

1. LEAD

2. AIR PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
TKD 09/01
Jun
e

TESIS

**EFEK TOKSIK TIMAH HITAM
TERHADAP JANIN MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

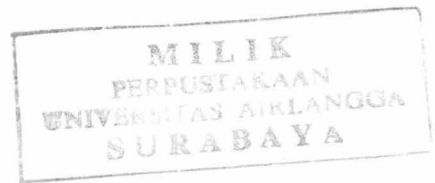
JUNAIRIAH

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

TESIS

**EFEK TOKSIK TIMAH HITAM
TERHADAP JANIN MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



JUNAIRIAH

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

TESIS

**EFEK TOKSIK TIMAH HITAM
TERHADAP JANIN MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

**Tesis
Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

JUNAIRIAH

NIM : 099813036 M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
Tanggal 14 Pebruari 2001**

Lembar Pengesahan

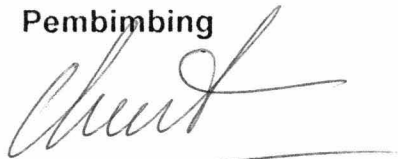
TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 14 FEBRUARI 2001

Oleh
Pembimbing Ketua



Prof. dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo
NIP 130162016

Pembimbing



Prof. drh. IGB Amitaba
NIP 130078266

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga



dr. Soetjipto MS, PhD
NIP 130687606

Telah diuji pada

Tanggal 14 Pebruari 2001

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. dr. F.M. Judayana, Sp PK (K)

Anggota : 1. Prof. dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo

2. Prof. drh. IGB Amitaba

3. dr. Koentoro, MPH, PhD.

4. Dr. dr. Rina Yudiwati, MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT atas segala ijin-Nya, penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyusun tesis ini, dan semoga shalawat dan keselamatan tetap tercurahkan kepada hamba dan Rasul-Nya, Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan pengikut beliau dengan ihsan sampai hari kiamat.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo sebagai pembimbing ketua yang telah banyak membantu sejak awal penelitian hingga terselesainya tesis ini dan dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. drh. IGB. Amitaba sebagai pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Rasa terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada Dr. dr. FM. Judayana Sp PK (K) dan dr. Koentoro, MPH, Ph.D. sebagai konsultan yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terima kasih yang sebesar-besarnya saya ucapkan kepada Dr. dr. Rina Yudiwati MS. sebagai penguji atas koreksi dan saran yang diberikan demi perbaikan tesis ini.

Perkenankanlah pula saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, Prof. H. Soedarto, dr. , DTMH., PhD., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister
2. Mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. Soedijono, dr yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister
3. Direktur Program Pascasarjana Univeritas Airlangga Prof. H. Muhammad Amin, dr. atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
4. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar dr. Soetjipto, MS., PhD., atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

RINGKASAN

Logam berat Pb termasuk limbah bahan berbahaya dan beracun yang memerlukan perhatian khusus karena dampak yang ditimbulkan terhadap kesehatan manusia sangat serius. Salah satu diantaranya adalah Pb dikenal sebagai bahan toksik yang menyebabkan kelainan bawaan pada janin. Berdasarkan hal tersebut, untuk mengetahui dampak negatif dari logam berat Pb, perlu dilakukan suatu penelitian yang terencana, bertahap dan terarah terhadap hewan uji, dengan harapan hasil penelitian pada hewan uji ini dapat digunakan sebagai dasar untuk memperkirakan adanya efek toksik yang menyebabkan kelainan bawaan pada janin manusia.

Penelitian eksperimental laboratoris ini dilakukan untuk mengetahui efek toksik timah hitam terhadap janin mencit yang berupa jumlah implantasi, jumlah janin hidup, jumlah janin mati, jumlah resorpsi, berat badan janin, panjang janin, kelainan pada sel hati dan sel tubulus ginjal, jumlah sel Purkinje otak, dan gangguan pembentukan tulang.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan faktorial karena terdapat dua faktor yang saling bekerja sama yaitu dosis dan lama pemaparan. Dosis Pb terdiri dari enam tingkat dosis yaitu D0 = 0 mg/kg BB, D1 = 25 mg/kg BB, D2 = 50 mg/kg BB, D3 = 75 mg/kg BB, D4 = 100 mg/kg BB dan D5 = 125 mg/kg BB. Lama pemaparan terdiri dari tiga kategori waktu yaitu W1 = 3 hari, W2 = 6 hari dan W3 = 10 hari, dengan demikian ada 18 macam kombinasi perlakuan antara tiap jenis dosis dan lama pemaparan. Besar sampel untuk masing-masing kombinasi perlakuan adalah 6 ekor mencit betina, sehingga jumlah mencit betina yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 108 ekor mencit betina. Sebelum mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan terlebih dahulu ditentukan fase estrus mencit betina. Perkawinan dilakukan dengan cara menempatkan satu ekor mencit betina dan satu ekor mencit jantan. Pada masa kebuntingan tertentu, bahan perlakuan diberikan kepada masing-masing mencit betina sesuai dengan rancangan penelitian. Pemberian bahan perlakuan dilakukan secara oral dengan jarum sonde sebanyak 0,5 ml pada pagi hari.

Mencit betina pada umur kebuntingan ke-18 dibedah dan diamati jumlah implantasi, jumlah janin hidup, jumlah janin mati, jumlah resorpsi, berat badan janin, panjang janin, skoring perubahan sel hati dan sel tubulus ginjal (degenerasi dan nekrosis), jumlah sel Purkinje dan persentase gangguan pembentukan tulang.

Berdasarkan analisis hasil penelitian tentang efek toksik Pb terhadap morfologi janin mencit dapat disimpulkan bahwa pemaparan Pb dapat menurunkan jumlah implantasi, jumlah janin hidup, jumlah janin mati, jumlah resorpsi, berat badan janin baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu. Pemaparan Pb dapat menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis pada organ hati dan ginjal baik ditinjau dari

variasi dosis maupun variasi waktu. Pemaparan Pb dapat menurunkan panjang janin dan jumlah sel Purkinje baik ditinjau dari variasi dosis, variasi waktu maupun interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu. Pemaparan Pb dengan variasi dosis tertentu dapat menyebabkan terjadinya kelainan tulang pada janin mencit.

Mengingat pemaparan Pb dapat menghambat pertumbuhan janin dan menyebabkan kelainan histopatologis terhadap janin, kiranya perlu disarankan kepada masyarakat agar lebih berhati-hati dalam mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung Pb. Himbauan disampaikan pula kepada para industrialis agar dalam aktifitasnya lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb.

ABSTRACT

The aim of this research is going to know the toxic effect in mice fetus when *lead* (Pb) given as oral with certain doses and timing variation, with interaction between certain doses and timing variation in mice's stock for length of pregnancy.

The research design is factorial design because there was two factors that cooperative one another, i.e. doses and length of exposure. Doses of *lead* consist of six level, i.e. 0 mg/ kg BW, 25 mg/ kg BW, 50 mg/ kg BW, 75 mg / kg BW, 100 mg / kg BW, and 125 mg / kg BW. The length of exposure consist of 3 days, 6 days, and 10 days, so that there was 18 kinds of treatment combination between each kind doses and length of exposure. Sum of sample for each treatment combination are 6 mice femaies, then femaies mice that needed for this research are 108. Before female mice being copulation with male mice, first it's must determined female mice estrus phase. The copulation was done with to placed one femaie mice and one male mice in one piace. in certain pregnancy phase, treatment substance given to each female mice fitted to research design. The substance administration of treatment was done as oral with *sonde* as much as 0,5 ml in the morning. In the eighteenth of pregnancy, female mice was surgeon and observed their implantation number, life fetus number, death fetus number, resorption number, fetus body weight, the change scoring, liver cells and kidney tubules cells (degeneration and necroses), number of Purkinye cells and bone shape inhibition.

Based on the analysis of research results by using *Kruskall Wallis* test ($p < 0,05$) and *Mann Witney U* test ($p < 0,05$) about toxic effect of *lead* to mice fetus morphology. It could be concluded that *lead* exposure could decrease implantation number, life fetus number, death fetus number, resorption number, fetus body weight and made histopatologi changes in liver and kidneys organ looked from both of doses variation and timing variation. Based on varians analysis ($p < 0,05$) that continued with LSD test ($p < 0,05$), *lead* (Pb) exposure could decrease length of fetus and Purkinye cells number looked from both of doses variation and timing variation or interaction between doses variation and timing variation.

Based on Varians analysis ($p < 0,05$) that continued by using LSD test ($p < 0,05$) Pb exposure with certain doses variation could made bone shape inhibition in mice fetus.

Keywords : *lead* (Pb), toxic effect, mice fetus

DAFTAR ISI

Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	viii
Abstrak.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1. 1 Latar Belakang.....	1
1. 2 Rumusan Masalah.....	7
1. 3 Tujuan Penelitian.....	7
1. 4 Manfaat Penelitian.....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2. 1 Timah Hitam (Pb).....	9
2. 1. 1 Karakteristik atau sifat fisik dan kimia Pb.....	10
2. 1. 2 Sumber Pb.....	11
2. 1. 3 Penggunaan Pb.....	15
2. 1. 4 Pencemaran Pb.....	18
2. 1. 5 Jalur pemaparan Pb.....	20
2. 1. 6 Metabolisme Pb.....	23
2. 1. 7 Efek fisiologis Pb.....	29
2. 1. 8 Efek logam berat Pb terhadap kelainan bawaan pada janin.....	41

2. 2 Mencit.....	43
2. 2. 1 Data biologis mencit.....	43
2. 2. 2 Daur estrus	44
2. 2. 3 Fertilisasi dan kebuntingan.....	49
2. 2. 4 Periode perkembangan normal janin mencit.	49
2. 3 Teratogenesis.....	52
2. 4 Mekanisme Teratogenesis.....	54
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	58
3. 1 Kerangka Konseptual	58
3. 2 Hipotesis Penelitian	65
BAB 4 METODE PENELITIAN	67
4. 1 Rancangan Penelitian	67
4. 2 Sampel dan Besar Sampel.....	68
4. 3 Variabel Penelitian	69
4. 3. 1 Klasifikasi variabel.....	69
4. 3. 2 Definisi operasional variabel.....	70
4. 4 Bahan Penelitian	74
4. 5 Instrumen Penelitian.....	74
4. 6 Lokasi dan Waktu Penelitian	75
4. 7 Prosedur Penelitian	75
4. 7. 1 Persiapan dan perlakuan hewan coba.....	75
4. 7. 2 Pengumpulan data	76
4. 8 Analisis Data	76
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	79
5.1 Jumlah Implantasi	79
5.2 Jumlah Janin Hidup.....	82
5.3 Jumlah Janin Mati	85
5.4 Jumlah Resorpsi.....	87
5.5 Berat Badan Janin.....	91
5.6 Panjang Janin.....	94
5.7 Kelainan Histologis Hati pada Janin	98

5.7.1 Degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel hati janin mencit	98
5.7.2 Nekrosis yang terjadi pada sel mencit.....	103
5.8 Kelainan Histologis Ginjal pada Janin.....	107
5.8.1 Degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel tubulus ginjal janin mencit.....	107
5.8.2 Nekrosis yang terjadi pada sel tubulus ginjal janin mencit	111
5.9. Kelainan Histologis Otak pada Janin	114
5.10 Kelainan Tulang pada Janin	118
BAB 6 PEMBAHASAN.....	123
6.1 Jumlah Implantasi	123
6.2 Jumlah Janin Hidup.....	129
6.3 Jumlah Janin Mati	132
6.4 Jumlah Resorpsi.....	135
6.5 Berat Badan Janin.....	140
6.6 Panjang Janin.....	146
6.7 Kelainan Histologis Hati pada Janin	149
6.7.1 Degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel hati janin mencit.....	149
6.7.2 Nekrosis yang terjadi pada sel mencit.....	157
6.8 Kelainan Histologis Ginjal pada Janin.....	169
6.8.1 Degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel tubulus ginjal janin mencit	169
6.8.2 Nekrosis yang terjadi pada sel tubulus ginjal janin mencit	174
6.9. Kelainan Histologis Otak pada Janin	181
6.10 Kelainan Pembentukan Tulang pada Janin	186

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Kandungan logam Pb dari dari pembuangan limbah dalam penggunaan energi batubara dan minyak (ton/tahun)	14
Tabel 2.2.	Kandungan logam berbahaya (Pb) dari limbah pabrik di Eropa (ton/tahun)	15
Tabel 5.1.	Uji Kruskal Wallis terhadap jumlah implantasi.....	79
Tabel 5.2.	Uji Mann Whitney U terhadap jumlah implantasi	80
Tabel 5.3.	Uji Kruskal Wallis terhadap jumlah janin mencit.....	83
Tabel 5.4.	Uji Mann Whitney U terhadap jumlah janin mencit.....	83
Tabel 5.5.	Uji Kruskal Wallis terhadap jumlah janin hidup.....	85
Tabel 5.6.	Uji Mann Whitney U terhadap jumlah janin hidup.....	86
Tabel 5.7.	Uji Kruskal Wallis terhadap jumlah resorpsi	88
Tabel 5.8.	Uji Mann Whitney U terhadap jumlah resorpsi	88
Tabel 5.9.	Uji Kruskal Wallis terhadap berat badan janin.....	92
Tabel 5.10	Uji Mann Whitney U terhadap berat badan janin.....	92
Tabel 5.11.	Hasil analisis varians 2 arah terhadap panjang janin .	94
Tabel 5.12.	Uji LSD terhadap panjang janin yang menunjukkan interaksi antar dosis.....	95
Tabel 5.13.	Uji LSD terhadap panjang janin yang menunjukkan interaksi antar waktu.....	95
Tabel 5.14.	Uji LSD terhadap panjang janin yang menunjukkan interaksi antar dosis dan waktu.....	96
Tabel 5.15.	Uji Kruskal Wallis terhadap degenerasi sel hati.....	98
Tabel 5.16.	Uji Mann Whitney U terhadap degenerasi sel hati.....	99
Tabel 5.17.	Uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis sel hati.....	103
Tabel 5.18.	Uji Mann Whitney U terhadap nekrosis sel hati.....	104
Tabel 5.19.	Uji Kruskal Wallis terhadap degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal	107

Tabel 5.20.	Uji Mann Whitney U terhadap degenerasi bengkak keruh sel tubulus ginjal	108
Tabel 5.21.	Uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis pada sel tubulus ginjal	111
Tabel 5.22.	Uji Mann Whitney U terhadap nekrosis pada sel tubulus ginjal.....	112
Tabel 5.23.	Hasil analisis varians 2 arah terhadap jumlah sel Purkinje	115
Tabel 5.24.	Uji LSD terhadap jumlah sel Purkinje yang menunjukkan interaksi antar dosis.....	115
Tabel 5.25.	Uji LSD terhadap jumlah sel Purkinje yang menunjukkan interaksi antar waktu.....	115
Tabel 5.26.	Uji LSD terhadap jumlah sel Purkinje yang menunjukkan interaksi antar dosis dan waktu.....	116
Tabel 5.27.	Uji Kruskal Wallis terhadap kelainan tulang	119
Tabel 5.28.	Uji Mann Whitney U terhadap kelainan tulang	119

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Jalur potensial penyebaran dan perpindahan timah hitam pada tubuh mencit.....	23
Gambar 2.2.	Diagram skematis menggambarkan berbagai reaksi dalam sintesis haemoglobin	37
Gambar 2.3.	Usapan vagina pada fase proestrus	47
Gambar 2.4.	Usapan vagina pada fase estrus	47
Gambar 2.5.	Usapan vagina pada fase metestrus.....	48
Gambar 2.6.	Usapan vagina pada fase estrus	48
Gambar 2.7.	Tahap embriogenesis	50
Gambar 2.8.	Insidens cacat yang dapat diramalkan pada beberapa organ	51
Gambar 2.9.	Kategori lingkungan prenatal	54
Gambar 3.1.	Kerangka konseptual penelitian.....	64
Gambar 3.2.	Mekanisme efek toksik Pb yang menyebabkan terjadinya degenerasi dari nekrosis	65
Gambar 4.1.	Skema rancangan faktorial	68
Gambar 4.2.	Kerangka operasional penelitian.....	78
Gambar 5.1.	Grafik garis yang menunjukkan jumlah implantasi dalam uterus induk mencit bunting	79
Gambar 5.2.	Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin	82
Gambar 5.3.	Grafik garis yang menunjukkan jumlah janin hidup	82
Gambar 5.4.	Grafik garis yang menunjukkan jumlah janin mati..	85
Gambar 5.5.	Grafik garis yang menunjukkan jumlah resorpsi.....	87
Gambar 5.6.	Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin yang mengalami resorpsi.....	90
Gambar 5.7.	Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin yang mengalami resorpsi.....	90
Gambar 5.8.	Grafik garis yang menunjukkan berat badan janin .	91
Gambar 5.9.	Grafik garis yang menunjukkan panjang janin	94

Gambar 5.10.	Grafik garis yang menunjukkan degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit	98
Gambar 5.11.	Fotomikroskopis sel-sel hati yang normal pada pembesaran 100 x.....	102
Gambar 5.12.	Fotomikroskopis sel-sel hati yang mengalami degenerasi bengkak keruh pada pembesaran 100 x	102
Gambar 5.13.	Grafik garis Perbandingan yang menunjukkan nekrosis pada sel hati.....	103
Gambar 5.14.	Fotomikroskopis sel-sel hati yang mengalami nekrosis pada pembesaran 100 x.....	106
Gambar 5.15.	Grafik garis yang menunjukkan degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal.....	107
Gambar 5.16.	Fotomikroskopis sel-sel tubulus ginjal yang normal	110
Gambar 5.17.	Fotomikroskopis sel-sel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi bengkak keruh.	110
Gambar 5.18.	Grafik garis yang menunjukkan nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit	111
Gambar 5.19.	Fotomikroskopis sel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis	114
Gambar 5.20.	Histogram yang menunjukkan jumlah sel Purkinje	114
Gambar 5.21.	Fotomikroskopis yang menunjukkan sel Purkinje janin mencit	118
Gambar 5.22.	Histogram yang menunjukkan persentase janin yang mengalami kelainan tulang	118
Gambar 5.23.	Foto janin mencit normal yang tidak mengalami kelainan pembentukan tulang	120
Gambar 5.24.	Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/kg BB selama 3 hari	121

Gambar 5.25.	Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/kg BB selama 6 hari.....	121
Gambar 5.26.	Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/kg BB selama 10 hari	122
Gambar 6.1.	Reseptor sitosolik pada hormon progesteron.....	126
Gambar 6.2.	Rantai messenger RNA.....	139
Gambar 6.3.	Pengaturan pertumbuhan fetus	143
Gambar 6.4.	Mekanisme kerja insulin	145
Gambar 6.5.	Jejas reversibel.....	157
Gambar 6.6.	Glutation	163
Gambar 6.7.	Jejas ireversibel.....	164
Gambar 6.8.	Mekanisme terbukanya ion kalsium.....	167
Gambar 6.9.	Mekanisme pompa natrium-kalium	172
Gambar 6.10.	Degenerasi bengkak keruh.....	174
Gambar 6.11.	Perubahan inti pada nekrosis	176

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Metode pewarnaan untuk kelainan tulang.....	200
Lampiran 2. Metode pembuatan preparat hati dan ginjal.....	201
Lampiran 3. Metode pembuatan preparat untuk kelainan otak	203
Lampiran 4. Data penelitian.....	207

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Kemajuan ilmu pengetahuan, teknologi, dan industri memberikan dampak terhadap manusia dan lingkungannya. Dampak tersebut dapat bersifat positif maupun negatif. Dampak positif adalah dampak yang banyak memberikan keuntungan bagi kehidupan manusia dan lingkungan, serta dapat ikut meningkatkan kesejahteraan manusia. Adapun dampak negatif adalah dampak yang banyak menimbulkan kerugian bagi manusia dan lingkungan, baik kerugian langsung maupun kerugian tidak langsung bahkan kerugian yang tertunda.

