996). Pada penderita defisiensi zat besi, kalsium dan vitamin D akan terjadi peningkatan penyerapan Pb (WHO, 1977; Siswanto, 1994). Kandungan Pb alami pada makanan diperkirakan 0,01 μg/g (Casarett and Doull's, 1980). Ekskresi Pb melalui urine setiap harinya berkurang 10% dari jumlah yang terabsorbsi melalui makanan dan minuman. Fraksi ini menggambarkan banyaknya penyerapan melalui saluran cerna, sementara yang dapat diekskresi hanya sebagian kecil saja (Israhmanto, 1996).

3. Melalui kulit

   Senyawa Pb organik selain diserap melalui saluran napas juga dapat diserap oleh kulit, sebagai contoh tetraethyl Pb dan tetramethyl Pb. Hal ini disebabkan karena kedua senyawa tersebut larut minyak dan lemak. (Palar, 1994).

2.1.5. Distribusi Pb di Dalam Tubuh

Bentuk kimia senyawa Pb mempengaruhi dinamika Pb di dalam tubuh. Senyawa Pb organik lebih mudah untuk diserap tubuh melalui lapisan kulit maupun mukosa jika dibandingkan dengan senyawa Pb anorganik. Namun hal itu bukan berarti semua senyawa Pb dapat diserap oleh tubuh, melainkan hanya sekitar 5-10% dari jumlah Pb yang masuk lewat makanan, dan sebesar 30% yang melalui udara. Dari jumlah itu ternyata 15% mengendap pada jaringan tubuh, sedangkan sisanya dibuang bersama faeces dan urine. (Palar, 1994)

Gerakan distribusi Pb dan akumulasinya tidak dapat diketahui secara langsung, akan tetapi dari data otopsi, Pb cenderung terlokalisir dan terakumulasi pada tulang. Akumulasi Pb pada manusia dimulai sejak fetus (Baltrop, 1969).

Pb dengan segera ditransfer melintasi plasenta, dan konsentrasi Pb dalam darah bayi sama dengan ibunya. Distribusi Pb pada jaringan fetus serupa dengan distribusi pada orang dewasa (Baltrop, 1969).

2.1.6. Pemberian Pb Lewat Jalur Oral

Metode memasukkan suatu zat melalui jalur oral banyak dipergunakan dalam eksperimen toksikologi, terutama yang penekanannya berhubungan dengan jalur kuantitatif.

Senyawa Pb yang diberikan melalui oral akan dapat memberikan efek sistemik setelah terjadi absorbsi melalui saluran cerna. Dalam lambung, Pb akan bersentuhan dengan isi lambung yang sebelumnya telah ada partikel makanan dan musin lambung dan sekresi enzim (pepsin, resin, lipase) disamping asam hidroklorat. Produk reaksi yang terjadi dalam lambung mungkin menjadi lebih

atau pun kurang toksik jika dibandingkan dengan senyawa induknya. Dalam lambung senyawa tersebut dibawa ke usus dimana terjadi pengenceran pH, bercampur dengan sisa makanan, empedu, dan berbagai enzim yang ada dalam getah pankreas. Toksikitas Pb yang diberikan melalui oral mungkin berubah karena frekuensi pemberian dan karena berbagai kondisi yang ada ketika diberikan, apakah bercampur dengan makanan atau diberikan pada saat lambung dalam keadaan kosong.

Toksikitas suatu zat yang diberikan melalui pipa lambung mungkin akan sangat berbeda dengan obat yang sama jika diberikan bercampur dengan adonan pakannya (Harper, 1983; Loomis, 1978)

Sejumlah besar senyawa asing yang sering muncul dalam darah setelah absorbsi usus, telah diketahui akan diekskresikan oleh hati ke empedu. Berarti akan terjadi daur yang melibatkan translokasi zat dari usus ke hati dan selanjutnya ke empedu serta kembali lagi ke usus yang disebut daur enterohepatik. Pemberian Pb per oral secara cepat akan diabsorbsi dari saluran cerna dan akan memajani hepar, selanjutnya memajani ginjal. Melalui siklus yang berulang-ulang inilah suatu zat toksik akan menjadi lebih toksik karena akumulasi zat yang semakin lama semakin toksik tersebut terutama pada hepar dan ginjal.

2.1.7. Pengaruh Pb Bagi Kesehatan

Kurang lebih 95% Pb dalam darah diikat oleh eritrosit, sehingga jumlah Pb yang diserap juga tergantung pada konsentrasi Pb dalam darah. Berbagai penelitian menunjukkan konsentrasi Pb dalam darah normal maksimum 40 µg/100 cc darah, dan masih dapat ditoleransi sampai dengan konsentrasi 80 µg/100 cc

darah. Jika melebihi dari angka itu akan sangat berbahaya bagi individu tersebut (Siswanto, 1994).

Keracunan disebabkan oleh masuknya senyawa Pb yang larut dalam asam atau inhalasi uap Pb. Keadaan ini menyebabkan syok yang disebabkan karena kehilangan cairan melalui saluran cerna. Keracunan timah hitam dapat dibagi menjadi keracunan timah anorganik dan keracunan timah organik (Katzung, 1987). Keracunan timah anorganik dapat dibagi menjadi dua yaitu keracunan akut dan kronik. Keracunan akut ini sangat jarang terjadi. Jika terjadi biasanya akibat menghirup debu-debu timah hitam di pabrik-pabrik yang sedang berproduksi, anak kecil yang menelan timah hitam dari serpihan cat mengandung timah hitam dengan dosis besar.

Keracunan akut ditandai dengan adanya rasa haus, rasa metalik di mulut, mual, nyeri lambung, muntah-muntah, feses berwarna kegelapan, diare, konstipasi dan syok. (Goodman dan Gilman, 1985). Sedangkan untuk mendiagnosis keracunan timah hitam akut adalah sukar. Dia memberikan gambaran yang kurang jelas yaitu adanya kelainan saluran pencernaan makanan yang diikuti adanya kelainan syaraf pusat dan anemia. Sedangkan keracunan kronik dapat menyebabkan gangguan pada berbagai sistem tubuh (Katzung ,1987).

2.1.8. Pengaruh Pb Terhadap Sistem saraf

Susunan saraf juga merupakan organ sasaran utama Pb. Setelah tingkat pajanan yang tinggi dengan kadar Pb darah di atas 80 µg/dl, dapat terjadi encephalopati. Terjadi kerusakan pada arteriol dan kapiler yang mengakibatkan edema otak, meningkatnya tekanan cairan serebrospinal, degenerasi neuron dan

perkembangbiakan sel glia. Secara klinis keadaan ini disertai dengan munculnya ataksia, stupor, koma dan kejang-kejang (Lu,1995). Sistem saraf dan pencernaan anak yang masih dalam tahap perkembangan menyebabkan anak lebih rentan terhadap timbal yang terserap. Anak–anak dapat menunjukkan hiperaktivitas, berkurangnya masa perhatian, dan skor IQ sedikit menurun (Setyorini,2005; Lu,1995). Neuropati perifer ditandai oleh adanya wrist drop dan foot drop, tanda-tanda kerusakan saraf motorik.

Untuk mempermudah uraian jenis efek toksik Pb terhadap susunan saraf khususnya saraf perifer dan prosedur pengujiannya, perlu dibahas dahulu berbagai bagian susunan saraf.

2.2. Anatomi dan Histologi Sistem saraf

Sistem saraf dibagi menjadi dua bagian yaitu sistem saraf pusat dan sistem perifer. Sistem saraf pusat terdiri dari otak dan sumsum tulang belakang. Fungsi utama sistem saraf pusat ini adalah 1) pelaku integrasi dan koordinasi isyarat neural yang masuk dan keluar, 2) pelaksana fungsi mental luhur seperti berpikir dan belajar. Sistem saraf perifer terdiri atas struktur diluar SSP yang membawa impuls ke dan dari otak serta sumsum tulang (Moore, 2002).

Unit fungsional dan struktural sistem saraf adalah neuron (sel ganglion atau sel saraf). Neuron ini terdiri dari badan sel (perikaryon) yang mempunyai banyak cabang pendek dan satu cabang panjang-akson atau neuritum ((Kahle, 2000). Struktur penyangganya terdiri atas berbagai sel glia. Terlepas dari tiadanya daya hantar, sel glia berbeda dari neuron dalam hal bahwa sel glia,seperti halnya sel lain dapat bereproduksi sedangkan neuron tidak (Lu, 1995). Bila telah dewasa

neuron-neron ini tidak dapat membelah diri lagi sehingga peningkatan jumlah sel atau penggantian sel-sel tua tidak mungkin terjadi. Jumlah sel saraf pada tiap individu adalah tetap dari lahir sampai sepanjang hidupnya (Kahle, 2000).

Akan tetapi dalam kurun waktu lima tahun belakangan ini, para ilmuwan di bidang neurologi telah menemukan bahwa otak selalu mengalami perubahan sepanjang umur. Penemuan ini merupakan revisi terhadap dogma yang dipercayai cukup lama dan memberikan harapan baru terhadap penanganan berbagai gangguan degeneratif jaringan otak. Sampai sekarang baru diketahui adanya dua daerah dalam otak yang merupakan tempat sel induk saraf multipoten tersebut. Dua daerah tersebut yaitu : 1) dinding rongga otak (ventrikel) yang berisi cairan otak. Cairan otak tersebut diperlukan untuk perawatan jaringan saraf dalam susunan saraf pusat, 2) daerah otak yang disebut hipokampus (Subowo, 2005).

Dalam SSP sel glia terdiri dari astrosit, oligodendrosit (oligodendroglia), dan mikroglia. Astrosit membantu mempertahankan lingkungan makro yang tepat di sekitar neuron dan ikut berperan membentuk sawar darah otak. Oligodendroglia mengelilingi akson dalam SSP dengan bahan kaya lipid, yakni sarung mielin yang memberi sifat isolasi listrik. Mikroglia pada dasarnya berupa makrofag yang terletak dalam SSP.

Dalam sistem saraf perifer atau tepi komponen utama adalah serabut saraf, ganglion dan ujung saraf. Serabut saraf adalah kumpulan serat saraf yang dikelilingi oleh serangkaian jaringan ikat. Pada serat saraf tepi sel penyelubung itu adalah sel Schwann .

Pada serat bermielin dari susunan saraf tepi ini plasmalema dari sel Schwann membungkus dan membalut akson. Lapisan membran sel selubung

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

menyatu dan membentuk mielin yaitu suatu kompleks lipoprotein yang unsur lipidnya dapat dihilangkan oleh prosedur histologi standar.

Mielin terdiri atas banyak lapisan sel membran termodifikasi. Membran ini memiliki kandungan lipid yang lebih banyak daripada membran sel lainnya. Mielin dari susunan saraf pusat mengandung 2 protein utama: protein dasar mielin dan protein proteolipid. Perhatikan gambar potongan melintang saraf bermielin berikut ini:

Gambar 2.1: Mikrograf elektron potongan melintang saraf, menampakkan epineurium (EPI), perineurium (PERI), dan endoneurium (ENDO). Epineurium ialah jaringan ikat padat kaya akan kolagen (KOL) dan fibroblast (F). Perineurium terdiri atas beberapa lapis sel- sel gepeng yang tergabung secara erat membentuk sawar terhadap masuknya makromolekul ke dalam saraf. Endoneurium terutama terdiri atas serat-serat retikulin (RF) yang dihasilkan oleh sel Schwann (SC). 1200X

Setiap akson dibungkus oleh mielin. Mielin ini dibentuk oleh sederetan sel Schwann. Selubung mielin menampakkan lekukan-lekukan dalam di sepanjang serat saraf yang disebut nodus Ranvier (lihat Gambar 2.2). Yang merupakan ruang diantara sel-sel Schwann bersebelahan sepanjang akson. Juluran-juluran yang saling mengunci dari sel Schwann sebagian menutupi nodus. Jarak antara 2 nodus disebut internodus dan terdiri atas satu sel Schwann. Panjang internodus bervariasi antara 1-2 mm (Junqueira, 1998).