Penerapan kemajuan ilmu pengetahuan, teknologi dan industri dalam masyarakat baru bisa dikatakan berhasil apabila dampak positifnya jauh lebih banyak daripada dampak negatif yang ditimbulkannya. Walaupun ada dampak negatifnya, maka diusahakan untuk menekan dampak negatif tersebut hingga serendah mungkin sehingga dampak positifnya menjadi lebih terasa manfaatnya (Wardhana, 1996).

Hal ini berlaku dalam pembangunan industri yang makin meningkat ternyata mengandung resiko pencemaran dan perusakan lingkungan. Beban pencemaran yang dihasilkan pada akhirnya merugikan masyarakat (Sudarmaji, 1999).

Pencemaran lingkungan di sini pada hakikatnya adalah peningkatan kadar suatu "bahan" ke dalam lingkungan akibat kegiatan atau aktivitas manusia, di mana perubahan tersebut berlangsung sedemikian rupa sehingga mengakibatkan ancaman atau gangguan terhadap proses kehidupan manusia dalam lingkungan tersebut (Amsyari, 1995). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa semakin meningkatnya pembangunan industri, akan meningkatkan jumlah limbah yang dihasilkan. Salah satu bentuk limbah adalah B3 atau limbah bahan berbahaya dan beracun. B3 ini merupakan bahan yang sangat beracun bagi manusia dan bahkan, makhluk hidup lainnya. Timah hitam atau timbal (Plumbum=Pb) adalah salah satu logam berat yang termasuk dalam klasifikasi B3 yang memerlukan perhatian khusus karena dampak yang ditimbulkan terhadap kesehatan manusia sangat serius (Sudarmaji, 1999).

Polusi yang disebabkan oleh logam berat Pb dapat terjadi di udara, air, maupun tanah. Konsentrasi Pb di udara, di daerah perkotaan kemungkinan mencapai 5 sampai 50 kali daripada di daerah-daerah pedesaan. Semakin jauh dari daerah perkotaan, maka semakin rendah konsentrasi Pb di udara (Fardiaz, 2000).

Logam berat Pb di udara, misalnya berasal dari pabrik atau industri semen, pembakaran sampah, logam (Pacyna, 1983); industri pertambangan dan peleburan (Cornell dan Miller, 1995); industri aki, baterai, kabel, alat listrik, cat, tinta (Darmono, 1995); dan dari pembakaran

bahan aditif bensin dari kendaraan bermotor yang terdiri dari tetra etil Pb dan tetrametil Pb (WHO, 1989). Hal ini menyebabkan semua bahan pangan alami di daerah-daerah pertanian yang dekat dengan jalan-jalan raya pada umumnya mempunyai kandungan Pb lebih tinggi dibandingkan dengan hasil-hasil pertanian yang dipanen dari daerah-daerah yang jauh dari jalan raya (Fardiaz, 2000).

Kadar Pb di dalam tanah yang tidak diolah sebesar 8 - 20 mg/kg dan di dalam tanah yang sudah diolah kadar Pb bisa mencapai 360 mg/kg. Umumnya pencemaran tanah yang disebabkan oleh logam berat Pb selain berasal dari pemakaian bahan bakar, juga berasal dari emisi kegiatan industri. Kadar Pb di dalam tanah pada areal industri bisa mencapai 10.000 mg/kg atau lebih. Selain itu penggunaan Pb arsenat sebagai pestisida juga menyebabkan terjadinya pencemaran tanah. Pencemaran air minum oleh Pb umumnya disebabkan oleh penggunaan pipa-pipa saluran air, pompa air, tempat penampungan air yang terbuat dari Pb dan pipa PVC. Selain itu juga berasal dari kontaminasi sumber air. Telah dilaporkan bahwa kadar Pb air laut adalah 0,003 - 0,20 mg/liter dan bahkan bisa mencapai 25 mg/liter (WHO, 1972 dan 1989; Lu, 1995).

Sumber-sumber Pb selain udara, air, dan tanah adalah makanan, minuman, dan cat. Pencemaran Pb juga pernah dilaporkan terjadi di dalam minuman beralkohol (wiski) yang diproduksi sebagai industri rumah dan di dalam minuman yang disimpan di dalam wadah keramik yang dilapisi glaze. Telah dilaporkan bahwa 30% dari contoh-contoh wiski yang

diproduksi sebagai industri rumah di Atlanta mengandung Pb lebih dari 1 mg/liter yaitu 20 kali melebihi batas Pb di dalam air yang ditetapkan oleh *Public Health Service*. Sumber pencemaran Pb di dalam wiski ternyata berasal dari solder Pb yang digunakan dalam tabung-tabung dalam unit distilasi.

Glaze keramik yang mengandung Pb merupakan sumber keracunan Pb yang berbahaya jika digunakan untuk melapisi wadah-wadah makanan yang terbuat dari keramik. Minuman-minuman berasam tinggi seperti sari buah apel dan jeruk dapat melarutkan glaze dan membebaskan Pb ke dalam minuman. Telah dilaporkan seorang anak laki-laki di Montreal Kanada, meninggal karena meminum sari buah apel yang disimpan di dalam botol yang terbuat dari tanah liat. Analisis terhadap sari buah apel menunjukkan bahwa sari buah apel yang disimpan di dalam botol yang dilapisi glaze tersebut selama 3 jam mengandung 57 mg Pb/ liter, sedangkan setelah 3 hari kandungan Pb mencapai 1300 mg/liter. Hal ini disebabkan karena makanan-makanan asam dapat melarutkan Pb dari peralatan masak, alat-alat makan, dan wadah-wadah penyimpanan yang terbuat dari alloy Pb atau keramik yang dilapisi glaze (Bryce Smith, 1971 dan Fardiaz, 2000).

Hal yang sama juga terjadi pada makanan kaleng, misalnya susu bubuk, buah kaleng dapat tercemar oleh Pb karena penggunaan metode solder untuk menutup atau menyegel kaleng (Linder, 1992).

Cat yang terdapat pada dinding, pintu atau jendela, jembatan, mobil, perabot rumah tangga juga mengandung Pb. Gesekan yang terjadi pada saat menutup dan membuka pintu misalnya dapat menyebabkan lepasnya debu cat yang dapat terhirup oleh manusia. Hal yang sama juga terjadi dengan cat yang terdapat pada mainan yang merupakan penyebab utama kasus keracunan Pb pada anak-anak (WHO, 1972 dan Anonymous, 1996).

Logam berat Pb yang masuk ke dalam tubuh manusia biasanya melalui oral atau mulut seperti makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh Pb, melalui inhalasi atau pernafasan seperti asap pabrik buangan limbah, juga melalui kontak dengan kulit (Darmono, 1995 dan Anonymous, 1996).

Logam berat Pb dalam segala bentuknya bersifat racun yang membahayakan kesehatan tubuh, sebab keracunan oleh Pb bersifat kumulatif dan menyebabkan beberapa akibat negatif pada organ tubuh, misalnya hati, ginjal, otak, kelenjar endokrin, organ reproduksi, tulang, rongga mulut dan masing-masing memberikan efek yang berbeda (Palar, 1994, Darmono, 1995 dan Robbins, 1999).

Selain memberikan pengaruh pada organ-organ yang telah disebutkan di atas, Pb juga dikenal sebagai bahan toksik yang menyebabkan kelainan bawaan pada janin (Lu, 1995 dan Darmono, 1995). Hal yang sama juga dikemukakan oleh Amsyari (1996) bahwa gangguan kesehatan terberat dari pencemaran yang disebabkan oleh

Berdasarkan hal tersebut, untuk mengetahui dampak negatif dari logam berat Pb, perlu dilakukan suatu penelitian yang terencana, bertahap dan terarah terhadap hewan uji, dengan harapan hasil penelitian pada hewan uji ini dapat digunakan sebagai dasar untuk memperkirakan adanya efek toksik yang menyebabkan kelainan bawaan pada janin manusia.

Di dalam penelitian ini hewan percobaan yang cukup ideal digunakan adalah mencit, dengan pertimbangan hewan tersebut mudah diperoleh, pemeliharaannya mudah, harga relatif murah, dapat dipakai untuk mewakili mamalia termasuk manusia, fertilitas tinggi, jumlah anaknya cukup banyak, masa kehamilannya pendek, dan penentuan awal kehamilan mudah dan metabolismenya mirip dengan manusia (Schardein, 1985).

Adapun senyawa Pb yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pb asetat yang merupakan Pb asetat trihidrat, rasanya manis dan mempunyai bau asetat yang ringan. Senyawa ini dipergunakan dengan pertimbangan umum dipakai oleh manusia, dan mudah diperoleh dalam bentuk kristal yang mudah larut dalam air, sehingga pemberian secara oral lebih mudah dilakukan.

Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan di atas, maka dalam rangka penulisan tesis ini, penelitian yang akan dilakukan adalah berjudul : **"Efek Toksik Timah Hitam terhadap Janin Mencit (*Mus musculus*)"**.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan variasi dosis tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan ?
2. Apakah ada efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan variasi waktu tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan ?
3. Apakah ada efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan interaksi antara variasi dosis dengan variasi waktu tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan variasi dosis tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan.
2. Mengetahui adanya efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan variasi waktu tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan.
3. Mengetahui adanya efek toksik pada janin mencit apabila timah hitam diberikan secara oral dengan interaksi antara variasi dosis dengan variasi waktu tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini diharapkan dapat memberikan :

1. Informasi tentang efek toksik timah hitam pada janin mencit yang mungkin efek tersebut dialami oleh mamalia lain termasuk manusia, sehingga efek negatifnya dapat diantisipasi sedini mungkin.
2. Informasi kepada para industrialis khususnya dan kepada masyarakat umumnya agar dalam aktivitasnya lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb, karena dampak negatif dan efek toksiknya sebagai bahan yang dapat menyebabkan kelainan pada janin.
3. Informasi ilmiah yang berguna bagi peneliti khususnya dan masyarakat umumnya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1 Timah Hitam (Pb)

Logam ini sangat populer dan banyak dikenal oleh orang awam. Hal tersebut disebabkan oleh banyaknya timah hitam yang digunakan di pabrik dan paling banyak menimbulkan keracunan pada makhluk hidup bukan karena pentingnya dalam metabolisme tubuh (Linder, 1992 dan Darmono, 1995). Timah hitam ini mempunyai nama lain timbal atau plumbum dan disimbolkan dengan Pb. Menurut WHO (1977) dan Fardiaz (2000), Pb ini hampir tidak pernah ditemukan dalam bentuk logam murninya, akan tetapi ditemukan dalam bentuk persenyawaan Pb. Persenyawaan Pb dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu Pb anorganik dan Pb organik.

Contoh Pb anorganik adalah :

- Timbal karbonat : PbCO_3
- Timbal klorat : $\text{Pb}(\text{ClO}_3)_2$
- Timbal nitrat : $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
- Timbal sulfida (galena) : PbS

Contoh Pb organik adalah :

- Timbal asetat : $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$
- Timbal tetraetil : $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$
- Timbal tetrametil : $\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$

Di alam Pb mempunyai 4 macam isotop, yaitu :

- Pb^{204} : 1,48 %
- Pb^{207} : 22,60 %
- Pb^{206} : 23,60 %
- Pb^{208} : 52,32 %

2. 1. 1 Karakteristik atau sifat fisik dan kimia Pb

Sifat fisik dan kimia Pb berdasarkan Sanderson (1971) dan WHO (1977) adalah sebagai berikut :

- Nomor atom : 82
- Berat atom : 207,19
- Volume atom : 18,27
- Berat jenis : 11,34
- Jari-jari atom : 1,54 A°
- Jari-jari ion, M^{2+} : 1,32 A°
- Jari-jari ion, M^{4+} : 0,84 A°
- Titik Lebur : 327,5 $^\circ\text{C}$
- Titik didih : 1740 $^\circ\text{C}$
- Potensial ionisasi : 7,41 eV dan 14,96 eV
- Konfigurasi elektron : $6s^2 6p^2$
- Warna : kebiruan atau perak abu-abu.

Selain itu mempunyai sifat-sifat sebagai berikut :

- Pb mempunyai titik cair atau titik lebur yang rendah, sehingga jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal.
- Pb merupakan logam yang lunak sehingga mudah diubah menjadi berbagai bentuk.
- Mempunyai sifat kimia yang aktif sehingga dapat digunakan untuk melapisi logam untuk mencegah perkaratan. Selain itu adanya sifat kimia Pb menyebabkan logam ini dapat berfungsi sebagai lapisan pelindung jika kontak dengan udara lembab.
- Pb dapat membentuk alloy dengan logam lainnya dan alloy yang terbentuk mempunyai sifat berbeda dengan Pb yang murni dan lebih bagus daripada logam murninya.
- Densitas Pb lebih tinggi dibandingkan dengan logam lainnya (Darmono, 1995 dan Fardiaz, 2000).

2. 1. 2 Sumber Pb

Logam Pb berasal dari beragam sumber, baik secara alami maupun disebabkan oleh manusia.

A. Sumber alamiah

1. Batuan dan lapisan kerak bumi mengandung Pb sebesar 13 mg/kg dan menurut studi Weapohl (1961) menyebutkan bahwa kadar timah hitam pada batuan sekitar 10-20 mg/kg. Untuk batuan yang mengandung

karbonat, kadar Pb-nya adalah 10-70 mg/kg, dan batuan endapan laut mengandung Pb sebesar 100-200 mg/kg.

2. Pb selalu terdapat di mana-mana di dalam tanah. Pada tanah yang belum tersentuh oleh aktivitas manusia, kadar Pb adalah 8-20 mg/kg. Untuk tanah yang sudah diolah kadarnya mencapai 360 mg/kg. Adapun tanah yang dekat dengan areal industri dapat mencapai 10.000 mg/kg. Pb yang terdapat di permukaan tanah rata-rata 5-25 mg/kg. Umumnya tanah asam kandungan Pb-nya lebih rendah bila dibandingkan dengan tanah alkali.
3. Air laut mengandung Pb sebesar 0,003-0,20 mg/l. Sementara itu dilaporkan bahwa kadar Pb di dalam air bisa mencapai 25 mg/l. Berdasarkan hasil analisis, bahwa air tanah mengandung Pb antara 1-60 $\mu\text{g/l}$, sedangkan air permukaan terutama sungai dan danau menunjukkan angka antara 1-10 $\mu\text{g/l}$. Kadar Pb air laut menunjukkan angka yang lebih rendah daripada yang terdapat di air tawar. Di pantai California (USA), kadar Pb adalah antara 0,04 - 0,08 $\mu\text{g/l}$.
4. Menurut studi Patterson (1965) dalam keadaan alamiah kadar Pb di udara sebesar 0,0006 $\mu\text{g/m}^3$.
5. Secara alamiah tumbuhan dapat mengandung Pb. Kadar Pb pada dedaunan adalah 2,5 mg/kg berat daun kering. Sedangkan pada gandum dan buah sekitar 0,1-1,0 mg/kg berat kering (WHO, 1972 dan 1977; Egan, 1972).



B. Sumber yang berasal dari aktivitas manusia

1. Di dalam kegiatan pertambangan, logam ini berbentuk sulfida logam (PbS) yang sering disebut galena. Senyawa ini banyak ditemukan dalam pertambangan-pertambangan di seluruh dunia. Selain itu ada yang berupa $PbCO_3$ atau disebut *cerrusite* dan $PbSO_4$ atau *anglesite*. Di dalam proses peleburan dan pemurnian, untuk menghasilkan Pb kepingan yaitu diproses dari kepingan baru yang dihasilkan dari tambang atau dengan cara mendaur ulang kepingan Pb yang sudah tidak digunakan. Ternyata peleburan bijih Pb ini menghasilkan polusi di sekitarnya. Sebagai tambahan, kegiatan proses pengambilan bijih, peleburan dan penyulingan minyak dapat menyebabkan hamburan dan penimbunan sejumlah besar logam runtuhan seperti Pb (Wittman, 1979).
2. Pembakaran bahan aditif bensin dari kendaraan bermotor yang terdiri dari tetraetil Pb dan tetrametil Pb. Polusi Pb yang terbesar berasal dari pembakaran bensin dimana dihasilkan berbagai komponen Pb, misalnya $PbBrCl$, $PbBrCl \cdot 2PbO$, $PbCl_2$, $Pb(OH)Cl$, $PbBr_2$, $PbCl_2 \cdot 2PbO$, $Pb(OH)Br$, PbO_x , $PbCO_3$, $PbBr_2 \cdot 2PbO$ dan $PbCO_3 \cdot 2PbO$ (Stoker dan Seager, 1972). Penggunaan batubara dan minyak sebagai bahan bakar mempunyai kekuatan untuk menyebabkan keracunan yang sangat besar. Logam tersebut biasanya terikat dalam bentuk bahan organik dan fraksi mineral. Kandungan Pb dalam batubara adalah 0,70-220 $\mu g/g$ dan dalam minyak mentah adalah 0,0010-0,31 $\mu g/g$. Menurut catatan data di Eropa (Pacyna, 1983), kandungan logam berbahaya

yang dikeluarkan pada penggunaan bahan bakar batu bara dan minyak, berbeda-beda menurut jenis penggunaannya dan biasanya sisa pembakaran minyak lebih rendah kandungan logamnya daripada pembakaran batubara yang datanya dapat dilihat sebagai berikut :

Tabel 2.1. Kandungan logam Pb dari pembuangan limbah dalam penggunaan energi batubara dan minyak (ton/tahun)

Sumber	Pb
A. Pembakaran batubara	
1. Energi listrik	733
2. Pabrik	870
3. Rumah tangga dan komersial	73
B. Pembakaran minyak	
1. Energi listrik	450
2. Industri, rumah tangga, dan komersial	709

3. Pabrik produksi semen, baterai atau aki, cat warna, tekstil, pestisida, gelas, keramik, dan lain-lain. Berdasarkan catatan Pacyna (1983) dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2. 2 Kandungan logam berbahaya (Pb) dari limbah pabrik di Eropa (ton/tahun)

Pabrik	Pb
Pabrik semen	750
Pembakaran sampah	800
Penggunaan logam	2000
Pabrik besi, baja, logam campuran	14660

4. Air limbah perkotaan dan tempat penimbunan sampah-sampah rumah tangga serta industri merupakan sumber-sumber buatan untuk kandungan Pb (Mueller, dkk, 1976)
5. Pemakaian pupuk fosfat, pupuk Pb arsenat, herbisida, fungisida dalam kegiatan pertanian (Mc Alroy dkk, 1975 dan Kendall, 1983)

2.1.3 Penggunaan Pb

Penggunaan Pb terbesar adalah untuk produksi baterai pada kendaraan bermotor dan penyimpanan untuk mobil, dimana digunakan Pb metalik dan komponen-komponennya. Elektrode dari beberapa baterai mengandung struktur inaktif yang disebut grid yang dibuat dari alloy Pb yang mengandung 93% Pb dan 7% antimony (Sb). Struktur ini merupakan penyangga mekanik dari komponen baterai yang aktif dan merupakan jalur aliran listrik. Bagian yang aktif dari baterai terdiri dari timbal dioksida (PbO_2) dan logam Pb yang terikat pada grid.

Penggunaan lainnya dari Pb adalah untuk produk-produk logam seperti amunisi, pelapis kabel, pipa dan solder, bahan kimia, pewarna, dan lain-lain. Beberapa produk logam dibuat dari Pb murni, yang diubah menjadi berbagai bentuk, dan sebagian besar terbuat dari alloy Pb. Solder mengandung 50-95% Pb, sedangkan sisanya adalah Sn. Titik lebur solder akan berubah, tergantung dari komposisinya. Logam pencetak yang digunakan dalam percetakan terdiri dari Pb, Sn, Sb, di mana komposisinya adalah 85% Pb, 12% Sb, dan 3% Sn. Peluru Pb mengandung 0,1-0,2% arsenik untuk menambah kekerasannya. Alloy yang mempunyai titik cair rendah dan digunakan dalam alarm api, pemadam kebakaran otomatis dan sekering listrik mengandung Bismuth, cadmium, atau merkuri. Titik cair alloy tersebut ditentukan dari komposisinya. Oleh karena itu Pb dikatakan juga sangat bagus digunakan untuk sekering dan alat listrik lainnya sehingga mudah putus bila terkena panas yang agak tinggi (*korsluiting*).

Penggunaan Pb yang bukan alloy terutama terbatas pada produk-produk yang harus tahan karat. Sebagai contoh, pipa Pb digunakan untuk pipa-pipa yang akan mengalirkan bahan-bahan kimia yang korosif, lapisan Pb digunakan untuk melapisi tempat-tempat cucian yang sering mengalami kontak dengan bahan-bahan korosif, dan Pb juga digunakan sebagai pelapis kabel listrik yang akan digunakan di dalam tanah atau di bawah permukaan air. Selain itu lebih dari 200.000 ton Pb digunakan

dalam industri kimia yang berbentuk tetraetil Pb, yang biasa dicampur dengan bahan bakar minyak untuk melindungi mesin supaya lebih awet.

Komponen Pb juga digunakan sebagai pewarna cat karena kelarutannya di dalam air rendah, dapat berfungsi sebagai pelindung, dan terdapat dalam berbagai warna. Timbal putih yang mempunyai rumus $Pb(OH)_2 \cdot 2PbCO_3$ adalah yang paling banyak digunakan. Timbal merah (PbO_4) berupa bubuk berwarna merah cerah yang digunakan sebagai pewarna cat yang tahan karat. Cat berwarna kuning dapat dibuat dengan menambahkan kuning khrom atau $PbCrO_4$.

Logam berat Pb juga digunakan sebagai campuran dalam pembuatan pelapis keramik yang disebut glaze. Glaze adalah lapisan tipis gelas yang menyerap ke dalam permukaan tanah liat yang digunakan untuk membuat keramik. Komponen utama dari glaze keramik adalah silika yang bergabung dengan oksida lainnya membentuk silikat kompleks atau gelas. Komponen Pb yaitu PbO ditambahkan ke dalam glaze untuk membentuk sifat mengkilap yang tidak dapat dibentuk dengan oksida lainnya.

Jadi pada umumnya penggunaan Pb adalah dalam bentuk persenyawaan, misalnya untuk pembangkit listrik tenaga panas (campuran Pb dengan Te atau Telurium, untuk pewarna cat digunakan campuran Pb dengan Cr (Cromium), Mo (Molebdenum) dan Cl (Chlor), Pb asetat digunakan untuk bahan tahan api dan pengkilap keramik, untuk bahan peledak digunakan campuran Pb dengan Ni (Nikel), untuk kabel

listrik digunakan campuran Pb dengan Ar (Arsen), Sn (Stannum), dan Bi (Bismuth). Adapun untuk kabel telepon digunakan campuran Pb dengan Stibium (Sb). (Lee, 1994; Palar, 1994; Darmono, 1995; Slamet, 1996; dan Fardiaz, 2000).

2. 1. 4 Pencemaran Pb

Pencemaran logam berat dapat terjadi pada daerah lingkungan yang bermacam-macam dan dapat dibagi menjadi tiga golongan, yaitu udara, tanah atau daratan, dan air atau lautan. Pencemaran udara oleh logam berat sangat erat hubungannya dengan sifat-sifat logam itu sendiri. Adapun pencemaran tanah daratan atau air erat hubungannya dengan penggunaan logam itu sendiri. Pencemaran udara biasanya terjadi pada proses-proses industri yang menggunakan suhu tinggi, sedangkan logam Pb adalah logam yang relatif mudah menguap. Pencemaran daratan dan air, baik air sungai maupun air laut biasanya karena pembuangan limbah dari industri penggunaan logam Pb yang bersangkutan secara tidak terkontrol misalnya dari pabrik aki atau baterai.

Udara yang bersih adalah udara yang tidak mengandung uap atau gas dari bahan-bahan kimia yang beracun. Di samping itu, udara yang bersih adalah udara yang terhisap segar dan nyaman bagi makhluk hidup, cukup kandungan oksigennya, tidak berwarna dan tidak berbau. Sebaliknya, jika terjadi perubahan warna dan berbau aneh, dapat dipastikan bahwa telah terjadi suatu pencemaran. Derajat pencemaran

udara ini tentu saja bermacam-macam dari yang ringan sampai yang berat. Kabut yang tipis di daerah pegunungan bukanlah suatu pencemaran walaupun ada perubahan warna, kabut tersebut adalah uap air yang menunjukkan kelembaban yang tinggi. Hal ini berbeda dengan kabut tipis di daerah perkotaan dan daerah industri, yang menunjukkan adanya tanda-tanda suatu pencemaran udara, baik uap sisa pembakaran minyak kendaraan atau asap pabrik. Kandungan logam yang tinggi di dalam udara ditemukan di daerah polusi (Buat Menard dan Duce, 1987).

Pencemaran logam berat pada tanah daratan sangat erat hubungannya dengan pencemaran udara dan air. Partikel logam berat yang berterbangan di udara akan terbawa oleh air hujan yang membasahi tanah sehingga timbul pencemaran tanah. Pada umumnya kandungan logam berat secara alamiah ada di dalam tanah, apalagi tanah tersebut sudah tercemar (Peterson dan Alloway, 1979).

Proses dan mekanisme perpindahan Pb dari udara ke media lain adalah dengan pengendapan. Perpindahan Pb dari udara ke biota dapat secara langsung maupun tidak langsung. Pada tanaman perpindahan yang secara langsung melalui permukaan atas, sedang yang tidak langsung melalui tanah (WHO, 1977). Kandungan logam dalam tanah sangat berpengaruh terhadap kandungan logam dalam tanaman yang tumbuh di atasnya, sehingga kandungan logam yang kurang atau berlebihan dalam jaringan tanaman akan mencerminkan kandungan logam dalam tanah.

Pada air tawar yang biasanya mengalir di sungai, logam yang terkandung di dalamnya biasanya berasal dari buangan air limbah, erosi dan dari udara secara langsung. Pada danau yang besar biasanya logam diperoleh dari polusi udara. Air tawar biasanya mengandung material anorganik dan organik yang mengambang lebih banyak daripada air laut. Material tersebut mempunyai kemampuan untuk mengabsorpsi logam Pb, sehingga pencemaran logam Pb pada air tawar lebih mudah terjadi. Hal ini bukan hanya karena terdapat di daratan, tetapi karena pengaruhnya terhadap manusia yang mempergunakannya setiap hari.

Pada air laut di lautan lepas kontaminasi logam Pb biasanya terjadi secara langsung dari atmosfer atau karena tumpahan minyak dari kapal tanker yang melewatinya. Adapun di daerah sekitar pantai kontaminasi logam kebanyakan berasal dari mulut sungai yang terkontaminasi oleh limbah buangan industri atau pertambangan (Suparyanto dan Lubis, 1988).

2. 1. 5 Jalur Pemaparan Pb

Timah hitam (Pb) masuk ke dalam tubuh manusia melalui bermacam-macam jalur (WHO, 1977), yaitu :

Jalur Oral

Jenis makanan yang dikonsumsi manusia juga mengandung Pb secara alami. Berbagai jenis makanan dan minuman yang dikonsumsi manusia rata-rata mengandung Pb sebesar 200-300 μg /hari. Jenis

makanan, misalnya ikan dan binatang laut yang lain, mengandung Pb 0,2-2,5 mg/kg, pada daging atau telur mengandung Pb 0,37 mg/kg, padi-padian mengandung 1,3 mg/kg dan sayur-sayuran mengandung Pb 1,3 mg/kg. Dengan demikian perlu diperhatikan menu makanan yang dikonsumsi setiap harinya. Telah diketahui bahwa setiap 100 μg Pb yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui mulut, akan menghasilkan Pb darah sebesar 6-10 μg / 1000 ml darah.

Secara umum pemaparan Pb melalui air lebih rendah apabila dibandingkan dengan pemaparan melalui udara dan makanan. Di Amerika kadar Pb air minum mencapai 50 $\mu\text{g}/\text{l}$. Pada tahun 1972, di Skotlandia telah terjadi keracunan Pb dari konsumen air minum yang mengandung Pb sebanyak 2-3 $\mu\text{g}/\text{l}$. Tingginya kadar Pb ini disebabkan pemakaian tandon dan pipa berlapisan Pb, sehingga kontaminasi oleh jaringan pipa dan tempat penampungan air dapat menyebabkan konsentrasi Pb menjadi 2000-3000 $\mu\text{g}/\text{l}$ (Goyer, 1995).

Walaupun pipa air memakai bahan plastik, masih ada kemungkinan air minum mengandung Pb. Hal ini disebabkan karena adanya bahan "Pb stearate" yang dipakai sebagai bahan stabilisator dalam pembuatan "polyvinyl plastik". Telah diteliti di Amerika bahwa kadar Pb pada air permukaan dan air bawah tanah sekitar 0,1 $\mu\text{g}/\text{l}$. Malahan di daerah yang tanpa pencemaran, kadar Pb pada air permukaan mencapai 1 $\mu\text{g}/\text{l}$.

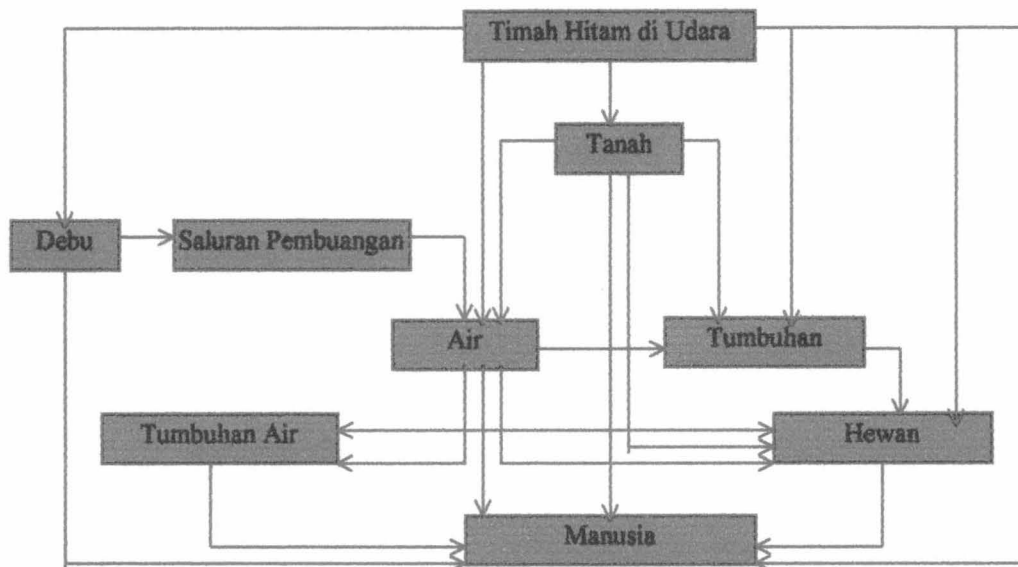
Jalur Inhalasi

Orang terkontaminasi Pb selain melalui makanan, juga melalui udara yang terhirup. Udara ambien di pinggiran kota di negara Barat dapat mencapai kadar Pb $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$, dan di dalam kota bisa mencapai $1-10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Dalam keadaan yang sangat ramai dengan kendaraan bermotor, kadar udara ambien bisa mencapai $14-25 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Jalur Kontak pada Kulit

Timah hitam organik misalnya tetraetil Pb dan tetrametil Pb, dapat masuk ke dalam tubuh manusia, selain melalui pernafasan juga melalui kulit. Hal ini disebabkan kedua senyawa tersebut dapat larut dalam minyak dan lemak. Telah diketahui bahwa kedua bahan tersebut yaitu Tetra Ethyl Lead (TEL) dan Tetra Methyl Lead (TML) dapat dipakai sebagai tambahan (*additive*) pada bensin untuk meningkatkan nilai oktan (*octan number*). Berdasarkan hal tersebut, maka penambahan TEL atau TML berarti menambah bahan "*Lead*".

Efek keracunan dari TEL dan TML tidak disebabkan oleh senyawa "*tetra ethyl*", tetapi disebabkan oleh senyawa dalam bentuk derivat "*trialkil*" hasil dari proses dealkilasi di dalam hati. Senyawa TML kurang toksik bila dibandingkan dengan TEL. Hal ini disebabkan proses dealkilasi pada TML dalam pembentukan trialkil berjalan lebih lambat daripada proses dealkilasi TEL.



Gambar 2.1 Jalur-jalur potensial penyebaran dan perpindahan timah hitam pada tubuh manusia (WHO, 1977).

2. 1. 6 Metabolisme Pb

Absorpsi, Distribusi dan Ekskresi

Bentuk kimia Pb merupakan faktor penting yang mempengaruhi sifat-sifat Pb di dalam tubuh; komponen Pb organik, misalnya relatif lebih mudah diserap oleh tubuh. Biasanya orang yang keracunan Pb mengkonsumsi sekitar 0,2-2,0 mg/hari, dan pada orang dewasa Pb diserap melalui usus sekitar 5-10%, tetapi hal ini tergantung beberapa faktor yang mempengaruhi. Misalnya dalam keadaan puasa penyerapan Pb dari usus ini lebih besar sekitar 15-20%. Di samping itu juga dipengaruhi oleh adanya kompetisi dan interaksi dengan logam lain, seperti kalsium dan seng dalam absorpsinya, jika terjadi kekurangan Ca dan Zn dalam diet, nutrisinya dapat menaikkan absorpsi dari Pb sehingga toksisitas Pb ini menjadi meningkat. Beberapa penelitian pada hewan

percobaan menunjukkan bahwa kandungan lemak dalam pakan juga mempengaruhi jumlah absorpsi Pb. Umur juga mempengaruhi absorpsi logam ini dalam makanan. Pada anak-anak, jumlah absorpsi Pb lebih banyak daripada orang dewasa. Anak-anak yang berumur 3 bulan sampai 8 tahun dapat mengabsorpsi Pb sampai mencapai 50% (WHO, 1977; WHO, 1980; Darmono, 1995 dan Fardiaz, 2000).

Adapun sebagian besar Pb yang terhirup melalui saluran pernafasan masuk ke dalam pembuluh darah paru-paru dan diserap di alveoli paru. Tingkat penyerapan dipengaruhi oleh volume udara yang dihirup dan ukuran partikel. Senyawa Pb yang berbentuk uap, gas dan partikel-partikel yang berukuran 0,1-1,0 μm , kira-kira 35% akan mengendap terutama di alveoli atau di daerah yang lebih dalam dari sistem tracheobronchial. Adapun untuk partikel yang ukurannya lebih besar, pengendapan banyak terjadi di nasofaring. Logam Pb yang masuk melalui saluran pernafasan akan terserap dan berikatan dengan darah paru-paru dan lebih dari 90% Pb yang terserap tersebut berikatan dengan sel-sel darah merah (WHO, 1977; Goyer, 1986; Palar, 1994 dan Lu, 1995).