Namun demikian tidak semua akson pada susunan saraf tepi dan pusat dibungkus mielin. Pada saraf tepi, semua akson tanpa mielin dibungkus dalam celah sederhana dari sel Schwann. Selain itu pada serat saraf tanpa mielin tidak memiliki nodus Ranvier karena sel Schwann bersebelahan digabung memanjang membentuk selubung utuh (Junqueira, 1998). Lewat aksonnya neuron dihubungkan dengan neuron lain pada dendritnya atau dengan reseptor dalam kelenjar atau otot. Bila ada perangsangan yang berupa potensial aksi (action potential) pada ujung saraf maka akan dilepaskan neurotransmiter kimia. Neurotransmiter yang paling lazim adalah asetilkolin dan norepinefrin. Meskipun demikian, ada banyak transmiter lain yang dapat berfungsi sebagai neurotransmiter sentral dan neuromodulator (Lu,1995).

Saraf yang mengadakan komunikasi ini memiliki serat aferen dan eferen yang menuju dan dari susunan saraf pusat. Serat aferen membawa informasi dari dalam tubuh dan dari lingkungan menuju susunan saraf pusat. Serat eferen membawa impuls dari susunan saraf pusat menuju organ efektor yang dikendalikan oleh pusat-pusat ini. Saraf yang hanya memiliki serat-serat sensoris

(aferen) disebut saraf sensoris ; yang hanya terdiri atas serat-serat yang membawa impuls ke efektor disebut saraf motoris (Junqueira, 1998).

Sebagai suatu bagian vital dalam tubuh, sistem saraf dilindungi dari toksikan dalam darah oleh suatu mekanisme protektif yang unik yaitu sawar darah otak dan sawar darah saraf (Lu, 1995). Prinsip dasar blood brain barier ini diperankan oleh sel endothelium khusus pada sistem mikrovaskuler otak dibantu sedikitnya di beberapa bagian oleh interaksinya dengan sel glia (Casarett,1999). Endothelium dalam otak ini tidak dapat ditembus oleh zat berberat molekul menengah karena susunan selnya sangat rapat. Selain itu sel ini tidak mempunyai banyak vesikel yang melakukan mikropinositosis yang dalam kapiler jaringan lain menjalankan mekanisme penting untuk transport melewati sel endotel. Tetapi zat-zat yang larut dalam lipid dan fraksi non- ion suatu zat kimia lebih mudah melintasi BBB.

Sampai sekarang lebih dari 20 sistem transport terlokalisasi pada endothelium BBB. Fungsi sistem transport ini adalah untuk memfasilitasi dan mengatur influx (sama seperti efflux) dari hormon, vitamin, peptida dan nutrien organik lainnya untuk SSP. Selanjutnya sebagai informasi tambahan ,untuk pengangkut ion Na^+ dan K^+ sejumlah sistem transport ion (Ca^{2+} -ATPase) dan sejumlah chanel juga terlokasi atau terdapat pada kapiler BBB. Fungsi sistem-sistem ini untuk mengontrol dan mengatur homeostasis ion dari cairan extracellular otak (Smith et al., 1997). Blood brain barier (BBB) tak terdapat pada sel yang menghasilkan hormon atau yang bertindak sebagai reseptor hormon atau kimia. BBB efektif menangkal berbagai neurotoksin misalnya toksin tetanus, kuman difteri dan stafilokokus (Lu,1995).

Sedangkan sawar darah saraf perifer (Blood Nerve Barrier=BNB) ditutupi oleh dua sarung jaringan ikat yaitu perineurium dan epineurium dan antara keduanya dijalin dengan endoneurium. Sawar darah perifer ini terbentuk karena susunan saraf perifer yang terdiri atas serat-serat saraf yang berbentuk berkas-berkas saraf. BNB dilakukan oleh pembuluh darah dalam endoneurium dan didukung oleh sel berlamel pada sarung perineural. BNB tidak seefektif BBB karenanya ganglia radiks dorsal biasanya lebih rentan daripada neuron SSP terhadap neurotoksin (Lu, 1995).

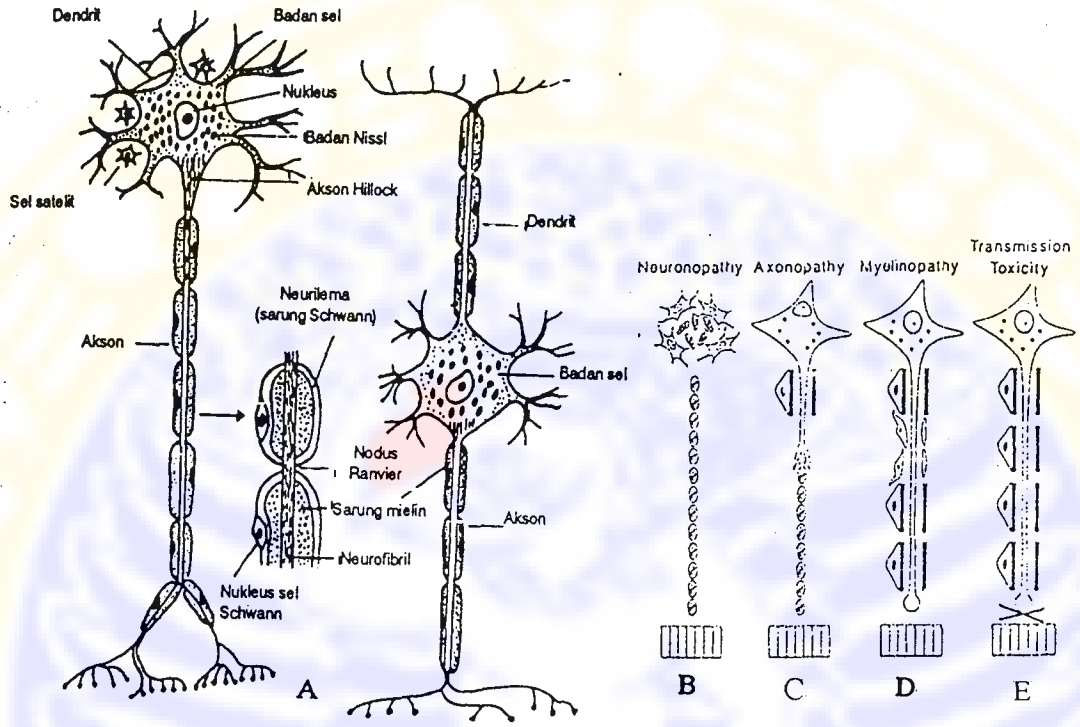
Sistem saraf lebih rentan terhadap toksikan sebagian dapat dikaitkan dengan fakta bahwa neuron mempunyai suatu laju metabolisme yang tinggi dengan sedikit kapasitas untuk metabolisme anaerobik. Selain itu karena dapat dirangsang oleh listrik, neuron cenderung lebih mudah kehilangan integritas membran sel. Panjangnya akson merupakan salah satu alasan lain mengapa susunan saraf lebih rentan terhadap efek toksik. Hal ini disebabkan oleh karena badan sel harus memenuhi kebutuhan aksonnya secara struktural maupun secara metabolisme.

2.3. Katagori Pengaruh Neurotoksik Timbal terhadap Sistem Saraf Perifer

Demielinisasi dapat terjadi akibat cedera pada sel yang bermielin (oligodendrosit dan sel Schwann). Neurotoksin jenis ini antara lain adalah timbal yang mempengaruhi sel Schwann dengan menganggu transport Ca^{2+} nya (Lu, 1995). Demielinisasi juga dapat terjadi sebagai akibat pengaruh pada sarung mielinnya. Jenis efek ini biasanya melibatkan gangguan pada stuktur membran. Cara kerja lain efek neurotoksikasi Pb diantaranya adalah 1) penghambatan

MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

karbonik anhidrase atau enzim lain yang terlibat dalam transport ion dan air, 2) penghambatan enzim yang terlibat dalam fosfolirasi oksidatif dan 3) pembentukan ikatan logam (Lu, 1995). Perhatikan gambar berikut ini:



Gambar2.2. Katagori neurotoksik timbal pada sistem saraf. A adalah gambaran neuron dalam keadaan normal. B adalah gambaran neuropati yang terjadi kibat kerusakan total neuron termasuk akson dan hilangnya mielin. C adalah gambaran aksonopati yang terjadi akibat adanya degenerasi akson. D adalah gambaran mielinopati sebagai akibat hilangnya selubung mielin atau karena kerusakan pada sel Shwann sehingga mielin tidak terbentuk. E adalah gambaran efek toksik yang mengganggu proses neurotransmiter tanpa menimbulkan kematian neuron.

Timbal sebagian besar mempengaruhi PNS terlebih dahulu daripada SSP. Pada manusia ,tikus dan babi guinea perubahan utama akibat keracunan dari garam timbal adalah sel-sel schwann yang mengalami disintegrasi segmental yang mulai terjadi di daerah nodus Ranvier (Casarett,1999).

Selain mengakibatkan demielinisasi timbal dapat juga merusak sel endotel pembuluh darah dan menyebabkan ekstravasasi plasma dalam otak, terutama dalam substansia alba yang lebih lunak daripada substansia grisea. Tikus yang

masih menyusu lebih rentan terhadap timbal. Hal ini disebabkan ketidakmatangan sistem pembuluh darahnya. Timbal juga mempunyai efek serupa dalam endoneurium yaitu menyebabkan meningkatnya tekanan cairan endoneural dan demielinisasi. Sedangkan timbal organik misalnya tetraetil timbal lebih mudah menembus sawar dan karenanya dalam hal ini lebih toksik (Lu, 1995).

2.4. Prosedur Pengujian

Ada banyak prosedur pengujian untuk pemeriksaan neurotoksikologi. Salah satu diantaranya adalah dengan pemeriksaan morfologik. Seperti diuraikan di atas pengaruh neurotoksikan dapat bekerja pada sistem saraf pusat, sistem saraf perifer, atau keduanya. Zat-zat itu dapat menginduksi lesi dalam perikaryon neuron atau aksonnya. Lesi pada akson dapat terjadi di bagian proksimal atau distal. Lesi juga dapat terjadi pada sel yang bermielin atau sarung mielin itu sendiri, astrosit, atau sel endotel pembuluh darah. Karenanya, pemeriksaan morfologik penting untuk menentukan tempat lesi toksik yang tepat pada tingkat anatomik. Pemeriksaan pada tingkat sel dan ultrastruktur sering memudahkan diagnosis banding pada neuropati dan penentuan cara kerja zat neurotoksik (Lu, 1995).

2.5. N. Ischiadicus

Kebanyakan saraf memiliki serat sensoris dan motoris dan disebut serat saraf campuran, saraf ini memiliki akson bermielin dan tanpa mielin. Nervus ischiadicus adalah saraf perifer yang termasuk dalam katagori saraf campuran.

Nervus ini merupakan nervi spinalis dari devisi anterior dan posterior lumbal 3-4 dan plexus sacralis (April, 1990).

Saraf ini merupakan saraf terbesar di tubuh. Terdiri dari 2 saraf yaitu: nn. Peroneus Communis et tibialis yang disatukan oleh jaringan ikat mulai awal sampai tepi superior fossa poplitea. N.ischiadicus memasuki regio glutea melalui foramen infrapiriformis. M.gluteus maximus berada di superficialnya dan saraf ini terletak di antara trochanter major dan tuber ischiadica. Di anterior dari saraf ini terdapat os ischium, mm.gamelli, obturator internus et quadratus femoris. Selanjutnya n.ischiadicus memasuki regio femoris dorsalis (Subagjo ,2004).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

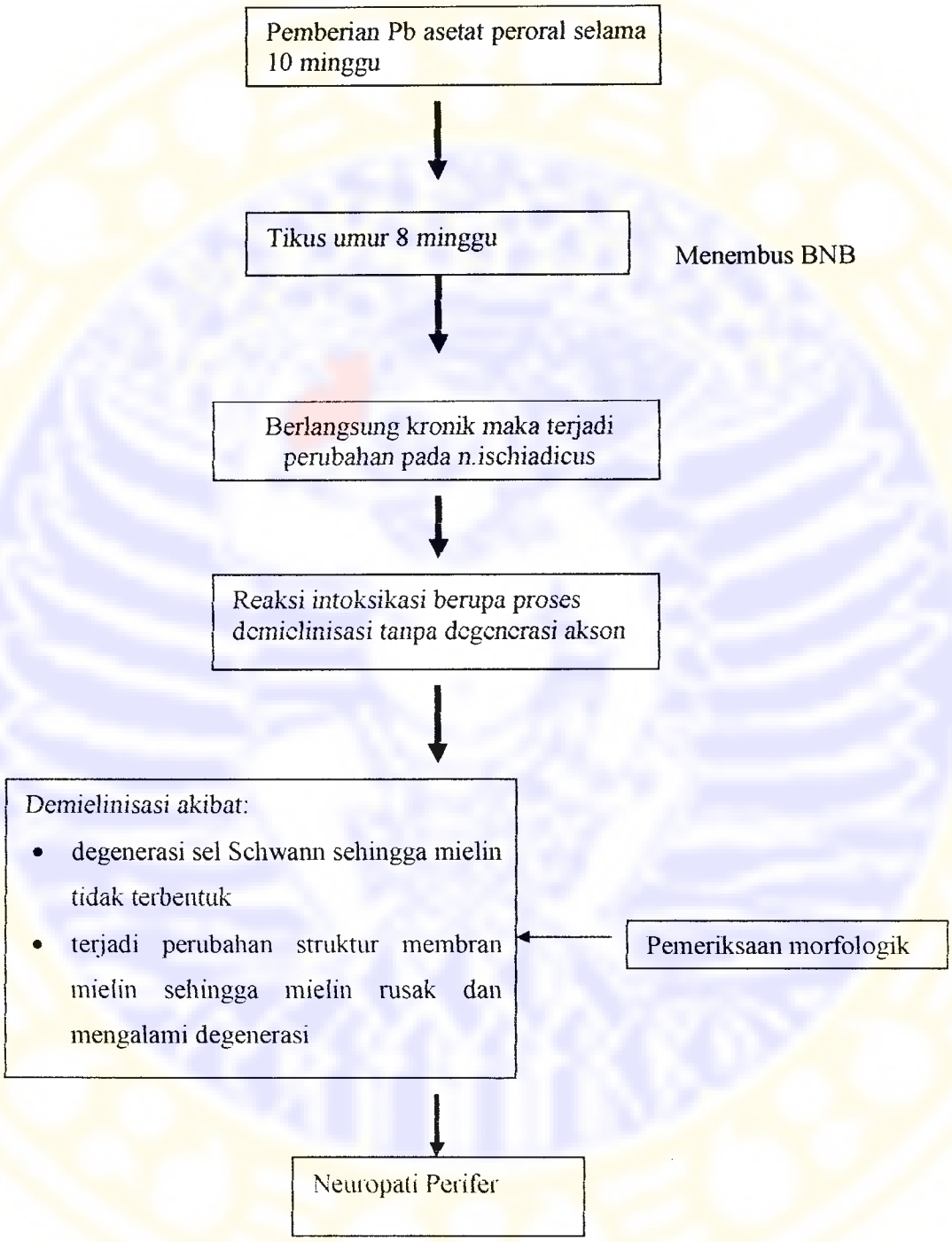
3.1. Kerangka Konseptual

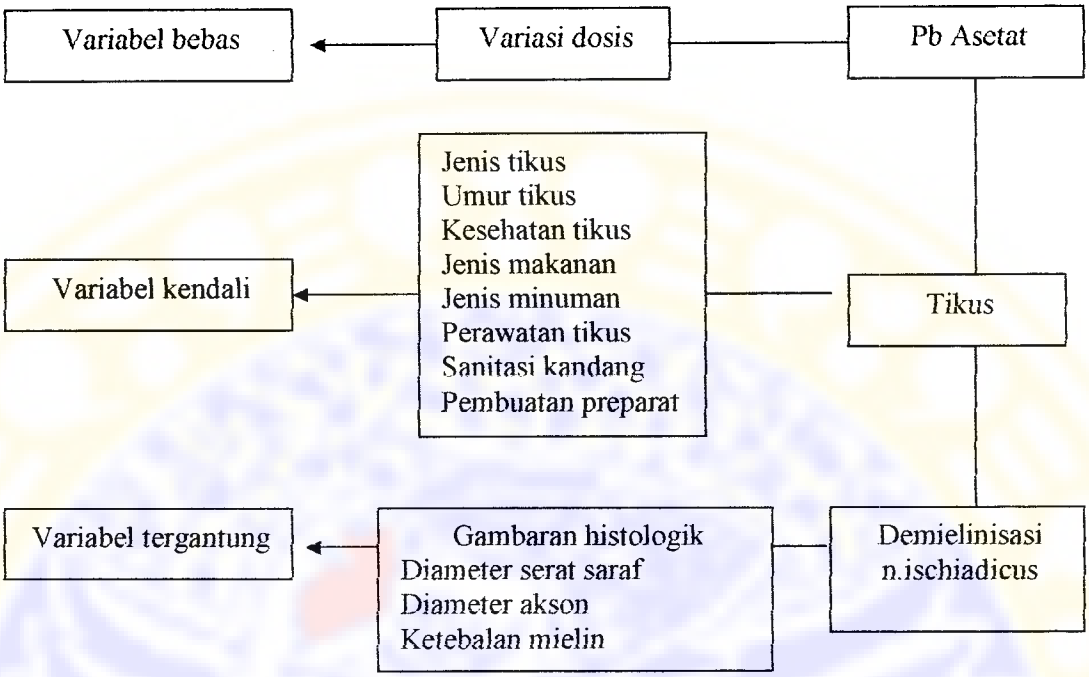
Timbal bersifat toksik jika terhirup atau tertelan dan di dalam tubuh akan beredar mengikuti aliran darah, diserap kembali di dalam ginjal dan otak dan disimpan di dalam tulang dan gigi (Setyorini, 2005).

Sistem saraf adalah salah satu target organ keracunan timbal. Pengaruh timbal pada sistem saraf tidak hanya pada saraf pusat tapi juga pada sistem saraf tepi bahkan pengaruhnya terhadap sistem saraf tepi terjadi lebih awal dibandingkan dengan SSP. Adanya daya ikat yang tinggi terhadap sel-sel, timbal bisa menyebabkan demielinisasi pada saraf tepi seperti pada n.ischiadicus (Casarett, 1999; Sudibyo, 1993).

Pemeriksaan morfologik dengan menggunakan pewarnaan histologik dengan asam osmik sebagai fiksasi dapat menentukan gambaran selubung mielin yang akan tampak sebagai cincin berwarna gelap pada potongan melintang. Gambaran ini dapat dipakai untuk menentukan ketebalan mielin saraf yang mengalami demielinisasi.

Gambar 3.3 Skema Kerangka konseptual





3.2. Hipotesis Penelitian

Dari kerangka konseptual di atas, maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Pemberian Pb Asetat berpengaruh terhadap diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus putih.
2. Pemberian Pb asetat berpengaruh pada diameter akson n.ischiadicus tikus putih.
3. Ada perbedaan pengaruh antara pemberian Pb Asetat dengan dosis 65 mg/kg berat badan, 125 mg/kg berat badan, 250 mg/kg berat badan, dan 500 mg/kg berat badan terhadap diameter serat saraf, dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus putih.

BAB 4

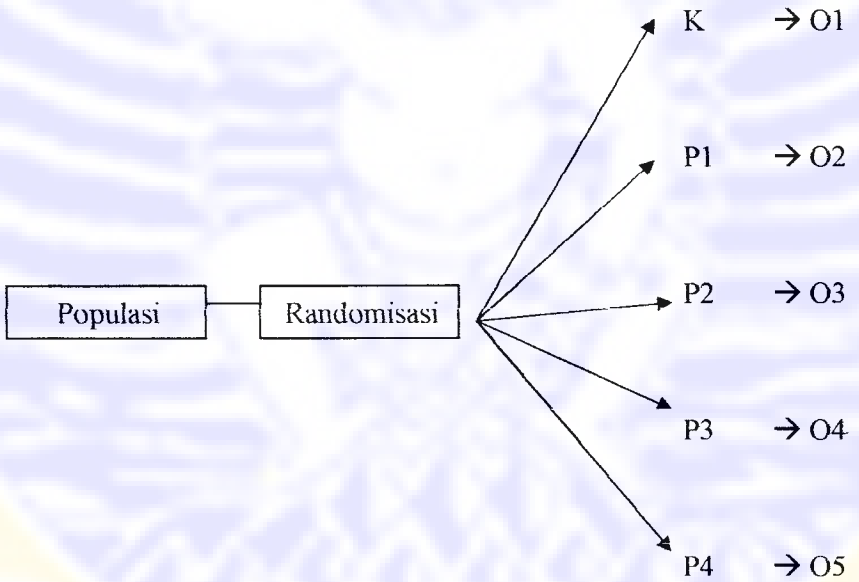
METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental murni karena unit eksperimen (selain unit kontrol) mendapatkan perlakuan yaitu Pb Asetat dalam bentuk larutan.

Rancangan yang dipergunakan adalah Post Test Only Control Group Design (Zainudin, 1998), sehingga pengukuran variabel hanya dilakukan pada akhir penelitian. Pada awal penelitian dilakukan Control by Design dengan menghomogenkan sampel penelitian.

Skema rancangan penelitian yang dipakai:



K = kelompok kontrol = kelompok I

Hanya diberikan aquadest steril

P1 = kelompok II

Diberikan Pb Asetat dosis 65 mg/kg BB

P2 = kelompok III

Diberikan Pb Asetat dosis 125 mg/kg BB

P3 = kelompok IV

Diberikan Pb Asetat dosis 250 mg/kg BB

P4 = kelompok V

Diberikan Pb Asetat dosis 500 mg/kg BB

Rancangan percobaan adalah Completely Randomized Design, dengan 5 kali perlakuan dan 6 kali ulangan.

Jumlah unit percobaan = P x U = 5 x 6 = 30

Nilai-nilai untuk percobaan diberi simbol Yij, dimana:

i = ulangan ke-i (i=1,2,3,…,U) , j = perlakuan ke-j (j=0,1,2,…,P) (Kemas,1991)

4.2. Populasi, Sampel, dan Besar Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan, umur 7 minggu, berat sekitar 80-100 gram. Dari populasi tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai sampel penelitian. Besar sampel minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus Kemas (1991).

$(t-1)(r-1) \geq 15$

$(5-1)(r-1) \geq 15$

$r \geq (15/4) + 1$

$r \geq 4,75$

$r \geq 5$ (pembulatan)

t = treatment, perlakuan

r = replikasi, ulangan

Jadi jumlah minimal adalah 5.

Dalam penelitian ini digunakan 6.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Klasifikasi Variabel

1. Variabel bebas : larutan Pb Asetat
2. Variabel tergantung : diameter serat saraf, diameter akson dan ketebalan mielin n.ischiadicus
3. Variabel kendali : jenis tikus, umur tikus, kesehatan tikus, jenis makanan dan minuman, perawatan dan sanitasi kandang, dan pembuatan preparat histologik.

4.3.2. Definisi Operasional Variabel

1. Pb Asetat

   Pb Asetat yang dipergunakan adalah Plumbum Asetat Trihidrat dengan rumus kimia Pb [(C2H3O2)2 3H2O] GR ACS buatan Merck German yang diperoleh dari toko kimia. Senyawa ini memiliki BM = 379, 34 g/mol.

2. Diameter serat saraf, diameter akson dan ketebalan mielin

   Diameter serat saraf adalah ukuran keseluruhan serat saraf yang meliputi mielin yang membungkus akson secara utuh dari potongan melintang bagian proksimal n.ischiadicus extremitas posterior dextra yang sudah diwarnai dengan pewarnaan menggunakan modifikasi pra-TEM dengan asam osmik sebagai fiksaasi. Sedangkan diameter akson adalah ukuran lingkaran yang berwarna jernih atau bagian yang tidak berwarna terletak

pada bagian sentral serat saraf. Ketebalan mielin didapat dari ukuran diameter serat saraf dikurangi diameter akson serat saraf n.ischiadicus yang diukur. Sediaan ini diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 450x dengan pengukuran menggunakan mikrometer yang sudah ditera terlebih dahulu.

3. Jenis tikus : *Rattus Norvegicus*

   Umur tikus : 7 minggu

   Kesehatan tikus dapat diamati dari morfologi dan berat badannya:

   - Morfologi: gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih & tanpa luka, mata terang & tidak sayu.
   - Berat badan kurang lebih 80-100 gram
   - Jenis makanan: pakan yang diberikan secara ad libitum adalah pakan untuk ayam pedaging dengan merk dagang BR-1 produksi PT.Comfeed Indonesia, yang memiliki kandungan protein kasar sebesar 20,42%. Kandungan bahan pakan yang akan digunakan untuk penelitian tidak terlalu berbeda dengan kebutuhan standart pakan rodensia.