Telah disebutkan pula bahwa sekitar 30% dari jumlah yang terisap melalui hidung akan diabsorpsi melalui saluran pernafasan hanya sekitar 5% dari 30% yang terabsorpsi melalui saluran pernafasan akan tertinggal di dalam tubuh karena dipengaruhi oleh ukuran partikelnya (Fardiaz, 2000).

Logam berat Pb yang tertinggal di dalam tubuh, baik dari udara maupun melalui makanan atau minuman, akan didistribusikan ke dalam jaringan lain melalui darah. Logam ini dapat terdeteksi dalam tiga jaringan utama menjadi tiga kompartemen. Pertama, di dalam darah Pb terikat dalam sel darah merah (eritrosit). Kedua di dalam jaringan lunak (hati dan ginjal), dari jaringan tersebut Pb didistribusikan dan dideposit ke dalam kompartemen. Ketiga, tulang dan jaringan-jaringan keras (kalsifikasi) seperti gigi, tulang rawan dan sebagainya. Hampir sekitar 90-95% Pb di dalam tubuh terdapat di dalam tulang. Tulang berfungsi sebagai tempat pengumpulan Pb karena sifat-sifat ion Pb^{2+} yang hampir sama dengan Ca^{2+} (Mills, 1971; WHO, 1977; Darmono, 1995; dan Fardiaz, 2000).

Pada manusia, Pb diekskresikan terutama melalui air seni, melalui tinja (feses), keringat dan air susu ibu serta didepositkan di dalam rambut dan kuku. Biasanya ekskresi Pb dari tubuh sangat kecil meskipun *intake* Pb tiap hari naik, sehingga dapat menaikkan kandungan Pb dalam tubuh. Rata-rata *intake* Pb per hari sekitar 0,3 mg, apabila *intake* mencapai 0,6 mg/hari akan menunjukkan gejala keracunan Pb. Jika *intake* Pb cukup besar sedang deposit Pb terlalu lambat, akan mengakibatkan kesulitan untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan lunak. Hal tersebut mengakibatkan waktu yang diperlukan untuk mengakumulasi sejumlah Pb yang toksik menjadi lebih pendek dan tidak proporsional dengan jumlah Pb yang dimakan (Rabinowitz *et. al.*, 1973).

Sistem peredaran atau aliran darah otak biasanya sulit dilalui oleh Pb yang akan masuk ke dalam otak, tetapi bila terjadi kenaikan konsentrasi Pb di dalam darah, maka sedikit demi sedikit Pb akan masuk ke dalam otak melalui sistem darah tersebut, yang konsentrasinya proporsional dengan kandungan Pb dalam darah. Individu yang masih muda biasanya lebih peka terhadap akumulasi Pb dalam otak daripada orang dewasa. Pb yang masuk ke dalam otak, konsentrasinya berturut-turut tertinggi dalam hipokampus, korteks, dan otak tengah (Petit dan Alfano, 1983).

Interaksi antara Pb dan logam lain

Daya toksisitas dari Pb banyak dipengaruhi oleh hadirnya logam esensial dalam pakan, seperti Fe, Ca, Zn, Se, Cu, dan Co. Pada umumnya, defisiensi dari unsur-unsur tersebut dapat menaikkan absorpsi Pb sehingga menjadi keracunan, sedangkan jika berlebihan akan dapat mencegah terjadinya keracunan.

Interaksi antara Pb dan Fe

Telah diterangkan di muka bahwa Fe berperan dalam pembentukan Hb dan sebaliknya Pb bersifat toksik terhadap sistem hemopoetik (pembentukan sel darah merah). Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa interaksi antara Pb dan Fe adalah sangat penting, karena defisiensi Fe dapat mempengaruhi kenaikan absorpsi dan metabolisme Pb. Di samping itu Pb juga mengganggu metabolisme Fe dari unsur-unsur yang mengikat Fe. Pada hewan percobaan tikus yang dibuat defisiensi Fe

menunjukkan bahwa kenaikan absorpsi Pb adalah sebagai kompensasi dari absorpsi Fe yang kurang, sehingga Pb menggantikan Fe. Tetapi ekskresi Pb ini sangat sedikit sekali sehingga kebanyakan Pb tertimbun dalam jaringan. Percobaan pada tikus juga terlihat bahwa kandungan Fe dalam hati sangat menurun sehingga diduga Pb mengganggu metabolisme dan penyimpanan Fe dalam hati. Besi dan timbal juga saling antagonis dalam sistem pembentukan darah. Derajat anemia yang dipengaruhi oleh defisiensi Fe dan intoksikasi Pb bersamaan kondisinya akan lebih parah daripada hanya salah satu dari kedua penyebab tersebut. Diduga Fe dan Pb mempunyai pengaruh sendiri-sendiri atau bersamaan terhadap sistem hemosintesis (pembentukan Hb). Dalam hal ini defisiensi Fe dapat menaikkan daya toksik Pb dalam proses hemosintesis, sedangkan pemberian Fe menunjukkan adanya kenaikan daya proteksi terhadap keracunan Pb. Di dalam sel Pb mempengaruhi penggunaan Fe untuk formasi Hb dalam mitokondria, tetapi tidak menghambat pengambilan Fe dari sitoplasma, sehingga hal ini mengakibatkan terjadinya akumulasi Fe dalam mitokondria dan menyebabkan sel menjadi rusak.

Disebutkan bahwa daya racun Pb di antaranya disebabkan oleh penghambatan enzim oleh ion-ion Pb^{2+} . Enzim yang diduga dihambat adalah yang diperlukan untuk pembentukan hemoglobin. Penghambatan tersebut disebabkan terbentuknya ikatan yang kuat (ikatan kovalen) antara Pb^{2+} dengan grup sulfur yang terdapat di dalam asam-asam amino

(misalnya cistein) dari enzim tersebut (Masjukur, 1994; Palar, 1994; Darmono, 1995; Fardiaz, 2000).

Interaksi antara Pb dan Ca

Interaksi antara kedua logam ini telah dilaporkan sejak lama, baik oleh peneliti Inggris maupun Amerika. Penelitian laboratorium menunjukkan bahwa tikus yang menderita defisiensi Ca, daya absorpsi terhadap Pb akan naik, jika tikus tersebut diberi minum mengandung 12 ppm Pb dan 0,1% Ca. Kandungan Pb dalam jaringan ternyata sama dengan tikus yang diberi 200 ppm Pb dan 0,7% Ca dalam air minum. Di samping itu, ekskresi Pb juga menjadi menurun pada tikus yang menderita defisiensi Ca. Beberapa contoh dengan adanya hubungan antara Pb dan Ca adalah timbulnya gejala kalsifikasi abnormal dari permukaan tulang rawan (adanya lapisan Pb) yang merupakan gejala khas dari keracunan Pb pada anak yang disebabkan oleh terganggunya metabolisme Ca oleh Pb. (Darmono, 1995)

Interaksi antara Pb dan Zn

Interaksi antara Pb dan Zn melibatkan proses absorpsi Pb, sintesis Hb, dan pengaruh sistem saraf pusat. Seorang peneliti melaporkan bahwa pada hewan yang diberi 500 ppm Zn, kandungan Pb dalam jaringan lebih rendah daripada hewan yang diberi 5 ppm Zn. Interaksi antara Pb dan Zn juga dilaporkan pada proses biokimiawi dalam pembentukan Hb dihambat secara total oleh Pb. (Darmono, 1995).

Interaksi Pb dengan Se dan Cu

Percobaan laboratorium menunjukkan bahwa Se dapat menurunkan daya toksisitas Pb. Tikus yang keracunan Pb dapat diobati dengan pemberian Se, tetapi kandungan Pb dan Fe dalam jaringan hewan tersebut akan menjadi lebih tinggi pada tikus yang diberi Pb dan Se secara bersamaan daripada pemberian secara terpisah. Pemberian Se untuk mencegah keracunan Pb ini hanya terbatas dalam laboratorium saja, karena Se sendiri juga dapat bersifat racun sehingga pemberiannya untuk pengobatan keracunan Pb tidak dianjurkan.

Telah diterangkan di muka bahwa Pb dapat mengganggu metabolisme Fe sehingga terjadi anemia dan hal ini menjadi lebih parah jika hewan menderita defisiensi Cu. Besi dan tembaga sangat diperlukan dalam mencegah pengaruh Pb dalam sistem hemopoetik. Percobaan pada tikus menunjukkan bahwa pemberian Cu 8,5 ppm dapat mencegah terjadinya kardiomiopati karena keracunan Pb (Darmono, 1995).

2. 1. 7 Efek Fisiologis Pb

Menurut Hoekman (1996) Pb dalam berbagai bentuknya sangat beracun walaupun dalam jumlah kecil. Keracunan Pb dapat bersifat akut maupun kronis dan berpengaruh buruk pada berbagai organ tubuh. Daya toksisitas logam ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kadar logam yang termakan, lamanya mengkonsumsi, umur, spesies, jenis kelamin,

kebiasaan makan makanan tertentu, kondisi fisik, dan kemampuan jaringan tubuh untuk mengakumulasi logam.

Keracunan Pb dapat menimbulkan suatu gejala keracunan pada setiap orang baik pada anak maupun orang dewasa. Gejala keracunan biasanya berbeda antara anak dan orang dewasa, begitu juga asal dan jenis kontaminasi Pb tersebut.

Efek Logam Berat Pb Terhadap Sistem Saraf

Sistem saraf pada anak-anak adalah yang paling sensitif terhadap keracunan Pb. Suatu studi menyatakan bahwa kerusakan pada susunan saraf pusat sebagai akibat pemaparan Pb pada umur 2 tahun mengakibatkan defisit pada pertumbuhan saraf berlanjut seperti IQ rendah pada umur 5 tahun. Laporan *follow up* 1990 di Amerika Serikat memperlihatkan bahwa kadar Pb dalam gigi meningkatkan lebih dari tujuh kali untuk tidak lulus ujian SMA, ranking rendah di kelas, sering absen dan lebih banyak kesulitan membaca (Anonymous, 1996).

Di beberapa negara, baik yang sudah maju maupun yang sedang berkembang, keracunan Pb kebanyakan pada anak usia pra sekolah yang hidup di bawah standar (di daerah kumuh dan miskin) dalam bangunan tua dan tidak terawat. Anak-anak yang biasa hidup dalam lingkungan dan kondisi tersebut cenderung memakan apa saja yang ditemukan, bahkan barang yang telah terkontaminasi Pb (serpihan cat dan sebagainya), atau air minum. Di antara penderita keracunan, anak yang berumur 2 tahun,

sekitar 45% keracunan Pb berasal dari bahan makanan, 45% dari debu, 9% berasal dari air dan 1% berasal dari udara (Miller, 1989).

Gejala khas dari keracunan Pb ini pada anak berbeda dengan orang dewasa. Pada orang dewasa, kerusakan lebih banyak terjadi pada saraf perifer (saraf tepi), sedangkan pada anak-anak kerusakan saraf pusat. Gejala yang terlihat pada anak-anak tersebut ialah nafsu makan berkurang, sakit perut dan muntah-muntah, bergerak terasa kaku, kelemahan, tidak ingin bermain, peka terhadap rangsangan, sempoyongan bila bergerak, sulit berbicara, hasil test psikologik terlihat sangat rendah, gangguan pertumbuhan otak (ensefalopati), dan koma. Gejala tersebut merupakan gejala umum yang kadang-kadang tidak dicurigai sebagai keracunan Pb. Jika keracunan terus berlanjut, maka gejala khas berikutnya akan menyusul yang akhirnya menyebabkan kematian.

Bayers dan Lord (1953) melaporkan bahwa anak yang telah menderita toksisitas Pb cenderung menunjukkan adanya gangguan tingkah laku pada masa dewasanya nanti, termasuk gangguan sistem sarafnya. Anak tersebut menjadi bodoh, kesulitan dalam berpikir, gangguan dan kerusakan otak secara permanen dapat terjadi pada keracunan yang parah. Di samping itu hasil uji psikologik dan neuropsikologik menunjukkan penurunan daya ingat, kurang konsentrasi, sulit berbicara, gangguan penglihatan, dan psikomotor (gerak). Neuropati saraf tepi tersebut dapat terlihat dengan adanya kelemahan otot dan

gangguan sistem gerak, baik kelumpuhan bilateral maupun unilateral pada berkas otot ekstensor pada tangan dan kaki. yang terpengaruh biasanya pada otot-otot yang sering digerakkan kadang-kadang terjadi penurunan sistem daya sensor saraf yang mengakibatkan daya perasa kurang.

Berbagai perubahan anatomi akibat keracunan Pb baik pada sistem saraf pusat maupun perifer telah banyak dilaporkan. Kerena perkembangan Pb ensefalopati lebih sering ditemukan pada anak daripada orang dewasa, kebanyakan penelitian dilakukan terhadap pengaruh toksitas Pb pada sistem saraf pusat yang terjadi pada masa pertumbuhan anak. Ukuran otak yang mengecil atau berat yang menurun dari normal sering ditemukan pada penelitian terhadap hewan percobaan yang diberi dosis toksik Pb. Walaupun kerusakan secara umum terjadi di sebagian besar otak, tetapi sering kerusakan hanya dapat terlihat pada bagian-bagian otak, yaitu korteks dan hipokampus.

Logam berat Pb biasanya pertama berpengaruh pada pembuluh darah yang mengalir ke otak. Percobaan pada hewan yang diberi dosis Pb tinggi, terlihat bahwa kapiler darah dalam otak terlihat membesar atau mengecil dan juga terjadi nekrosis dan trombosis. Perubahan dalam neuron dan sel glial mungkin sebagai akibat sekunder dari pengaruh Pb yang ringan pada pembuluh darah.

Penelitian pada hewan percobaan juga memperlihatkan adanya gangguan masa kematangan dari neuron, hambatan mielinasi dan kerusakan struktur sel glial. Terlihat sedikitnya dendrit, terutama dalam sel

Purkinje dari serebelum dan sel dari bagian girus hipokampus. Selain itu, perkembangan sistem akson dari hipokampus juga menurun.

Pengaruh toksisitas Pb terhadap sistem neurotransmitter juga telah dilaporkan. Pb dapat menghambat pembebasan asetilkolin untuk transmisi saraf, sehingga menyebabkan kurang berfungsinya asetilkolin dalam peranannya sebagai neurotransmitter.

Sistem saraf perifer (tepi) juga terpengaruh oleh toksisitas Pb. Pada orang dewasa dapat menyebabkan degenerasi akson dan sel saraf dalam sumsum tulang belakang (*spinal cord*) dan sistem darah perifer. Terlihat adanya demielinasi sel saraf tepi pada beberapa spesies hewan percobaan. Degenerasi akson dan demielinasi tersebut merupakan akibat sekunder dari proses rusaknya sistem darah yang menyuplai saraf perifer. Tes neurofisiologik pada pasien penderita toksisitas Pb menyebabkan terjadinya penurunan daya kerja sistem saraf motorik dan kelainan elektromiografik.

Needleman et. al (1979) mempelajari pengaruh kronis toksisitas Pb pada anak umur 6-7 tahun berdasarkan analisis kandungan Pb pada giginya yang tanggal dan dikelompokkan menurut besarnya konsentrasi Pb. Konsentrasi di atas 24 ppm dan konsentrasi di bawah 6 ppm Pb, masing-masing sebagai kelompok kandungan Pb tinggi dan rendah. Hasil tes berdasarkan kecerdasan (IQ) menunjukkan bahwa anak yang kandungan Pb dalam giginya tinggi ternyata kecerdasannya (IQ) lebih rendah daripada yang konsentrasi Pb-nya rendah.

Penelitian dilanjutkan 11 tahun kemudian dengan mempelajari fungsi dan kebiasaan (*perilaku*) dan penampilannya di sekolah pada anak umur 6-7 tahun. Ternyata hasilnya sangat nyata. Anak yang kandungan Pb-nya tinggi pada giginya menunjukkan resiko dikeluarkan dari sekolah karena tidak mampu mengikuti pelajaran. Anak yang menderita toksisitas Pb kronis tersebut menunjukkan kelemahan daya pikir, lamban, sulit menangkap pelajaran, sulit berkonsentrasi sehingga mereka tidak dapat melanjutkan sekolah ke tingkat yang lebih tinggi (Needleman et. al, 1980). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa keracunan kronis Pb walaupun tidak menunjukkan gejala keracunan, tetapi pengaruhnya sangat mengkhawatirkan, baik berupa penurunan *neurobehaviour* maupun daya intelektualitasnya.

Hal yang sama juga dilaporkan oleh Underwood (1977) dan Harland et. al (1981) bahwa ada pengaruh timah hitam pada otak, yang menyebabkan hiperaktivitas dan problema sifat lain pada anak, dan keterbelakangan intelektual. Anak lebih sensitif terhadap Pb (keracunan) karena mempunyai kapasitas serap yang lebih besar. Anak-anak yang kurang mampu di kota-kota adalah yang paling banyak menderita karena mereka mungkin menelan bekas-bekas cat putih yang rasanya manis dari dinding rumah tua; cat tersebut mengandung timah hitam. Beberapa Pb yang ada dalam tubuh berasal langsung atau tidak langsung dari bahan bakar yang mengandung timah hitam, ada korelasi antara rata-rata Pb darah dan penggunaan bahan bakar timah hitam (Annest et al, 1983).

Menurut Ernhardt, Landa dan Schnell (1981), susunan saraf merupakan organ sasaran utama Pb. Setelah tingkat paparan yang tinggi, dengan kadar Pb darah di atas 80 $\mu\text{g}/\text{dl}$ dapat terjadi ensefalopati. Terjadi kerusakan pada arteriol dan kapiler yang mengakibatkan edema otak, meningkatkan cairan serebrospinal, degenerasi neuron, dan perkembangbiakan sel glia. Secara klinis keadaan ini disertai dengan munculnya ataxia, stupor, koma, dan kejang-kejang. Pada anak-anak, sindroma klinis ini dapat terjadi pada kadar Pb darah sebesar 70 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Pada kadar yang lebih rendah lagi (40-50 $\mu\text{g}/\text{dl}$), anak-anak dapat menunjukkan hiperaktivitas, berkurangnya masa perhatian, dan skor IQ sedikit menurun.