   Jenis minuman: aqua

   Perawatan tikus:

   - Pemberian pakan setiap hari
   - Pemberian minum secara ad libitum 1 liter/3hari untuk 10 ekor
   - Penggantian sekam untuk alas tidur 2 hari sekali

   Sanitasi kandang:

   - Dibersihkan tiap hari

- Suhu sesuai suhu ruang
- Cukup ventilasi dan sinar matahari
- Tidak lembab

Pembuatan preparat: menggunakan teknik pewarnaan pra TEM dengan asam osmik sebagai fiksasi dan toloidin blue sebagai pewarna.

4.4. Bahan Penelitian

1. Pb Asetat Trihidrat dilarutkan dalam air suling dengan dosis harian masing-masing perlakuan 65 mg/kg BB, 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan aquades untuk pemberian kontrol.
2. Pakan merk dagang BR-1 produksi PT.Comfeed dan aqua, serta sekam untuk alas tidur.
3. Untuk pembuatan preparat: Glutaraldehyde, Propilen oksid, Na-fosfat 0,2 M, Epon 812, DDSA, MNA, DMP 30, Osmik tetraoxid, label
4. Untuk pengamatan: tissue lens, label

4.5. Alat/Instrumen Penelitian

1. Kandang plastik ukuran 40 cm x 65 cm x 25 cm, terbuat dari kawat ayakan dengan ukuran lubang 6 mm, dilengkapi tempat makan dan botol minum.
2. Timbangan miligram, gunting bedah, skalpel, bak lilin, spuit, sonde.
3. Object glass, cover glass, ultra mikrotom, mikroskop, eyepiece mikrometer, alat photograph & film.

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan pada tikus putih ini dilakukan di Laboratorium Biokimia. Sedangkan pembuatan sampel dilakukan di bagian mikroskop elektron Pengamatan terhadap sampel atau sediaan dilakukan di laboratorium histologi bagian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Total waktu penelitian adalah 3 bulan, terhitung mulai bulan April sampai Juni 2005.

4.7. Prosedur Pengumpulan Data

4.7.1. Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Pada penelitian ini tikus diperlakukan sesuai dengan animal etic yaitu selama penelitian berlangsung tikus ditempatkan dalam kandang yang sesuai dengan kondisi tubuhnya dengan lingkungan yang selalu dipantau dan terpelihara.Tikus mendapatkan makan dan minum yang sesuai dengan kebutuhannya setiap hari. Adapun prosedur pelaksanaan penelitiannya sebagai berikut:

1. Tikus (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor diadaptasikan dahulu selama 1 minggu.
2. Kemudian dipilih secara random menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok beranggotakan 6 ekor.
3. Makanan berupa pakan ayam pedaging merk BR-1 diberikan sebanyak 20 g / ekor / hari.
4. Minuman tikus adalah Aqua yang diberikan secara ad libitum.

5. Perlakuan berupa pemberian larutan Pb Asetat kepada tikus mulai saat berusia 8 minggu. Larutan diberikan melalui kerongkongan dengan menggunakan sonde sesuai dosis masing-masing perlakuan sebagai berikut:

   Kelompok I: diberi aquadest saja sebagai placebo

   Kelompok II: diberi Pb Asetat 65 mg/kg BB

   Kelompok III: diberi Pb Asetat 125 mg/kg BB

   Kelompok IV: diberi Pb Asetat 250 mg/kg BB

   Kelompok V: diberi Pb Asetat 500 mg/kg BB

   Volume pemaparan Pb asetat sebesar 0,5 x volume maksimum yang dibolehkan pada tikus (volume maksimum= 5cc untuk 100 gram tikus). Volume maksimum yang boleh diberikan pada uji keracunan kronik dan diberikan berulang kali dalam jangka waktu panjang adalah 0,5 x volume maksimum yang boleh diberikan. Sehingga agar dosis benar-benar dapat dijamin keseragamannya, seharusnya sediaan Pb asetat dibuat sekaligus dalam satu kurun waktu penelitian. Karena faktor pertambahan berat tikus yang selalu berubah dan dosis berdasarkan berat badan tikus maka pembuatan sediaan larutan Pb asetat dibuat setiap satu minggu sekali.

6. Pada akhir minggu ke-10 tikus dikorbankan.

7. Kemudian diambil n.ischiadicusnya khususnya n.ischidicus extremitas posterior dextra 1 cm dari bagian pangkal atau tempat keluarnya dari percabangan. Jaringan segar dapat disimpan untuk dibuat sediaan histologik.

4.7.2 Cara Pembedahan Tikus

1.Tikus yang telah dikorbankan diletakkan pada papan, lalu keempat kakinya difiksir dengan jarum pentul.

2.Pembedahan tikus dimulai dari garis sagital.

3.Pembedahan dilanjutkan sampai daerah ekstremitas posterior dextra pada regio femoris dorsalis untuk menemukan n.ischiadicus.

4.N.ischiadicus yang digunakan adalah n.ischidicus pada ekstemitas posterior dextra. Nervus yang sudah ditemukan dipotong kurang lebih 1 cm dari bagian pangkal untuk diambil dan dibuat sediaan histologik (Elaine, 1983).

4.7.3. Pembuatan Preparat Histologik

Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat ini adalah dengan metode sediaan hayati Pra-TEM (Transmission Electron Microscope). Disebut Pra-TEM karena sediaan yang dibuat hanya sampai pada pengirisan tebal dengan ultra mikrotom selanjutnya sediaan diperiksa dibawah mikroskop cahaya pembesaran 450 kali. Adapun langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Larutan penyangga (Buffer)

Larutan penyangga Na-fosfat 0,2 M yang mempunyai pH 5,8-7,7

1. Fiksasi Jaringan dengan Glutaraldehyde

Mengawetkan jaringan hidup dengan larutan glutaraldehyde 2% dalam 0,1 M fosfat atau dalam buffer yang lain,agar struktur sel tetap terpelihara.

2. Fiksasi selanjutnya dengan Osmium Tetraoksida (OSO_4)

Memfiksasi struktur sel yang belum terfiksasi oleh glutaraldehyde dengan menggunakan OSO_4 1%. Jadi post fiksasi menggunakan OSO_4 1% dalam 0% fosfat selama 2 jam pada suhu 4^0C.

3. Dehidrasi dan pencucian

   Menghilangkan OSO_4 di dalam jaringan dan menghilangkan seluruh air dari jaringan secara bertahap. Pada dehidrasi ini digunakan alkohol atau etanol yaitu 30%, 50%, 70%, masing-masing selama 10 menit pada suhu kamar dan dibiarkan selama 1 malam.selanjutnya digunakan dehidrasi dengan alkohol 100% I dan alkohol 100% II, masing-masing selama 10 menit.

4. Impregnasi

   Di dalam propilen oksid yang bebas air 2 kali selama 10 menit pada suhu kamar. Propilen oksid:eponmix=1:1, selama 1 malam atau 16 jam pada suhu kamar. Masukkan bahan plastik ke dalam jaringan yang sudah didehidrasi untuk memperkuat jaringan.

5. Embedding (Pencetakan) Blok

   Mencetak dan mengeraskan jaringan yang sudah dimasuki plastik di dalam bahan plastik digunakan plastik epon 812, yaitu:

   - Epon 812 : 9,80 gram
   - DDSA (Dedocenyl Succinic Anhydride) : 9,80 gram
   - MNA (Methyl Nadic anhydride) : 11,40 gram
   - DMP 30 (senyawa accelator) : 0,5 cc

   Semua dicampur dengan baik selama kurang lebih 5 menit maka bahan plastik siap digunakan.

6. Pembuatan pisau kaca

Menggunakan alat pembuat pisau, menyiapkan pisau kaca yang digunakan untuk penirisan blok. Bahan yang digunakan adalah kaca nako tebal 5 mm dengan ukuran 10x10 cm^2.

8. Pembuatan penampung air pada pisau kaca

   Penampung air pada pisau kaca ini dibuat dari pita plastik berperekat untuk menampung irisan-irisan yang teriris pisau kaca.

9. Pembuatan Blok dan Bidang irisan (Trimming)

   Melakukan pembentukan blok (trimming kasar) dan bidang irisan (trimming halus), supaya blok siap diiris dengan ultra mikrotom. Persiapan yang diperlukan ialah blok plastik berisi jaringan, penjepit blok, mikroskop stereo, pisau silet dan karet pengembus. Apabila jaringan terbenam jauh di dalam plastik, bagian plastik yang menutupi jaringan dapat dibuang dengan jalan menggunakan gergaji tripleks, bor gigi atau kikir dan lain-lain.

10. Pembuatan Grid berselaput plastik

    Bertujuan untuk mengisi celah-celah dengan selaput plastik sehingga irisan sediaan tidak lolos dan dapat terletak di atas grid. Persiapan yang diperlukan adalah grid tembaga baru, larutan colodion 25 dalam amyl asetat atau formvar 0,25% dalam ethylen dichloride, bejana coplin: gelas benda, pisau silet, *petri-Schaal* (cawan petri) berisi kertas saring, beaker 2000 ml dan *tweezer*.

    Catatan:

    Jangan membersihkan peralatan, gelas misalnya dengan menggunakan alkohol atau aseton, apabila peralatan terlalu bersih, selaput plastik sukar terlepas dari gelas.

- Lampu floresens untuk menerangi penampung air pada pisau dan untuk menilai mutu dan ketebalan irisan
- Pivot, pengatur ketebalan irisan satu putaran penuh berarti ketebalan 50 nm.
- Thickness, pengatur ketebalan irisan antara 1 nm-4 μm.
- Pengatur kecepatan irisan (speed), yaitu pada pengirisan dari 0,09-3,2 nm/detik
- Duration, pengatur jauhnya lintasan pemegang blok pada waktu bergerak dengan waktu tertentu.
- Posittution, pengatur tinggi rendahnya kedudukan blok untuk memulai lintasan.
- Tombol motor untuk menghidupkan dan mematikan motor pemegang blok untuk pengirisan secara otomatis.
- Tombol by pass, untuk menyela pengirisan-pengirisan tipis dengan pengirisan tebal tanpa mematikan motor.
- Tombol reset untuk mengembalikan pemegang blok pada kedudukan paling belakang, bila pemegang blok tak dapat bergerak maju lagi.
- Rakitan pemegag pisau.

11. Ultra Mikrotomi

Tempat pemasangan blok untuk diiris.

12. Pengirisan tebal dengan Ultra Mikrotomi

Tujuan untuk mengiris blok dengan ketebalan 1 μm untuk mengetahui dengan tepat keadaan irisan sudah mencapai bagian yang diinginkan. Persiapan; blok berisi jaringan dan sudah dibentuk, ultra mikrotom, tusuk gigi, aquadest, alat

suntik plastik, cat toloidin blue 1%, gelas penutup, lampu spiritus yang diatur suhunya.

4.7.2. Teknik Pengumpulan Data

Setiap N.Ischiadicus diproses menjadi sediaan histologi kemudian diamati perubahan yang terjadi berdasarkan tingkat perubahan seluler. Evaluasi perubahan yang terjadi adalah dengan cara megukur diameter serat saraf, diameter akson untuk dapat menentukan ketebalan mielin. Untuk mengurangi bias pengamatan dilakukan pada 4 lapangan pandang pada posisi jam 12, 3, 6, dan 9 untuk setiap ulangan. Pada setiap lapangan pandang dihitung 10-15 serat saraf. Sehingga hasil pengukuran merupakan rerata dari kelima lapangan pandang. Kemudian hasil pengukuran masing-masing dosis perlakuan diambil reratanya untuk ditabulasi kemudian dibandingkan dengan uji anova.

4.8. Teknik Analisa Data

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan beberapa tahap yaitu uji normalitas dan uji homogenitas,anava satu arah (one way) dengan taraf kepercayaan 5 %. Jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (Steel & Torrie, 1991).

a. Uji normalitas dan homogenitas

Uji normalitas dilaksanakan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari penelitian berdistribusi normal atau tidak. Sedangkan uji homogenitas digunakan untuk mengetahui keseragaman/kehomogenan data yang diperoleh.

b. Uji Anova satu arah digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

c. Uji beda nyata terkecil atau LSD digunakan untuk melihat pemberian Pb asetat dengan dosis minimal yang sudah dapat menunjukkan perbedaan diameter serat saraf, diameter akson dan ketebalan mielin n.ischiadicus tikus dan digunakan untuk melihat apakah ada perbedaan diantara perlakuan satu dengan perlakuan lainnya terhadap masing-masing variabel.

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

Data hasil penelitian eksperimen ini berupa angka rerata yang didapat dari pengukuran sampel berupa sediaan n.ischiadicus yang diwarna dengan pewarnaan modifikasi pra TEM. Sampel diukur menggunakan mikrometer yang sudah ditera di bawah mikroskop cahaya dengan pembesar 450x. Hasil akhir pengukuran dalam satuan milimeter yang selanjutnya dirubah dalam satuan mikrometer.

Ada 3 macam data hasil pengukuran yang berasal dari 3 jenis variabel tergantung yang diukur sebagai respon dari perlakuan yaitu: 1) data rerata diameter serat saraf, 2) data rerata diameter akson, 3) data rerata ketebalan mielin. Berikut data hasil pengukuran masing-masing variabel tersebut:

Tabel 5.1. Rerata diameter serat saraf n.ischiadicus

NO Sampel	Diameter serat saraf				
	Kontrol	Pi=65 mg/kgbb	Pi=125 mg/kgbb	Pi=250 mg/kgbb	Pi=500 mg/kgbb
1	4,480	2,690	2,201	1,999	1,862
2	4,318	2,676	2,024	2,000	1,732
3	4,102	2,654	2,181	1,997	1,732
4	4,183	2,676	2,091	1,889	1,709
5	4,048	2,700	2,158	1,997	1,734
6	3,967	2,700	2,249	1,889	1,862
Rerata± SD	4,182±0,1902	2,683±1,77E-02	2,151±0,13167	1,963±0,10853	1,735±0,116

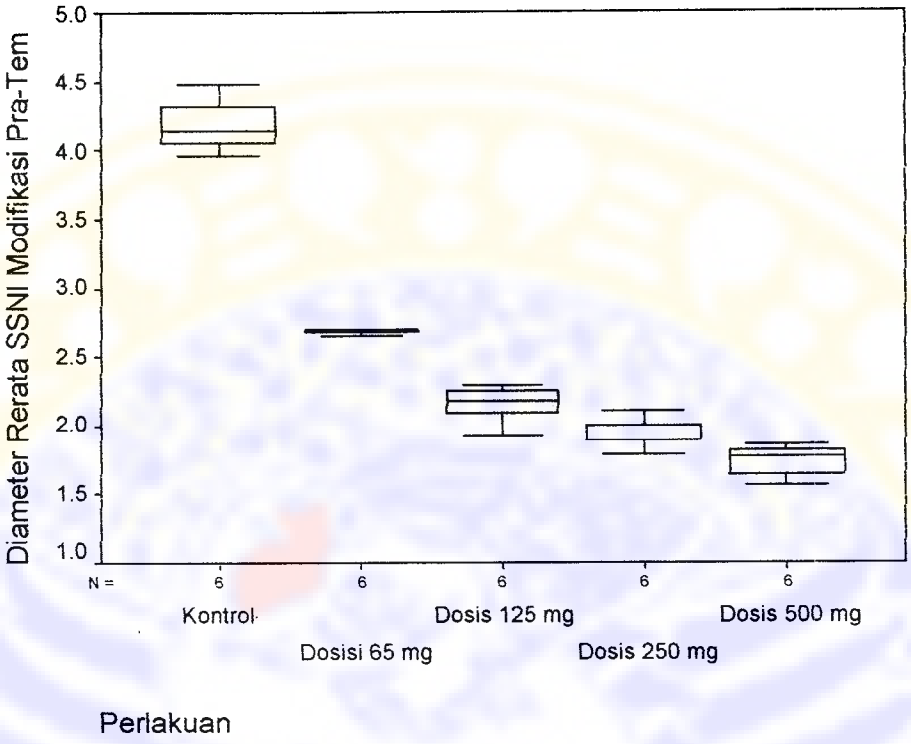
Tabel 5.2. Rerata diameter akson serat saraf n.ischiadicus

NO Sampel	Diameter akson serat saraf				
	Kontrol	P1=65 mg/kgbb	P1=125 mg/kgbb	P1=250 mg/kgbb	P1=500 mg/kgbb
1	1,680	1,507	1,664	1,574	1,687
2	1,645	1,507	1,574	1,574	1,664
3	1,642	1,664	1,664	1,754	1,664
4	1,650	1,664	1,619	1,754	1,664
5	1,670	1,687	1,597	1,596	1,574
6	1,670	1,642	1,574	1,596	1,574
Rerata± SD	1,659±1,58E-02	1,612±0,131	1,615± 4,12E-02	1,641+0,134	1,639±0,126

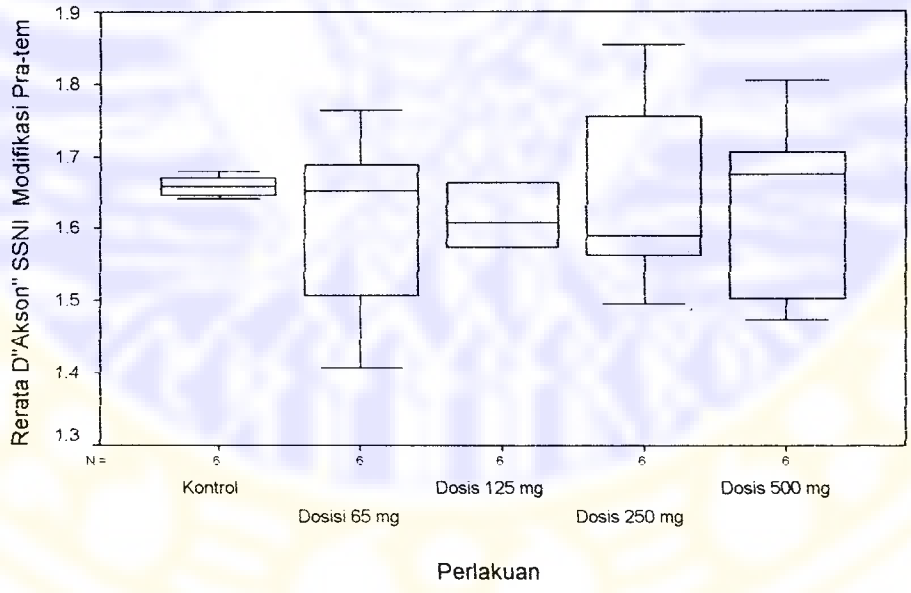
Tabel 5.3. Rerata ketebalan mielin serat saraf n.ischiadicus

NO Sampel	Ketebalan mielin serat saraf				
	Kontrol	P1=65 mg/kgbb	P2=125 mg/kgbb	P3=250 mg/kgbb	P4=500 mg/kgbb
1	2,366	1,010	0,537	0,425	0,175
2	2,676	1,031	0,450	0,426	0,068
3	2,483	1,012	0,517	0,243	0,068
4	2,464	1,026	0,472	0,235	0,045
5	2,699	1,030	0,561	0,401	0,260
6	2,325	1,030	0,675	0,293	0,288
Rerata± SD	2,522±0,189	1,071±0,132	0,535± 0,117	0,321±0,118	9,58E-02±6,53E-02

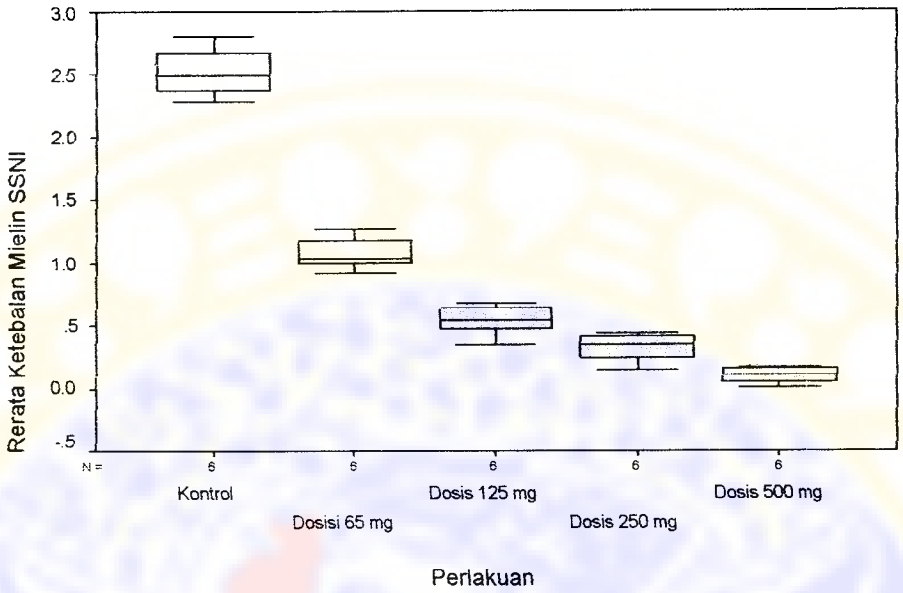
Apabila data dari masing-masing variabel diatas digambarkan dalam bentuk grafik boxplot akan tampak seperti dibawah ini:



Grafik 5.1. Rerata diameter serat saraf n.ischiadicus



Grafik 5.2. Rerata diameter akson serat saraf n.ischiadicus



Grafik 5.3. Rerata ketebalan mielin serat saraf n.ischiadicus

Berdasarkan grafik di atas tampak rerata diameter serat saraf n.ischiadicus mempunyai kecenderungan makin menurun seiring dengan peningkatan dosis dengan kata lain semakin tinggi dosis Pb asetat yang diberikan diameter serat saraf n.ischiadicus semakin kecil. Gambaran grafik yang serupa juga tampak pada ketebalan mielin yang mempunyai kecenderungan makin menurun . Sedangkan pada rerata diameter akson serat saraf cenderung turun naik bahkan hampir sama antara dosis 250 mg/kgbb dan 500 mg/kgbb. Grafik yang naik turun ini menunjukkan adanya variasi ukuran rerata diameter akson antara kelompok kontrol, dosis 65, 125, 250 dan 500 mg/kgbb meskipun variasi ini tidak terlalu berbeda satu sama lainnya.

Selanjutnya data yang sudah ada ini dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas sebagai syarat agar dapat dilakukan analisa menggunakan uji varian satu arah (Anova satu arah). Berdasarkan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov didapatkan hasil bahwa distribusi data dari variabel rerata diameter serat saraf,

diameter akson dan ketebalan mielin pada setiap perlakuan berdistribusi normal karena nilai signifikansinya pada setiap perlakuan selalu lebih besar dari 0 (lihat lampiran 2). Sedangkan hasil uji homogenitas varian dengan uji Levene yang tersaji dalam lampiran 3 didapatkan hasil bahwa varian pada setiap perlakuan dari rerata diameter serat saraf adalah homogen karena nilai signifikansi p=0,053>0,05. Begitu juga varian untuk rerata ketebalan mielin sama (homogen) karena nilai signifikansi p=0,249>0,05. Tetapi varian untuk rerata diameter akson serat saraf tidak homogen karena nilai signifikansi p=0,005<0,05.

Oleh karena variabel rerata diameter serat saraf dan rerata ketebalan mielin memenuhi seluruh persyaratan uji Anova yaitu normalitas data dan homogenitas data maka data ini dapat langsung dianalisa dengan uji Anova satu arah. Sementara data rerata diameter akson karena hanya memenuhi satu persyaratan yaitu berdistribusi normal harus mengalami transformasi data terlebih dahulu agar dapat dianalisa dengan uji Anova satu arah.

Berdasar uji Anova satu arah (tabel 5.4.) ditemukan hasil F hitung untuk rerata diameter serat saraf 364,676 atau probabilitas p=0,000<0,05 dan hasil F hitung utuk rerata ketebalan mielin adalah 332,680 atau probabilitas p=0,000<0,05. Hal ini berarti ada perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Tetapi pada data rerata diameter akson ditemukan F hitung=0,222 atau probabilitas p=0,923>0,05, ini berarti tidak ada perbedaan nilai rerata diameter akson antar setiap perlakuan. Karena ada perbedaan yang sangat nyata antar kelompok perlakuan pada rerata diameter serat saraf dan rerata ketebalan mielin maka uji beda dilanjutkan dengan uji beda antar dua kelompok dengan LSD. Uji ini digunakan untuk mengetahui perlakuan-perlakuan manakah yang berbeda

nyata tersebut dan apakah pada dosis 65 mg/kgbb sudah ada pengaruh terhadap ketiga macam variabel yang diamati dan diukur. Sedangkan pada rerata diameter akson tidak perlu dilanjutkan uji antar dua kelompok karena sudah terbukti dari analisis di atas yaitu tidak berbeda nyata pada setiap kelompok perlakuan.