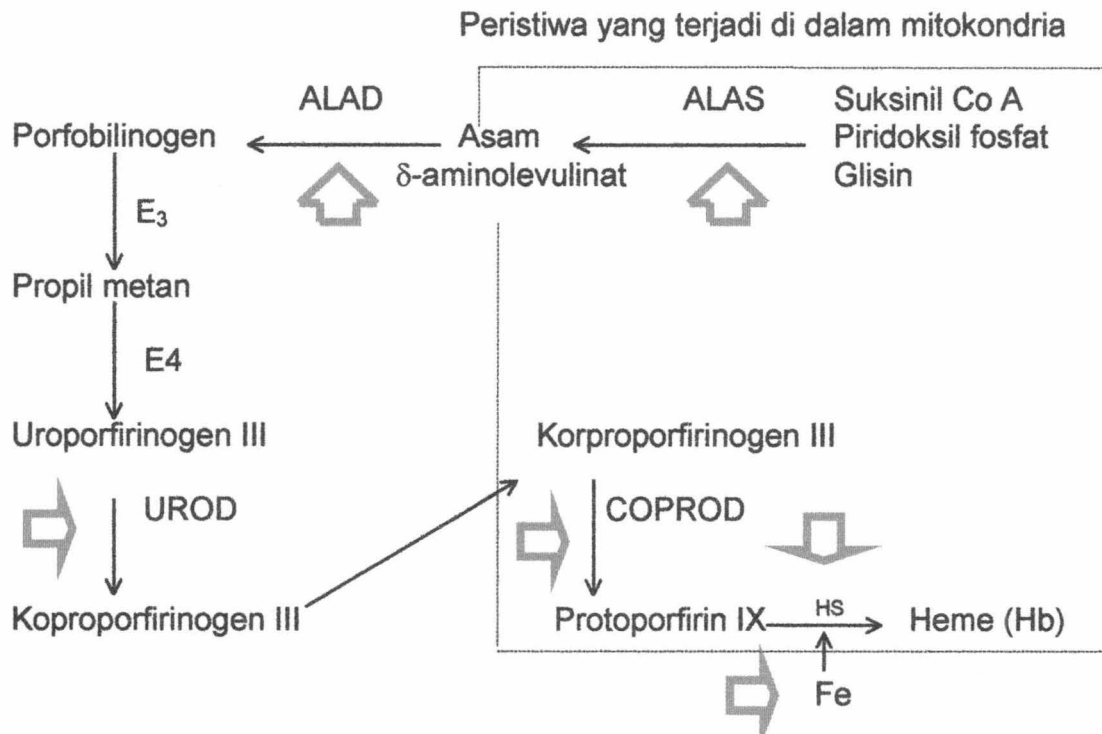
Efek Logam Berat Pb Terhadap Darah

Pb terbawa dalam darah dan lebih dari 95% berikatan dengan sel darah merah. Hal ini menyebabkan mudah pecahnya sel darah merah dan berpengaruh terhadap sintesis Hb, sehingga menyebabkan anemia. Komponen utama haemoglobin adalah Heme. Heme disintesis dari glisin dan suksinil koenzim A (KoA), dengan piridoksil fosfat sebagai kofaktor. Setelah beberapa langkah, zat ini akhirnya bergabung dengan besi untuk membentuk heme. Ada lima macam enzim yang rentan terhadap efek penghambatan Pb. Asam δ -amino levulinat dehidratase (ALAD) dan heme sintetase (HS) adalah yang paling rentan. Sementara asam δ -aminolevulinat sintetase (ALAS), uroporfirinogen dekarboksilase (UROD), dan koproporfirinogen oksidase (COPROD) tidak begitu peka terhadap

penghambatan Pb. Hanya ada dua enzim yang tidak dipengaruhi, yaitu porfobilinogen deaminase dan uroporfirinogen kosintetase. Penghambatan ini jelas tampak pada kadar Pb darah sekitar 20-25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ dan pada kadar Pb darah 50 $\mu\text{g}/\text{dl}$ menunjukkan gejala anemia klinik dengan eritrosit yang rapuh dan berumur pendek (WHO, 1977; Goyer, 1986; Dean, 1986; Siswanto, 1994 dan Lu, 1995).

Kategori pencemaran Pb di dalam darah orang dewasa, menurut Mills (1971) adalah kategori normal jika konsentrasi Pb di dalam darah adalah $< 40 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ darah, kategori dapat diterima apabila konsentrasi Pb 40-80 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ darah, kategori berlebihan jika kadar Pb 80-120 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ darah dan kategori berbahaya jika kadar Pb adalah $>120 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ darah.

Logam berat Pb ini menghambat enzim sulfidril untuk mengikat delta aminolevulinik acid (ALA) menjadi porpobilinogen, serta protoforfirin-9 menjadi Hb. Hal ini menyebabkan anemia dan adanya basofilik stipling dari sel darah merah yang merupakan ciri khas dari keracunan Pb. Basofilik stipling terjadi karena retensi dari RNA ribosom dalam sitoplasma sel darah merah sehingga mengganggu sintesis protein. Berdasarkan hal tersebut di atas, keracunan Pb dosis tinggi akan mengakibatkan anemia hemolitik, sedangkan pada keracunan kronis akan menyebabkan adanya gangguan erythropoiesis dan mengurangi kelangsungan hidup sel darah merah (Ottoway, 1980; Bueger, 1984 dan Anonymous, 1996).



Gambar 2. 2 Diagram skematis menggambarkan berbagai reaksi dalam sintesis Haemoglobin. Reaksi yang digambarkan dalam kotak terjadi dalam mitokondrion. Panah besar menunjukkan reaksi yang dihambat oleh Pb (Jaworski, 1978).

Efek Logam Berat Pb terhadap Ginjal

Efek langsung dari paparan jangka panjang Pb adalah nefropati, gangguan tubulus bagian atas yang terlihat dari adanya aminoaciduri, glikosuria, dan hiperfosfaturia, juga mengakibatkan hipertensi (Anonymous, 1996). Selain itu tanda-tanda atau gejala keracunan Pb meliputi adanya peradangan pada ginjal, kadar asam urat dalam darah meningkat, air seni atau urine mengandung glukosa, kadar asam amino dalam urine meningkat dan kadar urea dalam darah meningkat (WHO, 1977).

Menurut Mahaffey et. al. (1982), sel-sel tubulus ginjal rupanya juga merupakan target dengan mengganggu aktivitas reabsorpsinya sehingga akan menyebabkan glikosuria dan aminoasiduria. Kapasitas ginjal dalam mengaktifkan vitamin D (25-OH kolekalsiferol menjadi 1,25-di-OH kolekalsiferol) juga dapat dipengaruhi. Kerusakan ginjal menyebabkan hipertensi, sesuai dengan hasil pengamatan lead burdens (beban Pb) pada penderita hipertensi (Batuman et. al., 1983). Paparan Pb juga dapat menginduksi terjadinya adenokarsinoma ginjal, hal ini disebabkan logam Pb memasuki inti sel dan membentuk badan inklusi dalam nukleus tubulus proksimal ginjal (Goering, Mistry dan Fowler, 1987). Pada percobaan binatang tikus, didapatkan bahwa garam timah yang larut seperti Pb-asetat atau Pb-fosfat mengakibatkan tumor pada ginjal (IARC, 1980 dan Anonymous, 1996).

Menurut Thurau (1979) dan Khoeman (1987) keracunan Pb dapat menyebabkan terjadinya kerusakan ginjal terutama degenerasi atau nekrosis pada sel-sel ginjal. Pengelupasan sel tubulus proksimalis, dapat menyumbat tubulus, atau merusak glomerulus. Hal ini disebabkan darah yang masuk ginjal akan difiltrasi oleh glomerulus. Adanya senyawa Pb yang ikut aliran darah kemudian masuk ginjal, maka sel-sel glomerulus akan kontak dengan senyawa Pb tersebut. akibatnya sel-sel glomerulus akan mengalami degenerasi. Apabila senyawa Pb diberikan berulang-ulang dengan dosis yang semakin tinggi, maka sel-sel ini akan mengalami nekrosis.

Efek Logam Berat Terhadap Organ Reproduksi

Menurut Sokol et. al (1985) konsentrasi Pb darah sebesar 40 µg/dl menyebabkan hambatan terhadap fungsi testis, yaitu menghambat terjadinya spermatogenesis dan menurunkan kadar testosteron. Selain itu Pb juga mengganggu fungsi reproduksi terutama melalui gametotoksisitas pada hewan betina yang mengakibatkan kemandulan (Lockitch, 1993 dan Lu, 1995).

Berdasarkan WHO (1980), Pb dosis tinggi pada pria akan melemahkan kemampuan reproduksi, hal ini dibuktikan dengan bertambahnya frekuensi asthenospermia, hypospermia dan teratospermia.

Telah dilaporkan pengaruh Pb terhadap fungsi reproduksi pria, di antaranya adalah dapat menurunkan libido, motilitas sel sperma dan jumlah sel sperma, menyebabkan kerusakan kromosom, infertilitas dan menurunkan kualitas sperma (Bonde, 1993 dan Winder, 1994). Pada wanita menyebabkan infertilitas, keguguran dan kelainan prematur (Schaumburg, 1993; Winder, 1993; dan Klein et al, 1994).

Morgan et. al. (1975) melaporkan bahwa pada pemberian Pb asetat dengan dosis 10, 100, 500 dan 1000 mg/kg pakan pada burung puyuh yang baru menetas selama 5 minggu, ternyata burung yang mengkonsumsi 1000 mg Pb/ kg pakan selama 5 minggu testisnya mengalami reduksi.

Sementara itu, Edens et. al. (1976) menyelidiki pengaruh pakan yang mengandung Pb-asetat pada reproduksi burung puyuh. Burung yang

baru menetas diberi pakan yang mengandung 0, 10, 100 dan 1000 mg Pb-asetat/ kg pakan. Ternyata produksi telur betina pada seluruh tingkat dosis berkurang, semakin tinggi dosis semakin besar pengaruhnya. Pada dosis yang paling tinggi terjadi penghambatan produksi telur yang sangat nyata, beberapa telur yang dihasilkan mempunyai cangkang lunak atau sama sekali tidak bercangkang.

Pada penelitian pengaruh pemberian Pb dalam air minum terhadap mencit dengan konsentrasi 0, 100 dan 1000 ppm, setelah 7 minggu terjadi penyusutan vesikula seminalis, epididymis dan jumlah sperma pada jantan, serta tampak adanya kerusakan yang lebih nyata dengan bertambahnya konsentrasi Pb dan lamanya pemberian (Mcmurry et. al., 1995).

Efek Logam Berat Terhadap Sistem Gastrointestinal

Salah satu gejala yang khas dari keracunan Pb ini adalah gastroenteritis. Hal ini disebabkan oleh reaksi rangsangan garam Pb pada mukosa saluran pencernaan sehingga menyebabkan pembengkakan, dan gerak kontraksi lumen dan usus terhenti, peristaltik usus menurun sehingga terjadi konstipasi dan kadang-kadang diare (Darmono, 1995).

2. 1. 8 Efek Logam Berat Pb terhadap Kelainan Bawaan pada Janin

Logam berat Pb dapat melintasi atau menembus plasenta dan mempengaruhi janin (Clarkson, 1981 dan Anonymous, 1996). Pemaparan pada janin dapat mengakibatkan efek samping neurologis dalam

kandungan dan selama pertumbuhan sesudah lahir. Pada tahun 1984 di Amerika Serikat, 400.000 janin terpapar oleh Pb melalui darah ibu, hal ini terlihat kaitannya antara kadar darah ibu dan efek pertumbuhan awal. Telah dilaporkan adanya suatu kenaikan angka abortus dan lahir mati di antara pekerja di pabrik yang menggunakan Pb. Pb juga mempengaruhi pertumbuhan janin, hal ini terlihat adanya berat badan lahir yang rendah dan kelahiran premature (Anonymous, 1996).

Fuentes et. al (1996) melaporkan bahwa di dalam studi efek teratogenik Pb yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit usia kebuntingan 9 hari dengan dosis 14, 28, 56, 112 mg/kgBB, ternyata menunjukkan hasil bahwa pada dosis 112 mg/kg berat plasental absolut berkurang secara signifikan, demikian juga halnya yang terjadi pada berat plasental relatif pada dosis 14, 56 dan 112 mg/kgBB.

Sementara itu dalam studi perkembangan toksisitas bahan-bahan kimia industri ternyata Pb adalah teratogenik terhadap tikus karena dapat menghambat pertumbuhan embrio (Zhang et al, 1997).

Sobotka dan Rahwan (1995) melaporkan bahwa teratogenisitas Pb yang diuji pada *Xenopus laevis* dengan menggunakan konsentrasi Pb sebesar 0,02; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 dan 3,0 mg/L ternyata menunjukkan hasil bahwa pada dosis 1 dan 3 mg/L yang diberikan pada hari kesatu dan kedua setelah fertilisasi mengakibatkan kerusakan bumbung neural dan terjadi pembengkokan ekor. Adapun pada konsentrasi yang rendah tidak menghasilkan malformasi atau kelainan. Pemaparan Pb dalam waktu

yang panjang mengakibatkan Lordoskoliosis pada konsentrasi Pb 0,02-0,1 mg/L.

Klein et. al (1994) menyatakan bahwa tanda-tanda klasik dari keracunan Pb pada wanita hamil adalah abortus spontan dan manifestasi pada fetus dan bayi yang baru lahir meliputi *fetal hypothyrophy* dan malformasi, manifestasi perkembangan mental yang terhambat, kelainan otot dan tingkah laku.

Anak kecil dan janin yang belum lahir lebih peka terhadap toksisitas logam Pb ini. Pada hewan betina pemaparan Pb selain mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan prenatal, juga menyebabkan kematian neonatal (Mantovani, 1993 dan Lu, 1995).

Pada penelitian pengaruh pemberian Pb-asetat pada tikus dengan kadar 0,5% dalam air minum, ternyata menunjukkan hasil bahwa terjadi pengurangan berat badan dan waktu pembukaan mata pada anak semakin panjang bila dibandingkan dengan kontrol (Rasile et. al., 1995).

2. 2 Mencit

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit, dengan sistematika sebagai berikut :

- Ordo : Rodentia
- Sub Ordo : Myomorpha
- Famili : Muridae
- Spesies : *Mus musculus* (Jasin, 1984).

2. 2. 1 Data biologis mencit

Lama hidup	: 1 - 2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	: 9 bulan
Lama bunting	: 19 - 21 hari
Kawin sesudah beranak	: 1 sampai 24 jam
Umur disapih	: 21 hari
Umur dewasa	: 35 hari
Umur dikawinkan	: 8 minggu
Siklus kelamin	: Poliestrus
Siklus estrus	: 4 - 5 hari
Lama estrus	: 12 - 14 jam
Perkawinan	: Pada waktu estrus
Ovulasi	: dekat akhir periode estrus, spontan
Fertilisasi	: 2 jam sesudah kawin
Segmentasi ovum menjadi blastosol	: 2,5 - 4 hari
Implantasi	: 4 - 5 hari setelah fertilisasi
Berat dewasa	: 20 - 40 gram (jantan); 18 - 35 gram (betina)
Berat lahir	: 0,5 - 1,0 gram
Jumlah anak	: Rata-rata 10 ekor
Puting susu	: 10 puting (3 pasang di daerah

	dada, 2 pasang di daerah perut)
Plasenta	: Diskoidal
Uterus	: Duplex
Perkawinan kelompok	: 4 betina dengan 1 jantan
Kromosom	: $2n = 40$
Aktivitas	: Nokturnal
Kecepatan tumbuh	: 1 gram / hari

(Smith, 1988)

2. 2. 2 Daur estrus

Daur estrus pada mencit disebut dengan polyestrus, dan daur estrusnya ini terjadi setiap 4 - 5 hari. Daur estrus ini merupakan rangkaian kejadian yang berhubungan dengan persiapan uterus untuk penerimaan dan penanaman ovum yang telah dibuahi oleh pejantan. Dalam sekali siklus estrus terbagi menjadi 4 fase atau periode yaitu :

Fase proestrus, adalah fase pertumbuhan atau pemasakan folikel di dalam ovarium dan banyak dihasilkan hormon estrogen. Hormon estrogen ini merangsang pertumbuhan seluler pada vagina dan uterus. Dinding uterus menjadi lebih tebal dan halus. Fase ini berlangsung singkat ± 12 jam yang ditandai dengan adanya perubahan pada tingkah laku dan perubahan pada alat kelamin luar. Perubahan pada tingkah laku secara umum menunjukkan bahwa mencit betina mulai dapat menerima pejantan, walaupun belum mau mengadakan kopulasi. Perubahan alat kelamin luar

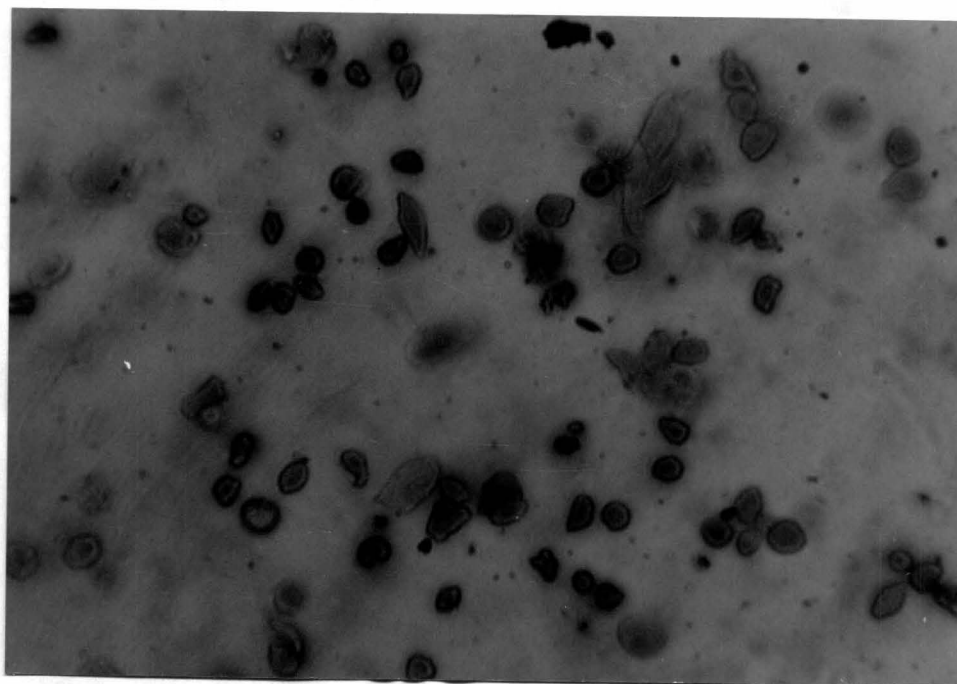
terjadi peningkatan peredaran darah pada daerah tersebut dan epitel vagina mulai menebal. Pada usapan vagina terdapat sel-sel epitel biasa.