Tabel 5.4.Hasil Uji Anova satu arah rerata diameter serat saraf, rerata diameter akson dan rerata ketebalan mielin n.ischiadicus

Sumber Keragaman		Jumlah kuadrat	Db	Rata-rata kuadrat	F	Sig
Rerata diameter serat saraf	Antar kelompok	23,092	4	5,773	364,676	0.000
	Dalam kelompok	0,396	25	1,583E-02		
Rerata diameter akson	Antar kelompok	9,425E-03	4	2,356E-03	0,222	0.000
	Dalam kelompok	0,265	25	1,060E-02		
Rerata ketebalan mielin	Antar kelompok	22,652	4	5,663	332,680	0.000
	Dalam kelompok	0,426	25	1,702E-02		

Pada uji perbandingan selanjutnya yaitu uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) antara ukuran rerata diameter serat saraf N.Ischiadicus antara kelompok kontrol dengan semua dosis perlakuan. Perbedaan bermakna juga terlihat antara dosis 65mg/kgbb dengan dosis 125, 250, 500 mg/kgbb , antara dosis 125 mg/kgbb dengan dosis 250 , 500 mg/kgbb dan antara dosis 250 dengan dosis 500mg/kgbb.

Perhatikan tabel berikut:

Tabel 5.5.Beda rerata diameter serat saraf dan probabilitas p antara dua kelompok perlakuan.

	kontrol	P1	P2	P3	P4
	4,18183	2,68267	2,15067	1,96267	1,73517
Kontrol (4,18183)		1,49917 (0,00)#	2,03117 (0,00)#	2,21917 (0,00)#	2,44667 (0,00)#
P1 (2,68267)			0,53200 (0,00)#	0,7200 (0,00)#	0,94750 (0,00)#
P2 (2,5067)				0,18800 (0,016)#	0,41550 (0,00)#
P3 (1,96267)					0,22750 (0,04)#

Keterangan : P1= 65 mg/kgbb P2= 125 mg/kgbb P3= 250 mg/kgbb

P4= 500 mg/kgbb

=perbedaan antar dua kelompok perlakuan signifikan

Hasil uji LSD pada rerata ketebalan mielin juga menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna untuk setiap perlakuan yaitu antara kontrol dengan semua dosis Pb asetat, dan antar dosis perlakuan (65, 125, 250, 500 mg/kgbb). Perhatikan tabel berikut:

Tabel 5.6.Beda rerata ketebalan mielin dan probabilitas p antara dua kelompok perlakuan.

	kontrol	P1	P2	P3	P4
	2,52233	1,07083	0,53533	0,32133	9,58E-02
Kontrol (2,52233)		1,45150 (0,00)#	1,98700 (0,00)#	2,20100 (0,00)#	2,42650 (0,00)#
P1 (1,07083)			0,53550 (0,00)#	0,74950 (0,00)#	0,97500 (0,00)#
P2 (0,53533)				0,21400 (0,009)#	0,43950 (0,00)#
P3 (0,32133)					0,22550 (0,006)#

Hasil analisa data di atas menunjukkan bahwa pemberian Pb asetat terbukti secara nyata ($p<0,05$) mempengaruhi ukuran diameter serat saraf dan ukuran ketebalan mielin tetapi tidak terbukti secara nyata ($p>0,05$) mempengaruhi ukuran diameter akson n.ischiadicus . Hasil diatas juga menunjukkan bahwa pada dosis 65 mg/kgbb Pb asetat sudah mempengaruhi ukuran diameter serat saraf dan ketebalan mielin.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1.Pembahasan Metode Penelitian

Pada penelitian eksperimen ini dipilih hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan alasan: 1) pola absorbsi, distribusi dan eksresi Pb asetat antara manusia dengan tikus serta mencit identik (WHO,1976) dan 2) tikus mampu mentolerir Pb asetat atau timah hitam dalam dosis besar untuk periode yang lama dan dalam jangka waktu pendek sudah menunjukkan adanya perubahan-perubahan dalam struktur jaringan tertentu (Goyer and Rhyne, 1973).

Sedangkan pemilihan umur hewan coba 8 minggu didasarkan pada penelitian sebelumnya. Selain itu pada umur ini hewan coba sudah memasuki masa dewasa diharapkan dengan usianya yang sudah dewasa kemampuan mentolerir Pb lebih baik dibandingkan yang immatur. Sehingga mengurangi resiko kematian akibat pemaparan dosis tinggi. Dengan demikian proses patologi yang dialami tikus dapat diamati.

Penetapan jumlah hewan uji yang diperlukan dan dapat dievaluasi secara statistik mengacu pada rumus kemas dan data sekunder penelitian sebelumnya. Dalam penelitian ini tiap kelompok terdiri dari 6 hewan coba dengan alasan untuk menjaga jumlah minimal tetap terpenuhi mengingat waktu pemaparan yang lama yaitu selama 10 minggu. Dengan demikian jumlah keselurahan hewan coba yang digunakan adalah 30 ekor.

Pemilihan dosis Pb asetat pada penelitian ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Venogopal dan Lucky (1978) serta Garcia-Arenas (2005).

Penggunaan Pb asetat didasarkan atas kenyataan bahwa Pb asetat merupakan Pb organik yang stabil dan mudah larut dalam air (Goyer, 1988). Sehingga Pb asetat dapat diberikan secara oral.

Penelitian keracunan kronik Pb asetat atau timah hitam adalah pengujian yang mahal dan memerlukan waktu yang lama. Oleh karena itu perlu pembatasan waktu dan organ yang diteliti (Heywood,1983). Pada penelitian eksperimental ini organ yang dipilih adalah N.Ischiadicus karena merupakan saraf perifer yang sering mengalami kerusakan lebih awal dibandingkan saraf perifer yang lain akibat keracunan Pb asetat (Casseret, 1999).

Suatu penelitian dianggap penelitian kronik apabila pemaparannya diberikan berulang dengan waktu pemaparan kurang lebih 10 % dari masa hidup hewan coba. Maka untuk penelitian ini lama pemaparannya adalah 10% dari masa hidup tikus putih yaitu 2,4-3 bulan atau sekitar 10-12 minggu (Lu, 1995). Alasan lain apabila penelitian ini melebihi waktu 3 bulan sampai 6 bulan, uji ini tidak akan meningkatkan efek yang lebih banyak dan umumnya sudah timbul variasi random dan variasi random ini bisa mengacaukan hasil penelitian (Sudibyo, 1993).

Teknik pewarnaan sampel yang dipilih adalah dengan cara modifikasi pra TEM dengan asam osmik sebagai fikasasi dan toloidin blue sebagai pewarna. Alasannya adalah mielin merupakan kompleks lipoprotein yang unsur lipidnya mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang tinggi terhadap teknik pewarnaan ini. Selain itu dengan teknik ini sampel yang dibuat dapat sekecil mungkin sampai ukuran 1 μm sehingga gambaran serat saraf bermielin tampak jelas dan hasil yang

diperoleh diharapkan dapat mengurangi bias atau ketidaktelitian dalam pengukuran menggunakan mikroskop cahaya.

Sedangkan pemilihan penggunaan mikroskop cahaya dengan pembesaran 450x dengan alasan: 1) pada pembesaran 450x serat saraf yang terbungkus mielin sudah dapat diamati dan diukur, 2) lapangan pandang pengamatan terhadap vesikel saraf n.ischiadicus lebih luas sehingga dapat mengurangi bias pengamatan mengingat dalam satu vesikel terdiri atas banyak serat saraf yang letaknya menyebar dari tepi sampai ke bagian tengah. Dengan demikian seluruh serat saraf dalam satu vesikel terwakili. Sedangkan dengan pembesaran 1000x hanya bisa melihat satu lapang pandang vesikel dengan jumlah serat saraf yang sedikit sekali sehingga ada bagian lain dari vesikel yang tidak dapat diamati dan diukur. Selain itu .untuk mengurangi bias pada cara pengamatan dan pengukuran maka dilakukan pengamatan dan pengukuran ulang sebanyak 3x pada saat yang sama.

Pemilihan rancangan penelitian eksperimental dengan Post Test Only Control Group Design dengan alasan: 1) rancangan ini paling tepat untuk penelitian hubungan causal-efek yang dilakukan terhadap kejadian atau fenomena yang terjadi akibat adanya perlakuan atau intervensi oleh peneliti, 2) rancangan penelitian ini dianggap sebagai rancangan penelitian yang paling mantap karena mempunyai validitas eksternal dan validitas internal yang paling tinggi (Zainuddin, 1998).

6.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian pengaruh Pb terhadap n.ischiadicus banyak disebutkan dalam beberapa literatur mengingat nervus ischiadicus adalah saraf perifer yang paling

sering mengalami kerusakan lebih awal dibandingkan saraf perifer lainnya akibat keracunan Pb asetat (Anderson,1985; Casseret, 1999). Umumnya kerusakan yang yang terjadi lebih banyak mengenai serat saraf motorik dibandingkan serat saraf sensoriknya. Disfungsi saraf motorik secara klinik dapat didiagnosis dengan menggunakan alat electrophysiologi yang mampu mengukur kecepatan konduksi saraf. N.ischiadicus yang mengalami kerusakan biasanya memiliki kecepatan konduksi yang rendah (Casarret, 2001).

Selain menggunakan pemeriksaan di atas lesi toksik pada N.Ischiadicus dapat diamati dengan pemeriksaan morfologik seperti yang dilakukan pada penelitian ini. Hasil penelitian membuktikan bahwa Pb asetat mempengaruhi n.ischiadicus. Pengaruh Pb asetat ini tampak pada perubahan ukuran diameter serat saraf dan ketebalan mielin. Ada perbedaan yang sangat bermakna ($p<0,05$) antara kelompok kontrol dengan masing-masing dosis paparan pada hasil uji LSD. Semakin tinggi dosis Pb asetat yang dipaparkan pada tikus semakin kecil ukuran rerata diameter serat saraf dan semakin tipis tebal mielin dibandingkan kelompok kontrol (lihat lampiran 5 dan 6).

Secara histologi serat saraf bermielin mempunyai ukuran diameter antara 2-17 μm (Underwood,1992). Apabila dibandingkan dengan ukuran diatas maka ukuran rerata diameter serat saraf tikus yang mendapatkan paparan Pb asetat dosis 65 dan 125 mg/kgbb ukurannya masih dalam kisaran diameter serat saraf bermielin meskipun lebih kecil dari ukuran kelompok kontrol. Sedangkan untuk tikus yang mendapatkan dosis 250 dan 500 mg/kgbb ukuran diameternya lebih rendah dari ukuran normal. Keadaan ini menunjukkan bahwa ukuran rerata diameter serat saraf dipengaruhi secara langsung oleh besarnya dosis Pb asetat.

Pada dosis yang kecil 65 dan 125mg/kgbb kerusakan yang dialami oleh nervus masih ringan dibandingkan dosis 250 dan 500 mg/kgbb sehingga ukuran rerata diameter serat saraf tidak banyak berubah. Sedangkan semakin tinggi dosis yang dipaparkan pada tikus (250 dan 500 mg/kgbb) kerusakan n.ischiadicus semakin berat. Kondisi ini terlihat dari ukuran rerata diameter serat saraf yang lebih rendah dari ukurannya yang seharusnya.

Jadi, berdasarkan penjelasan di atas dapat diterangkan bahwa besarnya dosis dan cara pemaparan Pb asetat pada tikus merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kerusakan nervus. Alasannya karena besarnya dosis dan cara pemaparan ini berhubungan dengan konsentrasi Pb asetat pada suatu jaringan tertentu sehingga mempengaruhi berat ringannya kerusakan yang dialami oleh sistem organ (Bjorklund et al., 1981).