Fase estrus, merupakan klimaks fase folikel. Pada fase ini produksi estrogen semakin bertambah dan terjadi ovulasi. Mukosa dari uterus menggelembung dan banyak mengandung darah. Pada waktu inilah hewan betina siap untuk menerima hewan jantan. Fase estrus pada mencit berlangsung lebih kurang 12 jam yang ditandai dengan penurunan aktivitas, di mana mencit lebih tenang, daun telinga gemetar, yang menunjukkan siap untuk menerima pejantan. Pada usapan vagina, tampak sel-sel epitel yang menanduk.

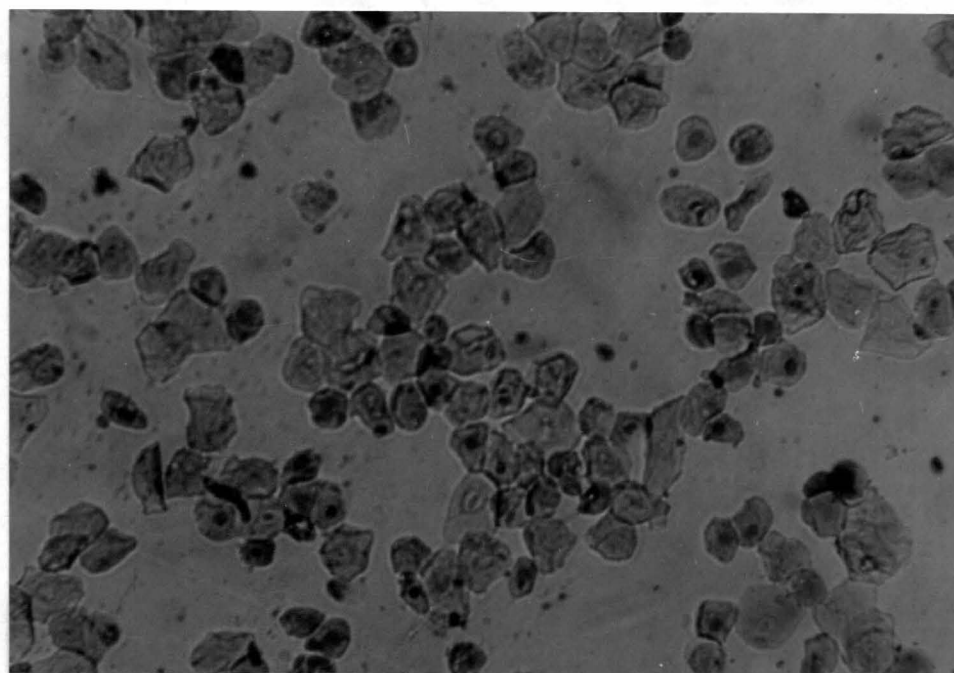
Fase metestrus, terjadi pembentukan korpus luteum dari sel-sel folikel. Progesteron pada waktu ini aktif sekali mempersiapkan dinding uterus bagi implantasi ovum, sedangkan hormon estrogen mulai menurun. Jika ovum tidak dibuahi maka jaringan yang sudah disediakan bagi implantasi ovum yang sudah dibuahi oleh pejantan tadi bersama-sama dengan lapisan permukaan endometrium akan dilepaskan yang didukung oleh kontraksi otot uterus yang hebat. Selanjutnya diikuti dengan proses perdarahan yang disebut menstruasi. Fase metestrus pada mencit berlangsung lebih kurang 21 jam yang ditandai bahwa mencit tidak mau menerima pejantan, sehingga lapisan epitel terlepas dari mukosa vagina. Pada usapan vagina tampak adanya banyak sel epitel menanduk dan lekosit, kemudian juga sel epitel biasa.

Fase diestrus, pada kebanyakan mamalia, jika tidak ada kehamilan, ovarium dan alat kelamin tambahan mengalami perubahan berangsur kembali pada suasana istirahat dengan tenang, sehingga fase diestrus ini disebut juga periode istirahat seksual. Di mana uterus kembali lagi pada keadaan semula. Jika tidak terjadi pambuahan maka korpus luteum berdegenerasi. Pada waktu sesudah menstruasi korpus luteum dinamakan luteus menstruasionis, kemudian ia akan berubah menjadi korpus albikan, kemudian akan hilang sebelum ovulasi berikutnya terjadi. Fase diestrus pada mencit berlangsung lebih kurang 57 jam yang ditandai mencit betina tidak mau menerima pejantan, sedangkan mukosa vagina kembali normal, dengan lapisan epitel menipis. Pada usapan vagina terdapat sel epitel biasa dan banyak sel lekosit.

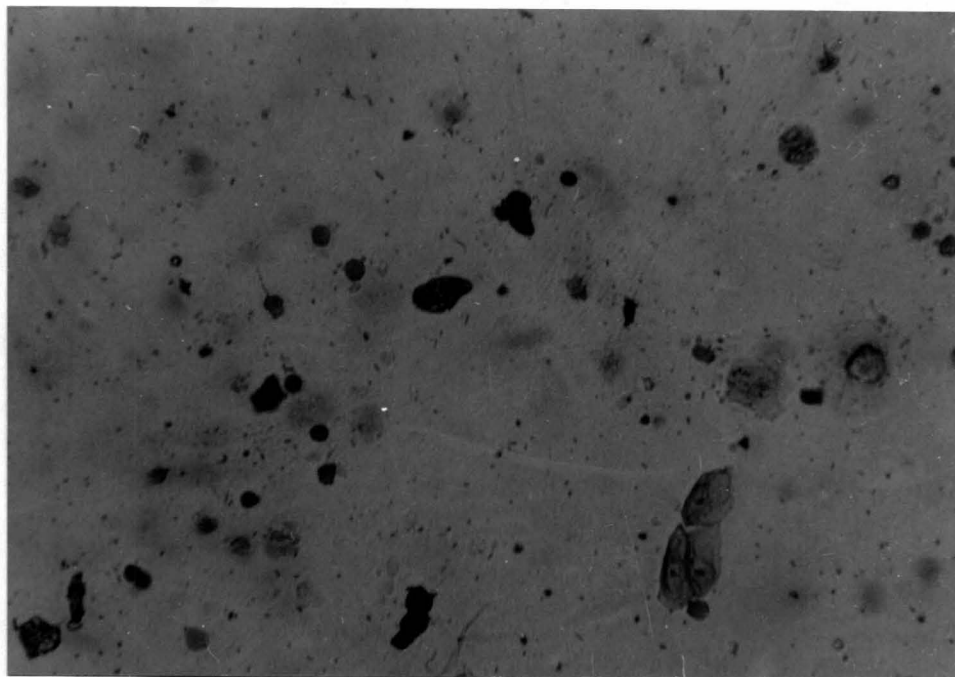
(Djuhanda, 1981; Yatim, 1990, dan Djajakusuma, 1992).



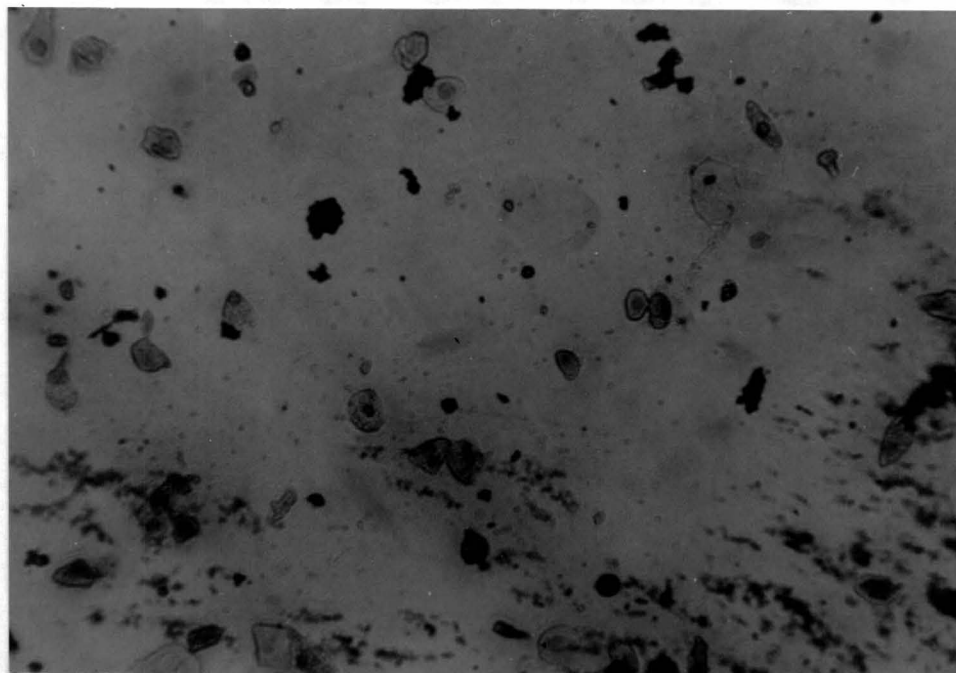
Gambar 2. 3 Usapan vagina pada fase proestrus



Gambar 2. 4 Usapan vagina pada fase estrus



Gambar 2. 5 Usapan vagina pada fase metestrus



Gambar 2. 6 Usapan vagina pada fase diestrus

2. 2. 3 Fertilisasi dan kebuntingan

Seperti mamalia, pada umumnya mencit betina siap menerima pejantan hanya selama masa estrus. Di mana pada masa estrus, hewan betina menjadi birahi atau panas (tubuh hangat, vulva berwarna merah dan bengkak). Pada pemeriksaan usapan vagina akan tampak adanya sel-sel epitel yang menanduk. Umumnya perkawinan terjadi sekitar tengah malam, dan dapat juga terjadi pada pagi hari. Interval antara ovulasi rata-rata 5 jam. Sesudah kopulasi, sekresi dari vesikula seminalis akan mengalami koagulasi membuat sebuah sumbat (*plug*) dalam vagina. Adanya *vagina plug* atau sumbat vagina manandakan bahwa perkawinan telah terjadi. Jika pada keesokan harinya ditemukan sumbat vagina, maka pada hari tersebut dianggap sebagai hari kebuntingan ke nol. Sumbat vagina tersebut, oleh mencit tidak dilepaskan sampai 24 jam sesudah *coitus* dan kadang-kadang sumbat vagina tidak dapat dilihat (Rough, 1968, dan Yatim, 1990).

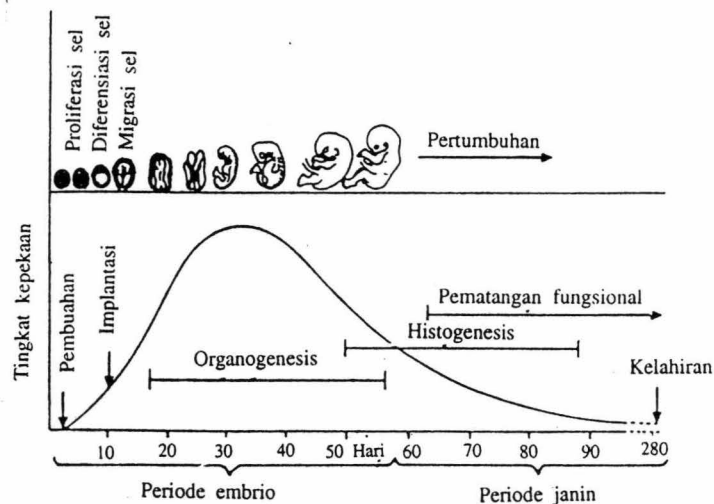
2. 2. 4 Periode perkembangan normal janin mencit

Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi sel, dan organogenesis. Embrio melalui suatu metamorfosis dan periode perkembangan janin sebelum dilahirkan.

Tahap pradiferensiasi. Selama tahap ini, embrio tidak rentan terhadap zat teratogen. Zat ini dapat menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian besar sel embrio, atau tidak menimbulkan efek

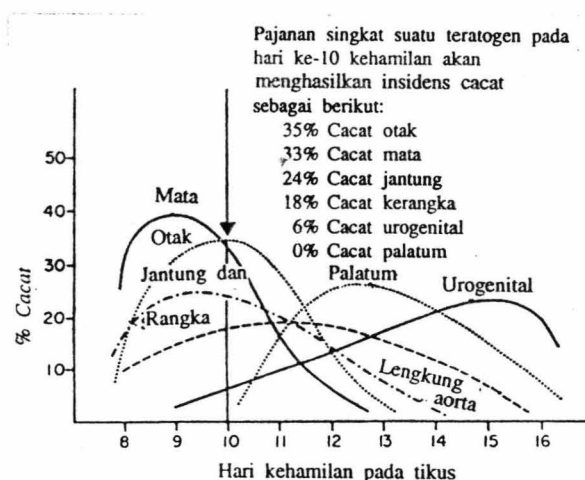
yang nyata. Bahkan, bila terjadi efek yang agak berbahaya, sel yang masih hidup akan menggantikan kerusakan tersebut dan membentuk embrio normal.

Tahap diferensiasi. Yaitu tingkat perkembangan embrio di mana sel-sel mulai menampilkan perbedaan morfologi yang nyata. Dalam periode ini sel secara intensif menjalani diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi. Selama periode inilah sebagian besar organogenesis terjadi (gambar 2.4). akibatnya embrio sangat rentan terhadap efek teratogen. Periode ini biasanya berakhir setelah beberapa waktu, yaitu pada hari ke-10 sampai hari ke-14 pada hewan pengerat dan pada minggu ke-14 pada manusia. Selain itu tidak semua organ rentan pada saat yang sama dalam suatu kehamilan.



Gambar 2.7 Tahap embriogenesis. Setelah pembuahan, ovum menjalani proliferasi sel, diferensiasi sel, dan migrasi sel. Tahapan-tahapan ini diikuti oleh organogenesis, histogenesis, dan pematangan fungsi. Periode dalam hari menunjukkan usia kehamilan manusia; tetapi mamalia lainnya mempunyai tahap yang serupa (Timbrell, 1982).

Sebagian besar organ embrio tikus sangat rentan pada hari ke-8 sampai hari ke-12, tetapi palatum dan organ urogenital baru rentan pada tahap berikutnya.



Gambar 2. 8 Insidens cacat yang dapat diramalkan pada berbagai organ dan sistem yang kerentanannya bervariasi sesuai dengan usia kehamilannya. Paparan singkat suatu teratogen pada hari ke-10 dapat menyebabkan beberapa jenis cacat bentuk yang insidensinya diperlihatkan di sini (Wilson, 1965).

Tahap janin, tahap ini ditandai dengan perkembangan dan pematangan fungsi serta perkembangan alat-alat tubuh. Selama tahapan ini, teratogen tidak mungkin menyebabkan cacat morfologik, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi. Cacat morfologik umumnya mudah dideteksi pada saat kelahiran atau sesaat sesudah kelahiran, tetapi kelainan fungsi seperti gangguan SSP, mungkin tidak dapat didiagnosis segera setelah kelahiran (Langman, 1985, dan Lu, 1995).

2.3 Teratogenesis

Pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia menjalani dua periode yang dipisahkan oleh peristiwa kelahiran yaitu masing-masing periode atau masa prenatal (sebelum lahir) dan masa postnatal (setelah lahir). Walaupun pada dasarnya antara kedua periode itu tidak ada perbedaan pokok dalam proses perkembangannya, tetapi dalam masa prenatal, pertumbuhan dan perkembangan terjadi sangat cepat sehingga menghasilkan perubahan ukuran, bentuk dan proporsi tubuh yang sangat menyolok.

Ilmu yang mempelajari pertumbuhan, perkembangan dan struktur, serta fungsi dasar tubuh manusia dalam periode prenatal disebut Embriologi. Seperti kita ketahui, pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia dan bagian-bagiannya menunjukkan banyak variasi yang merupakan akibat pengaruh faktor genetik (intrinsik) dan faktor lingkungan (ekstrinsik) selama perkembangan ataupun interaksi dari kedua faktor tersebut. Walaupun dalam pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia terdapat variasi, akan tetapi sebagian besar dari individu-individu dalam batas tertentu mempunyai struktur tubuh atau bagian-bagiannya yang normal atau yang termasuk rata-rata.

Individu yang mempunyai struktur tubuh normal merupakan hasil pertumbuhan dan perkembangan normal disebut normogenesis, sedangkan individu yang mempunyai struktur tubuh tidak normal (di luar batas normal) yang telah mengalami perkembangan abnormal disebut

teratogenesis. Ilmu yang mempelajari pertumbuhan dan perkembangan abnormal atau gangguan pada perkembangan individu sehingga menimbulkan terjadinya cacat struktural pada waktu lahir disebut Teratologi. Cacat struktural ini seringkali disebut kelainan kongenital atau cacat bawaan (Setokoesoemo, 1986).

Teratologi dapat juga dikatakan sebagai ilmu yang mempelajari pertumbuhan abnormal (*abnormal development*) dan cacat bawaan (*congenital malformation*) baik mengenai klasifikasi, frekuensi, sebab, maupun mekanisme terjadinya. Adapun teratogen adalah bahan yang menyebabkan cacat pada janin bila diberikan atau dipakai wanita yang sedang hamil. Teratogenik adalah kemampuan membuat timbulnya kelainan atau cacat pada janin (O'Rahilly dan Muller, 1992).

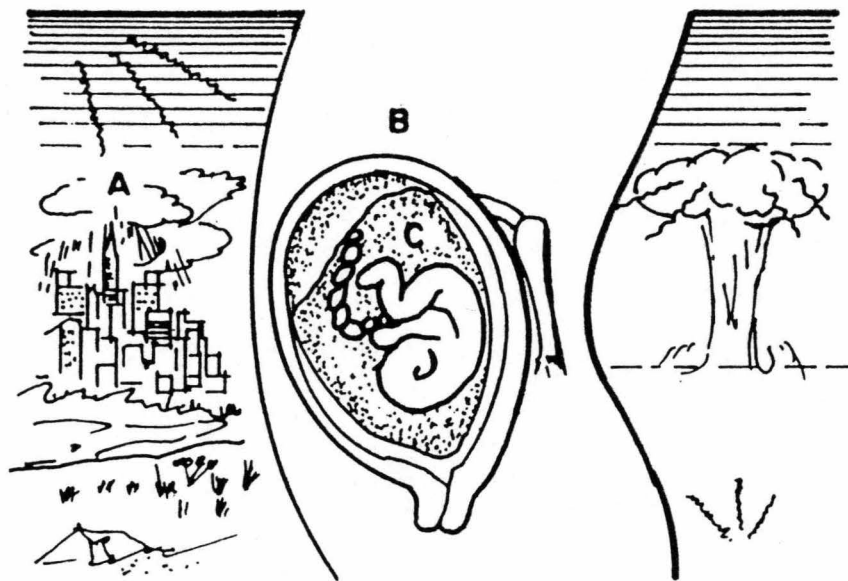
Salah satu faktor yang memegang peranan penting dalam mempengaruhi pertumbuhan serta perkembangan embrio adalah faktor lingkungan, baik lingkungan makro, misalnya lingkungan si ibu seperti udara, dan air serta bahan-bahan yang terdapat di dalamnya, maupun lingkungan mikro, misalnya struktur plasenta dengan peredaran darahnya baik tingkat seluler maupun molekuler (Setokoesoemo, 1986). Sementara itu Monie (1966) melaporkan bahwa lingkungan prenatal terdiri atas beberapa bagian sebagai berikut :

- (1) Lingkungan matro atau lingkungan ibu atau lingkungan postnatal.
- (2) Lingkungan embrio / janin yang selanjutnya dibagi lagi menjadi dua

bagian :

- a. lingkungan makro (tubuh ibu)
- b. lingkungan mikro (rahim ibu beserta isinya).

Ketiga jenis lingkungan tersebut dapat dilihat secara skematis pada gambar 2. 9.



Gambar 2. 9 Kategori lingkungan prenatal

- A. lingkungan matro
- B. lingkungan makro
- C. lingkungan mikro

2. 4 Mekanisme Teratogenesis

Mekanisme teratogenesis sebagian besar dipelajari dari eksperimen dengan menggunakan hewan percobaan. Data mengenai mekanisme teratogenesis pada manusia diperoleh dari laporan kasus atau penelitian epidemiologis.

Pengaruh faktor lingkungan seperti misalnya zat-zat kimia lingkungan yang terdapat di dalam air atau di udara dapat bekerja pada

tingkatan seluler dan tingkatan molekuler. Zat-zat kimia tersebut dapat berinteraksi dengan DNA, RNA, komponen membran sel, enzim-enzim, reseptor, dan lain sebagainya (Setokoesoemo, 1986).

Aktivitas bahan teratogen bekerja pada tingkat perkembangan sel dan jaringan khususnya subseluler atau level molekuler yang merupakan awal dari kelainan embriogenesis. Dasar dari teratologi eksperimental, perubahan-perubahan sel yang terjadi itu akibat mutasi, kerusakan kromosom (patah, gagal berpisah), gangguan pada mitosis, perubahan asam nukleat, kekurangan substrat atau prekursor tertentu, perubahan sumber energi, perubahan karakteristik membran, ketidakseimbangan osmolaritas, dan penghambatan enzim. Perubahan-perubahan tersebut berakibat terjadinya kelainan dalam embriogenesis yang berupa kematian sel, kegagalan interaksi sel, gangguan biosintesis, gangguan morfologis dan gangguan mekanis jaringan, dan sebagai manifestasi akhir berupa kematian, kecacatan, kelambatan pertumbuhan, dan gangguan fungsi organ (O 'Rahilly dan Muller, 1992).

Sementara itu Lu (1995) melaporkan bahwa mekanisme yang terlibat dalam efek teratogennya meliputi gangguan terhadap asam nukleat, kekurangan pasokan energi dan osmolaritas, penghambatan enzim dan kerusakan ultrastruktural pada membran sel embrio hewan pengerat.

Embriogenesis adalah proses seluler yang terencana dengan baik dan teratur dan mencakup proliferasi, migrasi, asosiasi, diferensiasi, serta

kematian sel sedemikian rupa untuk menghasilkan jaringan (*tissue*) dan alat (organ) berasal dari informasi genetik yang terdapat pada setiap embrio. Oleh karena itu dapat dipercaya bahwa pada tahap permulaan perkembangan mempunyai kepekaan yang tinggi terhadap faktor genetik maupun terhadap faktor luar, serta perubahan pada setiap tahap pertumbuhan akan mempunyai akibat teratologi yang berbeda-beda.

Terjadinya kelainan atau cacat, pada prinsipnya tergantung pada faktor periode perkembangan embrio yang bersamaan dengan peristiwa primer yaitu periode kritis dan periode sensitif. Periode kritis adalah tahap tertentu perkembangan embrio di mana sistem morfogenetik sangat mudah terkena pengaruh luar. Adapun periode sensitif adalah tahap tertentu perkembangan embrio di mana sel-sel yang sedang berdiferensiasi sangat sensitif terhadap bahan toksik tertentu.

Secara luas telah diketahui bahwa embrio yang sedang tumbuh dan berkembang terutama sensitif terhadap bahan toksik selama periode tertentu yang pada umumnya mempunyai hubungan dengan perkembangan sistem organ tertentu atau kelompok sel tertentu. Tahap kritis untuk timbulnya cacat struktural pada umumnya terjadi selama periode organogenesis (proses pembentukan organ). Pada tikus dan mencit periode kritis terdapat antara hari ke-6 sampai ke-15 selama masa kebuntingan. Pada manusia periode kritis terdapat antara hari ke-20 sampai hari ke-70 setelah terjadinya konsepsi atau fertilisasi. Banyak bahan-bahan teratogen yang bila diberikan dengan dosis tinggi atau

sangat dini pada perkembangan embrio, dapat menimbulkan kematian embrio yang diikuti oleh peristiwa resorpsi atau abortus. Meskipun demikian, bahan yang menyebabkan kematian embrio secara selektif pada hewan percobaan tidak harus menimbulkan kelainan bawaan pada embrio yang masih hidup. Memang mengenai hal ini di kalangan para ahli teratologi terdapat dua pendapat; salah satu mengatakan : efek embriotoksik yang menimbulkan kematian embrio harus dibedakan dengan efek teratogenik yang menimbulkan cacat pada embrio, sedangkan pendapat lain tidak membedakan kedua macam efek pada embrio tersebut karena keduanya mengganggu perkembangan embrio yang normal. Adapun cara untuk menilai dan mengetahui pengaruh lingkungan pada perkembangan embrio yang mengakibatkan manifestasi toksik pada embrio di antaranya adalah resorpsi, lahir mati, lahir hidup, berat lahir, dan sebagainya (Setokoesoemo, 1986).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3. 1 Kerangka Konseptual

Logam memperlihatkan rentang toksisitas yang luas. Salah satu logam yang bersifat sangat toksik adalah timah hitam. Timah hitam ini mempunyai nama lain timbal atau plumbum dan disimbolkan dengan Pb. Pb dalam segala bentuknya bersifat racun yang membahayakan kesehatan tubuh, sebab keracunan oleh Pb bersifat kumulatif dan menyebabkan beberapa akibat negatif pada organ tubuh misalnya hati, ginjal, otak, tulang, dan sebagainya.

Logam berat Pb sebagai suatu toksikan menyebabkan efek toksik terhadap organisme hidup melalui 3 fase yaitu fase eksposisi, fase toksikokinetik dan fase toksikodinamik. Fase eksposisi meliputi fase pemaparan dari toksikan terhadap organisme. Fase toksikokinetik meliputi absorpsi, distribusi, biotransformasi, dan eliminasi di dalam tubuh. Fase toksikodinamik meliputi interaksi antara toksikan dengan molekul atau jaringan sasaran yang diikuti terjadinya efek toksik.

Fase eksposisi

Logam berat Pb yang masuk ke dalam tubuh manusia biasanya secara oral seperti makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh Pb, melalui inhalasi atau pernafasan seperti asap pabrik, buangan limbah dan

melalui kontak dengan kulit. Di dalam penelitian ini pemaparan Pb dilakukan secara oral.

Fase toksikokinetik

Fase toksikokinetik merupakan aspek kualitatif dan kuantitatif dari rangkaian proses absorpsi, distribusi, biotransformasi, dan eliminasi toksikan di dalam tubuh.

Absorpsi. Suatu toksikan harus melalui membran sel agar dapat diserap, didistribusi, dan akhirnya dikeluarkan atau dieliminasi dari dalam tubuh. Membran sel merupakan lapisan biomolekuler lipoprotein yang dibentuk oleh molekul lipid dan molekul protein yang tersebar di seluruh membran. Mekanisme toksikan memasuki tubuh salah satunya dapat terjadi secara difusi pasif. Laju difusi berhubungan langsung dengan perbedaan kadar yang dibatasi oleh membran dan daya larutnya dalam lipid. Telah disebutkan bahwa membran biologik merupakan lapisan biomolekuler lipoprotein, maka toksikan harus mempunyai daya larut lipid yang tinggi (derajat lipofisilitas). Makin tinggi derajat lipofisilitas, makin mudah suatu toksikan melalui rintangan biologik dan menuju jaringan sasaran.

Timah hitam hampir tidak pernah ditemukan dalam bentuk logam murninya, akan tetapi ditemukan dalam bentuk persenyawaan Pb. Persenyawaan Pb dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu Pb anorganik dan Pb organik. Di dalam penelitian ini persenyawaan Pb yang digunakan

adalah Pb asetat ($Pb(C_2H_3O_2)$) merupakan Pb organik yang dapat larut dalam lipid sehingga dapat menembus membran sel.

Distribusi. Setelah Pb memasuki darah, lalu didistribusikan dengan cepat ke seluruh tubuh. Distribusi toksikan ke seluruh jaringan tubuh ditentukan oleh aliran darah, kemampuan menembus kapiler atau membran sel, dan afinitas toksikan terhadap organ. Toksikan di dalam tubuh akan mengalami proses sequestrasi yang bersifat kimia dan fisika. Sequestrasi kimia dapat terjadi akibat ikatan kovalen dan bersifat irreversibel. Sequestrasi fisika terjadi akibat ikatan non kovalen dan bersifat reversibel. Contoh sequestrasi adalah ikatan antara toksikan dengan protein jaringan hati dan ginjal yaitu Pb berikatan dengan protein sehingga senyawanya disebut metalotionein. Toksikan yang bersifat lipofilik dapat menembus berbagai sawar darah jaringan misalnya sawar darah otak (BBB), sawar darah plasenta (BPB), sawar darah mata (BOB), sawar darah testis (BOT), dan sawar darah eritrosit (BEB). Senyawa Pb yang digunakan adalah Pb – organik, sehingga dapat menembus sawar darah plasenta sehingga dapat menyebabkan terjadinya kelainan pada janin. Terjadinya kelainan pada janin, prinsipnya tergantung pada faktor periode perkembangan embrio yang bersamaan dengan peristiwa primer yaitu periode kritis dan periode sensitif. Periode kritis adalah tahap tertentu perkembangan embrio dimana sistem morfogenetik sangat mudah terkena pengaruh luar. Tahap kritis umumnya terjadi selama periode organogenesis (proses pembentukan organ). Pada mencit periode kritis

terdapat antara hari ke-6 samapai ke-15 selama masa kebuntingan. Adapun periode sensitif adalah tahap tertentu perkembangan embrio dimana sel-sel yang sedang berdiferensiasi sangat sensitif terhadap bahan toksik tertentu. Jika bahan toksik Pb diberikan dengan dosis tinggi atau sangat dini pada perkembangan embrio, maka dapat menimbulkan kematian embrio yang diikuti oleh peristiwa resorpsi. Selain itu dapat mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan konsepsi sehingga dapat menurunkan berat badan dan panjang janin. Adakalanya dapat mempengaruhi implantasi sel telur yang telah dibuahi.

Biotransformasi. Suatu toksikan dapat diserap melalui berbagai jalur setelah diabsorpsi, toksikan didistribusikan ke berbagai bagian tubuh termasuk organ ekskresi, sehingga siap dikeluarkan dari tubuh. Selanjutnya banyak zat kimia mengalami biotransformasi (transformasi metabolik) di dalam tubuh. Tempat yang terpenting untuk proses ini adalah hati. Biotransformasi meliputi proses difusi pasif dari Pb melalui membran hepatosit. Bagi toksikan, proses yang terpenting adalah metabolisme di hepatosit. Hati banyak mengandung sitokrom P-450 yang menyebabkan toksikan menjadi lebih reaktif. Metabolit reaktif ini yang mempunyai kemampuan mengikat makro molekul sel tubuh dan menyebabkan nekrosis sel. Proses ini selanjutnya dikenal sebagai proses bioaktifasi.

Eliminasi. Biasanya ekskresi Pb dari tubuh sangat kecil meskipun intake Pb tiap hari naik, sehingga dapat menaikkan kandungan Pb di dalam tubuh.

Fase Toksikodinamik

Setelah Pb melalui fase toksikokinetik, selanjutnya menuju biofase untuk mengadakan reaksi dengan molekul sasaran, diikuti dengan terjadinya perubahan pada tingkat molekuler, seluler, jaringan, dan organ sampai terjadinya efek toksik pada organisme hidup. Secara teoritik, maka intensitas efek toksik tergantung pada kadar dan lamanya ultimate toxicant di dalam titik tangkap kerja. Ultimate toxicant adalah senyawa kimia (Pb) yang mengadakan reaksi dengan molekul sasaran endogen (enzim, DNA, protein, reseptor, mikrofilamen, lipid). Berbagai proses toksikokinetik antara lain absorpsi, distribusi menuju titik tangkap kerja, reabsorpsi dan bioaktifasi (toksikasi) akan menyebabkan akumulasi kadar Pb di tempat sasaran. Pb mengadakan reaksi dengan molekul sasaran (melalui ikatan kovalen) untuk menimbulkan efek toksik.

Mekanisme Efek Toksik Pb terhadap Sel Hati dan Sel Tubulus Ginjal.

Ikatan kovalen antara Pb dengan gugus SH protein pada membran sel menyebabkan gangguan pemeliharaan integritas membran sel. Telah diketahui bahwa membran sel terdapat pompa ion yang bertanggung jawab untuk mempertahankan kadar kalium yang relatif tinggi dan kadar natrium yang rendah di dalam sel melalui suatu transport aktif. Transport aktif merupakan keadaan ketergantungan terhadap energi ("energi

dependence”) dan erat hubungannya dengan enzim-enzim membran dan “carriers” di dalam membran, misalnya ATP – ase. Jadi ikatan antara Pb dengan gugus SH menyebabkan terjadinya gangguan pada pemeliharaan integritas membran sel, yang akhirnya menyebabkan gangguan pada pompa ion. Jika pompa ion terganggu maka sel akan menghisap cairan untuk menyamakan konsentrasi di dalam sel. Hal ini akan menyebabkan volume sel meningkat dan juga akan meningkatkan tekanan hidrostatik (pembengkakan isoosmotik). Manifestasi jejas Pb inilah yang disebut sebagai pembengkakan sel.

Selain menyebabkan gangguan pada pompa ion, Pb menyebabkan hilangnya homeostasis kalsium dan meningkatnya kalsium intrasel, yang ditandai masuknya ion kalsium ke dalam sel dan lepasnya ion kalsium dari mitokondria dan retikulum endoplasmik. Peningkatan kalsium sitosolik mengaktifkan fosfolipase yang akan memecah fosfolipid membran, protease yang menguraikan protein membran dan sitoskeletal, ATP – ase yang mempercepat pengurangan ATP dan endonuklease yang terkait dengan fragmentasi kromatin. Pada akhirnya peristiwa tersebut menyebabkan terjadinya nekrosis sel.

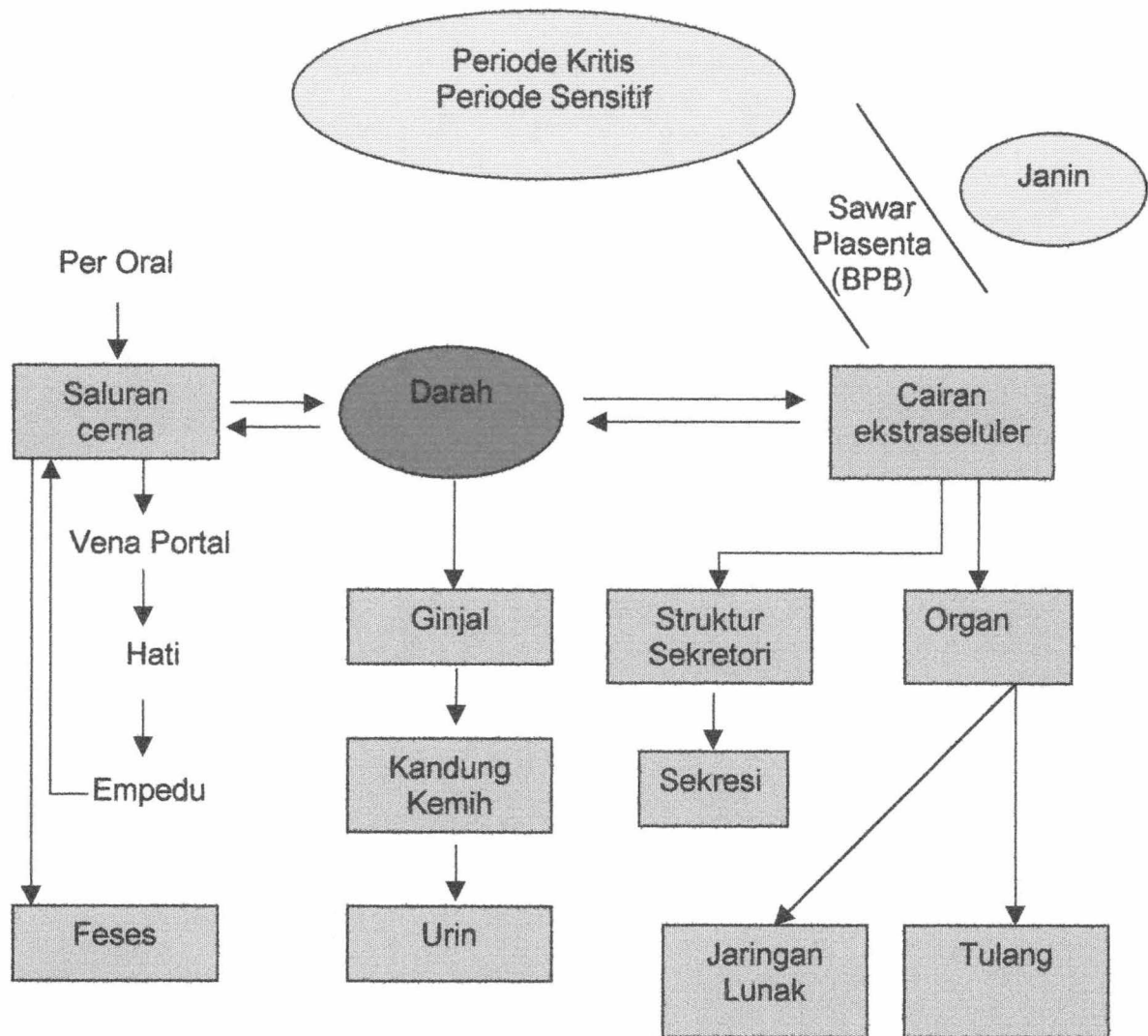
Mekanisme Efek Toksik Pb Terhadap Kelainan Tulang.