Selain dosis dan cara pemaparan faktor lain yang ikut menentukan berat ringannya kerusakan adalah lama pemaparan dan umur hewan coba. Disebutkan bahwa lama pemaparan mempunyai korelasi yang sama seperti dosis dan cara pemaparan, semakin lama Pb asetat dipaparkan konsentrasinya dalam suatu jaringan semakin tinggi (Bjorklund et al., 1981).

Sedangkan faktor umur atau usia hewan coba dilaporkan dari beberapa laboratorium bahwa hewan coba yang immature lebih tinggi daya absorbsinya terhadap Pb dibandingkan dengan yang mature. Sehingga tingkat kerusakan organ yang dialami oleh sistem organ pada yang immatur lebih berat dibandingkan dengan matur (Mykkanen et al., 1979; Forbes and Reina, 1972; Kello and Kostial, 1973). Karena usia tikus putih yang mendapatkan Pb asetat pada penelitian ini

adalah usia dewasa ada kemungkinan kerusakan yang terjadi tidak seberat apabila tikus belum dewasa.

Kerusakan yang dialami oleh n.ischiadicus ini dikarenakan adanya proses patologi. Proses ini sebagai bentuk reaksi intoksikasi terhadap Pb asetat. Umumnya ada dua macam bentuk reaksi saraf perifer terhadap trauma termasuk intoksikasi yaitu: 1) degenerasi axonal termasuk didalamnya adalah Wallerian degeneration, dan 2) demielinisasi segmental. Tetapi ada juga yang membagi menjadi 3 macam reaksi yaitu: 1) degenerasi aksonal, 2) demielinisasi segmental, dan 3) degenerasi aksonal distal (Underwood, 1992). Ketiga macam reaksi diatas dapat dialami secara bersamaan tetapi bisa juga salah satu reaksi bersifat predominan (MacSween,1992).

Pada proses demielinisasi akibat keracunan timbal ini, sel Schwann dapat mengalami kerusakan secara langsung. Degenerasi sel Schwann terjadi karena adanya perubahan ultrastruktur yaitu : 1) diduga berhubungan dengan adanya gangguan transpot Ca^{2+} , 2) adanya edema sel Schwann (Lu, 1995). Biasanya kerusakan ini dimulai pada daerah sekitar nodus Ranvier. Kerusakan yang dialami oleh sel Schwann akan berpengaruh terhadap selubung mielin karena selubung mielin berasal dari tumpukan-tumpukan membran sel Schwann akibat sitoplasmanya yang terperas dan tersisa dililitan terluar (Underwood, 1992). Akibatnya sarung mielin tidak terbentuk.

Proses lain yang mungkin terjadi akibat intoksikasi timbal yaitu langsung mempengaruhi sarung mielin yang sudah ada dengan cara menganggu struktur membrannya. Sehingga selubung mielin mengalami proses degenerasi terlepas dari akson (Lu,1995; Underwood, 1992). Pada penelitian ini proses degenerasi

mielin dibuktikan dengan semakin tipisnya ukuran ketebalan mielin seiring bertambahnya dosis paparan. Secara statistik ditunjukkan dengan nilai $p<0,05$ yang berarti ada perbedaan bermakna antara ukuran ketebalan mielin kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan atau paparan.

Sementara itu pengamatan terhadap akson menunjukkan ada sedikit variasi ukuran rerata diameter akson antar masing-masing kelompok. Variasi ini terlihat dari grafik boxplot yang cenderung naik turun bahkan hampir sama pada beberapa dosis. Variasi ini timbul akibat adanya sedikit pengaruh Pb asetat terhadap diameter akson atau ada faktor lain seperti faktor anatomis dan ketelitian dalam pengukuran yang mungkin berpengaruh terhadap timbulnya variasi ini. Namun demikian variasi ukuran rerata diameter akson antar kelompok ini tidak bermakna secara statistik dengan nilai $p>0,05$. Dengan kata lain Pb asetat tidak terbukti mempengaruhi ukuran rerata diameter akson n.ischiadicus.

Hasil ini sesuai pernyataan Underwood (1992) yang menjelaskan bahwa pada proses demielinisasi karena intoksikasi timbal atau Pb, akson tidak mengalami proses degenerasi sehingga kontinyuinitasnya tetap terpelihara. Selain itu pengaruh neurotoksis paparan timbal pada tikus kurang bervariasi dibandingkan manusia. Pada manusia neurotoksis timbal tidak hanya menyebabkan degenerasi sel Schwann diikuti dengan demielinisasi tetapi mungkin juga degenerasi akson. Manifestasi klinik pada berbagai sistem organ manusia juga lebih bervariasi dibandingkan tikus (Cassaret,1999; Lu,1995). Sedangkan pada tikus paparan timbal menyebabkan neuropati perifer dengan reaksi predominan demielinisasi segmental (Casarret, 1999).

Penelitian ini hanya dapat menjelaskan efek akibat pengaruh pemberian Pb asetat terhadap saraf perifer n.ischiadicus tetapi tidak dapat menunjukkan proses apa yang sebenarnya terjadi .Untuk dapat menerangkan semua proses diatas hanya dapat dibuktikan dengan pemeriksaan menggunakan mikroskop elektoron sehingga perubahan ultrastruktur yang terjadi dapat diamati. Pengamatan ultrastruktur menggunakan TEM akibat intoksikasi terhadap saraf perifer pada manusia dan hewan coba sudah banyak dilakukan meskipun memerlukan biaya yang cukup besar. Faktor inilah yang membatasi penelitian ini untuk dapat ,meneruskan pengamatan menggunakan TEM.

BAB 7

PENUTUP

7.1. KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian , hasil analisis, dan pembahasan diatas dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pb Asetat mempengaruhi ukuran rerata diameter serat saraf dan ukuran rerata ketebalan mielin n.ischiadicus
2. Terbukti ada perbedaan pengaruh antara pemberian Pb asetat dosis 65, 125, 250 dan 500 mg/kgbb terhadap diameter serat saraf dan ketebalan mielin n.ischiadicus.
3. Pb asetat tidak terbukti mempengaruhi ukuran rerata diameter akson n.ischiadicus.

7.2 SARAN

Berdasarkan atas hasil diatas , maka dapat disarankan:

1.Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan pemeriksaan TEM untuk dapat mengetahui lebih rinci perubahan ultrastuktur akibat pengaruh pemberian Pb asetat peroral terhadap n.ischiadicus.

2.Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi Pb asetat pada saraf perifer dan manifestasi klinik yang ditimbulkan sesuai jumlahnya dalam jaringan saraf tepi.

3.Karena efeknya yang sangat merugikan perlu penelitian secara terus menerus tentang pengaruh timbal ini terhadap berbagai sistem organ mengingat timbal banyak digunakan untuk keperluan hidup manusia.

DAFTAR PUSTAKA

Adiwisastra A., 1985. *Keracunan Sumber Bahaya Serta Penanggulangan.* Penerbit Angkasa Bandung. Hal 73-75.

Anderson, W.A.D., 1985. *Anderson'Patology.* Eighth edition, The C. V. Mosby Company, St.Louis, Toronto, Princenton.

Anonimous, 1998. *Pedoman Penetapan Bahan Baku Mutu Lingkungan.* Sekretariat Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup.

Anonimous, 1995. *Pedoman Penulisan Tesis dan Disertasi.* Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

April, Ernest W., 1990. *Anatomy*, 2nd edition. Harwal Publishing company, Malvern, Pennsylvania.

Ariens EJ, Mutschler E, Simonis AM, 1986. *Toksikologi Umum.* Gajah Mada University Press. Hal 1-6.

Arisandi, Prigi, *Mewaspadai Racun Timbal Di Udara Kita.www.geogle.com.* Diakses tanggal 5 Januari 2005.

Arrey HB, 1986. *Human Histology.* WB Saunders Co. Philadelphia. London. pp 252-261.

Baltrop D, 1969. *Transfer of Lead to the Human Fetus.* In Baltrop D & Burland. WL ed Mineral Metabolisme in Pediatrics. Philadelphia, Davis Co. pp 135-151.

Bjorklund, Hakan., Lind ,Birger., Piscacator, Magnus., Hoffer, Barry., Olson, Lars., 1981. Lead, zinc, and Copper Levels in Intraocular Brain Tissue

Grafts, Brain, and Blood of Lead-Exposure Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, volume 60. Academic Press, New York .

Cassarett LJ and Doulls, 1980. *Toxicology*. The Basic Science of Poisons. Macmillan Publishing Co. Inc. New York. pp 454-471.

----------,1999. *The Basic science of Poison*,Fifth Edition,The Mcgraw-hill Companies,USA.

----------, 2001. *The Basic Science of Poison*, Sixth Edition, The Mcgraw-hill companies, USA.

Cotton FA., Wilkinsons G.,1989. *Kimia Anorganik Dasar*. Diterjemahkan oleh Sahati Suharto, Penerbit Universitas Indonesia, UI Press. Hal 311-318.

Dobson, V., dan Zenz, C., 1988, *Lead and Its Compounds*: Zenz (ed) in : Occupotional Medicine Principle and Practical Applications, 2nd ed. Year book Medical publisher, Inc USA, pp:547-581.

Elaine Nickpon, Marieb RN., 1983. *Human Anatomy and Physiology*. The Benyamin Cumning Publishing Company, Inc Menlopark California. p.7-19, 244-254.

Forbs, G.B., and reina, J., 1972. Effect of age on gastrointestinal absorbtion of Fe, Zn, Pb in the rat. *J.Nutr*. 102, 647-652

Ganiswarna, 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Bagian Farmakologi FKUI Jakarta. Hal 781-799.

Garcia-arenas,Guadalupe., Ramirez-Amaya, Victor., Israela, balderas., Jimena, Sandoval., Martha, Escobar., Camilo, Rios., Federico, Bermudez-rattoni., 2004. *Behavioural brain Research:*Cognitive Deficits in adult Rats by lead intoxication are related with regional spesific Inhibition of cNOS, Vol.149

issue 1, p49, 11p, http://web21.epnet.com/citation.asp diakses tgl 16 februari 2005.

Goodman, L.s., dan Gilman, A., 1985. *The pharmacological Basis of therapeutics*, 6th ed. Mac Millan Publishing Co, Inc, New York, pp:1605-16011.

Goyer RA, 1996. *Toxic Effect of Metal in Cassaretts & Doulls Toxicology*. The Basic Company. pp 245-385.

Harper HA, 1983. *Review of Biochemistry*. Edisi 19. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. pp 312-313.

Israhmanto I, 1996. *Pengaruh Pemberian Pb Asetat Terhadap Berat Badan dan Fungsi Reproduksi Tikus (Mus musculus) Jantan*. Tesis, PPS Unair.

Junqueira L, carneiro J, 1998, *Histologi dasar*. Edisi 3. EGC Penerbit buku kedokteran Hal 175-179. Jakarta.

Kahle,Werner, 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Anatomi Manusia*:sistem saraf dan alat sensoris. Jilid 3, edisi 6. Hipokrates, Jakarta.

Katzung, 1987. *Basic and Clinical Pharmacology*, 3th ed. Appleton and Lange,A Publishing Division of Practice-Hall. pp:870-872.

Kello, D., and Kostial, K., 1973. The effect of milk diet on lead metabolisme in rats. *Environ.Res*. 6, 355-360.

Kemas Ali Sanafiah, 1991. *Rancangan Percobaan*. Universitas Sriwijaya Palembang. Rajawali Press. Jakarta. Hal 19-58.

Loomis TA, 1978. *Essential of Toxicology*. Henry Kimpton Publisher. London. pp225-256.

Lu FC, 1995. *Toksikologi Dasar, Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko.* Edisi Kedua. Penerbit UI Jakarta. Hal 224-235.

Macsween, Roderick N.M., Whaley, Keith., 1992. *Muir's textbook of Patology.* Thirteeth edition. Edward Arnold, Britain.

Mykkanen H.M., Dickerson, J.W., and Lancaster, M.C., 1979. Effect of age on tissue distribution of lead in rats. *Toxicology Applied Pharmacology*, 51, 447-454.

Palar H., 1994. *Toksikologi Logam Berat.*. PT Rineka Cipta Jakarta. Hal 9-59, 74-93.

Raffle, O.P., Lee, M.w., dan Clumm, C.M., Murray, O.r., 1987. *Hunter's Diseases of Occupation*, 1st ed. Little Brown dan CO, Boston.

Setyorini, Daru. *Beberapa Hal Penting Tentang Timbal dan Keracunan Timbal*, www.gengie.com. Diakses tanggal 5 Januari 2005

Siswanto, 1994. *Toksikologi Indutsri*, Balai Hiperkes dan Keselamatan Kerja, Depnaker, Jatim

Smith,Q.R.,Rabin,O.,and Chikhale,E,G.,1997. *Delivery of Metal to brain and The role of The BBB,in Metals and Oxidative stress.* (ed.J.R.Corner), Plenum Press, NY, PP 113-129.

Steel RGD, Torrie JH, 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistik.* PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal 209-220, 168-205.

Subagyo, 2003. *DiktatAnatomi*, Bagian 3. Laboratorium Anatomi-Histologi, FK-UNAIR.

Subowo, 2005. *Konsep Baru dalam Regenerasi Jaringan Otak* dalam Simposium Neurosains. Tanggal 29-30 Juli 2005, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

Sudana, I Ketut., Hariadi, Tania AS., 2005. *Persiapan Sediaan TEM*. UPT Mikroskop Elektron Universitas Airlangga.

Sudibyo, 1993. *Peran Gingiva dalam Menunjang Penentuan Tolak Ukur Keracunan Kronis Timah Hitam*. Disertasi., Universitas Airlangga Surabaya.

Thurau K, Beyland JW and Mason J, 1979. *Patophysiology of Acute Renal Failure*. Blackwell Scientific Publication. London. pp64-88.

Underwood J.C.E., 1992. *General and Systematic Patology*. Churchill Livingstone, Edinburgh.

WHO, 1977. *Enviroment Health Criteria 3: Lead*. Geneva, (19): 11-19.

Zainudin M, 1998. *Metodologi Penelitian*. Universitas Airlangga Surabaya. Hal 56-80.

Lampiran 1

Perhitungan Takaran Dosis

Dosis yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan pada MLD timah asetat yang digunakan per oral pada tikus putih sesuai tabel Venugopal dan Lucky,1978 dan berdasarkan data sekunder yaitu dosis penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Garcia-Arenas,2005 .Berdasarkan MLD maka dosis Pb asetat maksimal untuk keracunan kronis digunakan sebesar 5% dari MLD sehingga besarnya dosis yang dipakai adalah:

5% MLD = 5/100 x 1100 mg

= 550 mg/kg/bb

= 0,55 gram/kg/bb

Sedangkan dosis terkecil penelitian ini berdasarkan penelitian Garcia arenas yaitu sebesar 65 mg/kg/bb.Perhatikan lampiran tabel toksisitas timah hitam (Venogopal dan Lucky,1978,hal 190) berikut ini :

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran Tabel Toksisitas timah hitam (Venogopal dan Lucky, 1978, halaman 190):

TABLE 4-3. Lead Toxicity

Compound	Animal	Route	Toxicity	Dosage/kg body weight: Compound mg	Metal mg	Metal mM	Metal pT
Lead metal (powdered)	Rat	ip	LD_{lm}		1000	4.8	2.32
	Guinea pig	ip	MLD		100	0.48	3.32
Lead monoxide (PbO)	Rat	ip	LD_{50}	400	371	1.79	2.75
Lead dioxide PbO_2	Guinea pig	ip	LD_{50}	200	173	0.835	3.08
Lead tetroxide Pb_3O_4	Rat	ip	LD_{50}	220	19.9	0.96	4.02
	Guinea pig	ip	LD_{50}	450	408	1.97	2.71
Lead difluoride PbF_2	Guinea pig	oral	MLD	4000	3380	16.3	1.79
Lead chloride $PbCl_2$	Guinea pig	oral	LD_{50}	2000	1490	7.19	2.14
Lead perchlorate $Pb(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Mouse	ip	MLD	275	110	0.53	3.28
Lead nitrate $Pb(NO_3)_2$	Rat	ip	MLD	270	169	0.815	3.09
	Guinea pig	oral	MLD	1330	832	4.01	2.40
Lead sulfate $PbSO_4$	Guinea pig	ip	LD_{50}	300	205	0.99	3.00
Lead sulfide PbS	Guinea pig	ip	LD_{50}	1400	1350	6.68	2.17
	Rat	ip	LD_{50}	1400	1350	6.68	2.17
Lead orthophosphate $Pb_3(PO_4)_2$	Guinea pig	ip	MLD	131	100	0.48	3.32
Lead arsenate, $Pb_3(AsO_4)_2$	Rat	oral	LD_{50}	100	59.3	0.28	3.54
	Rabbit	oral	LD_{50}	125	74.2	0.358	3.45
	Human	oral	MLD	1.4	0.8	0.005	3.40
Lead silicate, $PbSiO_3$	Guinea pig	ip	LD_{50}	136	99.5	0.48	3.32
Lead chromate $PbCrO_4$	Guinea pig	ip	LD_{50}	400	252	1.21	2.92
Lead titanate $PbTiO_3$	Rat	ip	LD_{50}	2000	1360	6.57	2.18
Lead carbonate	Guinea pig	oral	MLD	1000	801	3.86	2.41
$(PbCO_3)_2 \cdot Pb(OH)_2$	Guinea pig	ip	MLD	124	99	0.48	3.32
Lead cyanide $Pb(CN)_2$	Rat	ip	MLD	100	80	0.38	3.41
Lead acetate	Mouse	ip	LD_{50}	140	82	0.396	3.40
$Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$	Rat	oral	MLD	11000	6000	28.9	1.54
	Rat	ip	LD_{50}	150	82	0.396	3.40
	Rat	iv	LD_{50}	140	76	0.36	3.44
	Rabbit	iv	LD_{50}	58	31.5	0.152	3.82
	Dog	iv	LD_{50}	350	191	0.921	3.04
Lead lactate	Guinea pig	oral	MLD	1000	337	1.63	2.79
$Pb(C_3H_5O_3)_2$	Guinea pig	oral	LD_{50}	3000	1010	4.88	2.31
Tetraethyl lead $Pb(C_2H_5)_4$	Rat	oral	LD_{50}	15	7.73	0.0373	4.43
	Rat	ip	MLD	10	5.64	0.0272	4.57
	Rabbit	ip	MLD	30	20.4	0.0984	4.01
	Rabbit	iv	MLD	22	14.9	0.0719	4.14
Lead fluosilicate $PbSiF_6 \cdot 2H_2O$	Rat	oral	MLD	250	134	0.648	3.19
Lead fluoborate $Pb(BF_4)_2$	Rat	oral	MLD	250	134	0.648	3.19

Lampiran 2

Uji Normalitas Setiap Perlakuan Pada Setiap Percobaan

		statisti	df	Sig.
D Rata SSNI Modifikasi	Kontro	.164	6	.200
	Dosis 65	.187	6	.200
	Dosis 125	.189	6	.200
	Dosis 250	.291	6	.123
	Dosis 500	.237	6	.200
D Rata"Akson" SSNI Modifikasi	Kontro	.247	6	.200
	Dosisi 65	.258	6	.200
	Dosis 125	.214	6	.200
	Dosis 250	.299	6	.102
	Dosis 500	.244	6	.200
Rerata Ketebalan Mielin	Kontro	.144	6	.200
	Dosisi 65	.205	6	.200
	Dosis 125	.137	6	.200
	Dosis 250	.251	6	.200
	Dosis 500	.274	6	.178

a.liliefors significance corection

Ho : Distribusi data pada setiap perlakuan dari suatu percobaan adalah berdistribusi normal

H1 : Distribusi data pada setiap perlakuan dari suatu percobaan adalah tidak berdistribusi normal

Alat uji : Uji normalitas kolmogorov smirnov 1 sampel

Rumus : $D = | So(x) - S1(x) |$, S (x) adalah jumlah prosentase komulatif dari frekuensi

Kreteria uji : Ho ditolak, bila D hitung > D tabel taraf kepercayaan 5 persen atau nilai probabilitas p yang berpadanan dengan D hitung kurang dari nol ($p < 0$)

Lampiran 3

Uji Homogenitas Varian

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
D Rata SSNI *Modifikasi Pra-Tem*	2.707	4	25	.053
D Rata"Akson" SSNI *Modifikasi Pra-tem*	4.778	4	25	.005
Rerata Ketebalan Mielin SSNI	1.443	4	25	.249

Lampiran 4

Rumus Penghitungan Ukuran Sampel dengan Mikrometer

Pada Pembesaran mikroskop 450x maka:

1 strip lensa occuler = 0,367347 lensa objektif

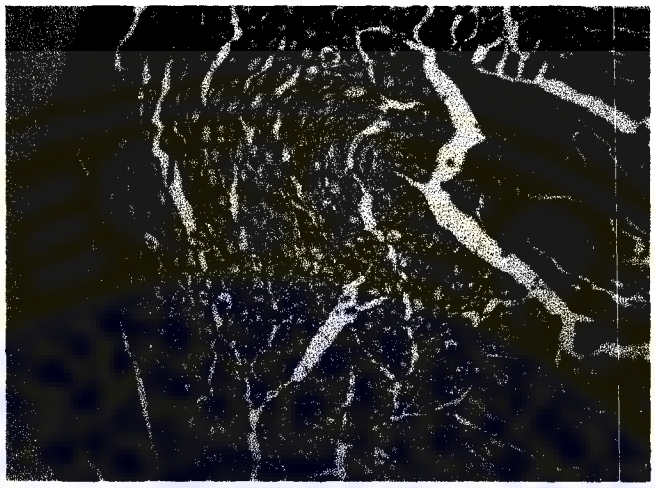
1 strip objectif = 0,01 mm

0,367347 objectif = 0,003673 mm

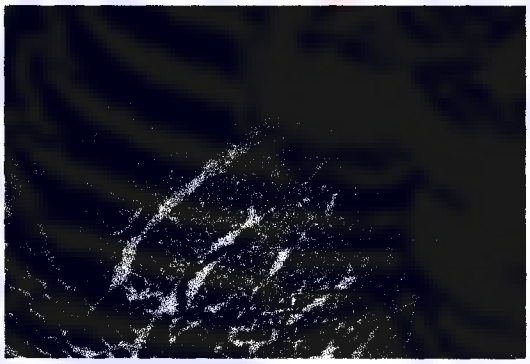
1 mm= 1000μm

Lampiran 5

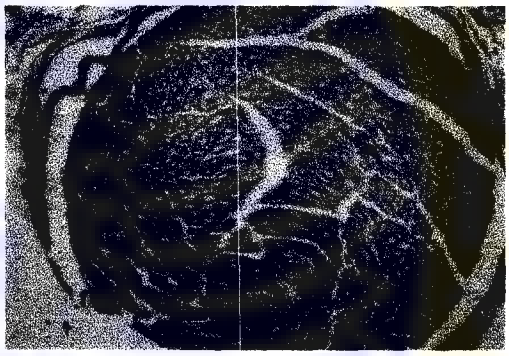
Foto Sampel Pembesaran Mikroskop 450 X



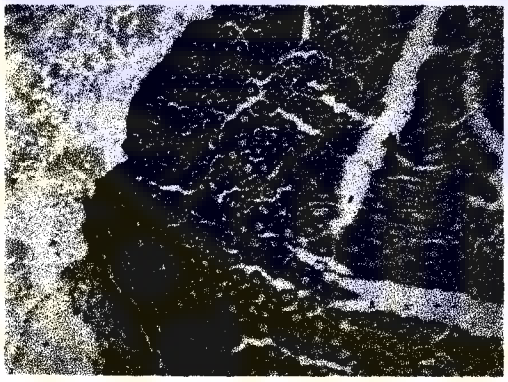
1. Kontrol



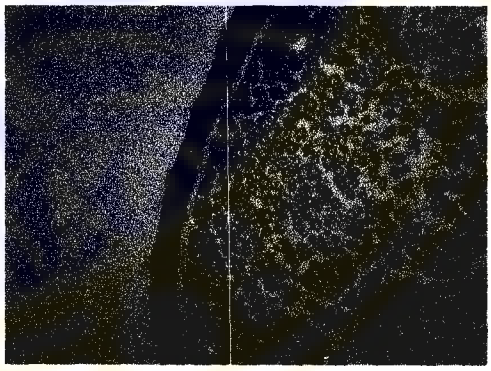
2. Dosis Pb Asetat 65 mg/kg BB



3. Dosis Pb Asetat 125 mg/kg BB



4. Dosis Pb Asetat 250 mg/kg BB



5. Dosis Pb Asetat 500 mg/kg BB