Tulang merupakan tempat penimbunan utama untuk logam Pb. Penimbunan ini terjadi dengan cara penyerapan silang antara Pb dalam cairan interstisial dan kristal hidroksiapatit dalam mineral tulang. Karena

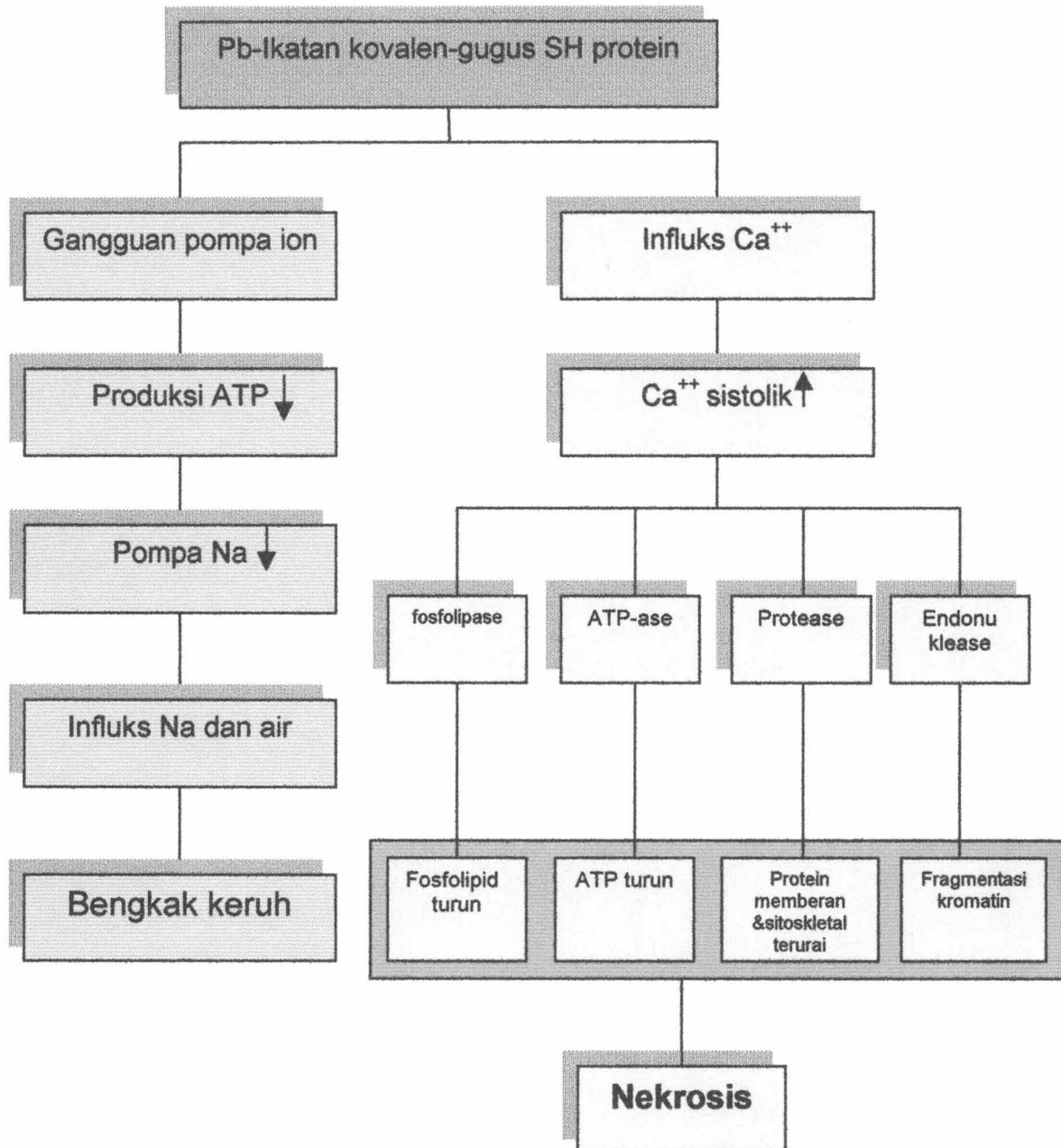
ukuran dan muatan yang sama, dengan mudah kalsium digantikan oleh Pb.

Mekanisme Efek Toksik Pb Terhadap Otak.

Salah satu efek toksik Pb terhadap otak adalah menurunkan jumlah sel Purkinje. Karena Pb bersifat menghambat proses mitosis sel Purkinje.



Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.2. Mekanisme efek toksik Pb yang menyebabkan terjadinya degenerasi dan nekrosis

3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

Pemaparan timah hitam seara oral dengan variasi dosis tertentu , variasi waktu tertentu, interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu tertentu pada induk mencit selama masa kebuntingan menyebabkan terjadinya efek toksik pada janin mencit yang berupa :

- ◆ Penurunan jumlah implantasi
- ◆ Penurunan jumlah janin hidup
- ◆ Peningkatan jumlah janin mati
- ◆ Peningkatan jumlah resorpsi
- ◆ Penurunan berat badan janin
- ◆ Penurunan panjang janin
- ◆ Kelainan pada sel hati
- ◆ Kelainan pada sel tubulus ginjal
- ◆ Penurunan jumlah sel Purkinje
- ◆ Gangguan pembentukan tulang

BAB 4

METODE PENELITIAN

4. 1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian experimental laboratoris, dalam hal ini rancangan penelitiannya berupa rancangan faktorial. Terdapat dua faktor, yang saling bekerja sama dalam rancangan faktorial ini, yaitu :

1. Dosis timah hitam (Pb asetat trihidrat) yang terdiri dari enam tingkat dosis yaitu :

D0 : 0 mg/kg BB

D1 : 25 mg/kg BB

D2 : 50 mg/kg BB

D3 : 75 mg/kg BB

D4 : 100 mg/kg BB

D5 : 125 mg/kg BB

2. Waktu atau lama pemaparan yang terdiri dari tiga katagori waktu yaitu :

W1 : hari ke 6,7,8 masa kebuntingan = 3 hari

W2 : hari ke 6,7,8,9,10,11 masa kebuntingan = 6 hari

W3 : hari ke 6,7,8,9,10,11,12,13,14,15 masa kebuntingan = 10 hari

Dengan demikian ada 18 macam kombinasi perlakuan antara tiap jenis

D dan W yaitu :

D0W1	D1W1	D2W1	D3W1	D4W1	D5W1
D0W2	D1W2	D2W2	D3W2	D4W2	D5W2
D0W3	D1W3	D2W3	D3W3	D4W3	D5W3

Secara skematis rancangan faktorial dapat digambarkan sebagai berikut :

Waktu	Dosis					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	D0W1	D1W1	D2W1	D3W1	D4W1	D5W1
W2	D0W2	D1W2	D2W2	D3W2	D4W2	D5W2
W3	D0W3	D1W3	D2W3	D3W3	D4W3	D5W3

Gambar 4.1 Skema rancangan faktorial

Dalam skema di atas faktor D mengandung 6 level, sedangkan faktor W mengandung 3 level, maka rancangan di atas disebut rancangan faktorial 6x3 sebab di sini ada 2 macam perlakuan, masing-masing dengan 6 level dan 3 level.

4. 2 Sampel, dan Besar Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit betina strain BALB/C. Besar sampel untuk masing-masing kombinasi perlakuan ditentukan berdasarkan rumus dari Steel dan Torrie (1995) yaitu :

$$(D - 1)(W - 1) (r - 1) \geq 20$$

$$(6 - 1)(3 - 1)(r - 1) \geq 20$$

$$5 \cdot 2 (r - 1) \geq 20$$

$$10 (r - 1) \geq 20$$

$$10r - 10 \geq 20$$

$$10r \geq 30$$

$$r \geq 3$$

4. 3 Variabel Penelitian

4. 3. 1 Klasifikasi variabel

1. Variabel bebas

- timah hitam

2. Variabel kendali

- strain mencit
- minuman mencit
- makanan mencit
- pemeliharaan atau perawatan mencit
- kesehatan mencit
- kandang mencit
- umur mencit 2 - 3 bulan
- berat badan mencit adalah \pm 25 gram.

3. Variabel penghubung

- Mekanisme efek toksik Pb

4. Variabel tergantung

- jumlah implantasi
- jumlah janin hidup
- jumlah janin mati
- jumlah resorpsi

- berat badan janin
- panjang janin
- kelainan pada janin
 - kelainan pada sel hati dan sel tubulus ginjal
 - kelainan pada jumlah sel Purkinje otak
 - kelainan pada gangguan pembentukan tulang

4. 2. 3 Definisi operasional variabel

1. Variabel bebas

- timah hitam (Pb); senyawa Pb yang digunakan adalah Pb asetat trihidrat yang mempunyai rumus kimia $Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3 H_2O$, BM = 379,34. Senyawa tersebut digunakan sebagai bahan perlakuan dan dibuat enam tingkat dosis masing-masing 0, 25, 50, 75, 100, 125 mg/kg BB.

2. Variabel kendali

- strain mencit adalah BALB/C
- minuman mencit adalah air yang memenuhi syarat sebagai air minum yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa, dalam hal ini adalah Aqua.
- makanan mencit adalah berupa pellet karena dapat disimpan lama, makanan bisa habis termakan, dan pengontrolan terhadap makanan yang dimakan lebih mudah, dalam hal ini adalah pellet Par-G.

- pemeliharaan atau perawatan mencit adalah pergantian sekam (alas tidur) tiap 2 hari sekali, pemberian pellet 4-5 gram/hari dan pemberian air 5-8 ml/hari ad libitum.
- kesehatan mencit adalah menjaga jangan sampai terjadi infeksi penyakit, baik yang berasal dari hewan maupun manusia.
- kandang mencit, adalah kandang yang dibuat sedemikian rupa ($20 \times 15 \times 10 \text{ cm}^3$) sehingga hewan dapat hidup dengan tenang, tidak terlalu lembab, sirkulasi udara baik, suhu cocok (suhu ruang), ventilasi lengkap dengan kawat nyamuk, serta kandang dibersihkan setiap hari.

3. Variabel penghubung

- mekanisme efek toksik Pb yaitu proses terjadinya kelainan bawan pada janin mencit yang disebabkan oleh Pb yang tidak dapat diamati secara langsung peristiwanya tetapi dapat diamati hasilnya.

4. Variabel tergantung

- jumlah implantasi adalah penghitungan janin yang terdapat di dalam uterus termasuk janin yang mengalami resorpsi.
- jumlah janin yang hidup adalah penghitungan janin hidup setelah lahir yang ditandai dengan Bergeraknya janin jika disentuh secara fisik.
- jumlah janin yang mati adalah penghitungan janin mati setelah lahir yang ditandai dengan tidak adanya respon sama sekali dari janin jika disentuh secara fisik.

- jumlah resorpsi adalah penghitungan janin yang mati dan ditandai dengan organ-organnya tidak berkembang secara sempurna dan diserap oleh dinding uterus sehingga hanya berwujud gumpalan yang melekat pada mukosa uterus .
- berat badan janin yang hidup adalah berat rata – rata dari tubuh janin hidup dalam gram yang dilakukan dengan cara menimbang .
- Panjang janin adalah panjang rata – rata dalam cm yang diukur dari dahi sampai pangkal ekor.
- Pengamatan terhadap kelainan pada sel hati dan sel tubulus ginjal dilakukan dengan cara pembuatan preparat histologis. Masing-masing kombinasi perlakuan diambil secara acak sebanyak 4 ekor janin. Pemeriksaan preparat dalam suatu irisan dilihat lima lapang pandang. Kriteria pemeriksaan histopatologis hati dan ginjal ditentukan berdasarkan tingkat keparahan yang terjadi dan diberi skor, yaitu :

Nilai 0 : apabila semua lapang pandang tidak mengalami perubahan patologi

Nilai 1 : Apabila $\frac{1}{4}$ lapang pandang mengalami perubahan patologi

Nilai 2 : Apabila $\frac{1}{2}$ lapang pandang mengalami perubahan patologi

Nilai 3 : Apabila $\frac{3}{4}$ lapang pandang mengalami perubahan patologi

Nilai 4 : Apabila semua lapang pandang mengalami perubahan patologi

Selanjutnya nilai-nilai yang diperoleh dari lima lapang pandang dijumlahkan dan dibagi lima, sehingga diperoleh satu data tentang keparahan suatu jenis perubahan histopatologi. Jenis perubahan histopatologi yang diamati adalah degenerasi bengkak keruh dan nekrosis.

- Pengamatan terhadap sel Purkinje otak adalah menghitung jumlah sel Purkinje. Pengamatan dilakukan dengan cara pembuatan preparat histologis. Masing-masing kombinasi perlakuan diambil secara acak sebanyak 4 ekor janin.
- Pengamatan terhadap kelainan tulang dilakukan dengan cara pewarnaan tulang dengan menggunakan alizarin red S. Kelainan tulang diamati dengan cara menghitung persentase janin yang mengalami gangguan pembentukan tulang.

Pembentukan tulang normal jika tulang berwarna merah karena terwarnai oleh alizarin red S. Gangguan pembentukan tulang terjadi jika tulang tidak berwarna merah (tidak terwarnai oleh alizarin red S). Jumlah janin yang diperiksa berasal dari 4 ekor induk untuk masing-masing kombinasi perlakuan. Persentase dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Jumlah janin yang mengalami gangguan pembentukan tulang}}{\text{jumlah janin seluruhnya dari 1 ekor induk}} \times 100\%$$

4. 4 Bahan Penelitian

1. Hewan coba mencit betina sebanyak 108 ekor dan mencit jantan sebanyak 54 ekor.
2. Bahan yang dipakai untuk perlakuan adalah Pb asetat trihidrat dilarutkan dengan air suling dan dibuat 6 tingkat dosis. Penentuan dosis berdasarkan LD₅₀ sebesar 130,62 mg/kg BB. Dosis tersebut adalah 0, 25, 50, 75, 100, 125 mg/kg BB. Dosis nol (D0) sebagai kontrol pada saat perlakuan hanya berupa aquades.
3. Makanan berupa pellet Par-G.
4. Minuman berupa Aqua.
5. Bahan untuk pewarnaan tulang : alkohol, KOH, Alizarin red S, gliserin
6. Bahan untuk pembuatan preparat histologis hati ,otak dan ginjal : formalin, alkohol, xylol, larutan hematoksilin, parafin, canada balsam

4. 5 Instrumen Penelitian

1. Timbangan
2. Mikroskop
3. Penggaris
4. Gelas obyek
5. Kaca pembesar
6. Alat dokumentasi
7. Alat bedah
8. Jarum Sonde

4. 6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga Surabaya. pelaksanaan dimulai bulan Juli sampai dengan September 2000.

4. 7 Prosedur Penelitian

4. 7. 1 Persiapan dan perlakuan hewan coba

Sebelum penelitian dimulai, dilakukan isolasi mencit betina dari mencit jantan untuk menghindari perkawinan. Mencit betina dipelihara mulai umur 6 minggu untuk adaptasi.

Sebelum mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan terlebih dahulu ditentukan fase estrus mencit betina. Fase estrus ditentukan dengan cara pemeriksaan ulasan vagina dengan metode pipet . Pemeriksaan dengan metode pipet dilakukan dengan menggunakan pipet yang mempunyai ujung halus dan diisi aquadest 2 sampai 3 tetes, kemudian larutan tersebut disemprotkan ke dalam vagina lalu dihisap kembali. Cairan yang dihisap tadi telah mengandung sel-sel dari vagina kemudian ditetaskan di atas gelas obyek dan diamati di bawah mikroskop dan diamati adanya sel-sel yang bertanduk.

Perkawinan dilakukan dengan cara menempatkan satu ekor mencit betina dan satu ekor mencit jantan. Perkawinan dilakukan pada sore hari (\pm pukul 18.00 BBWI) dan keesokan harinya mencit betina diperiksa apakah sudah terjadi perkawinan atau belum.

Terjadinya perkawinan ditandai dengan adanya *vaginal plug* dan jika vaginal plug sulit dilihat maka pemeriksaan dilakukan dengan cara ulasan vaginal jika terdapat sel sperma pada ulasan vagina maka dihitung sebagai hari kebuntingan ke nol . Pada masa kebuntingan tertentu, bahan perlakuan diberikan kepada masing-masing mencit sesuai dengan rancangan penelitian. Pemberian bahan perlakuan dilakukan secara oral dengan jarum sonde sebanyak 0,5 ml pada pagi hari.

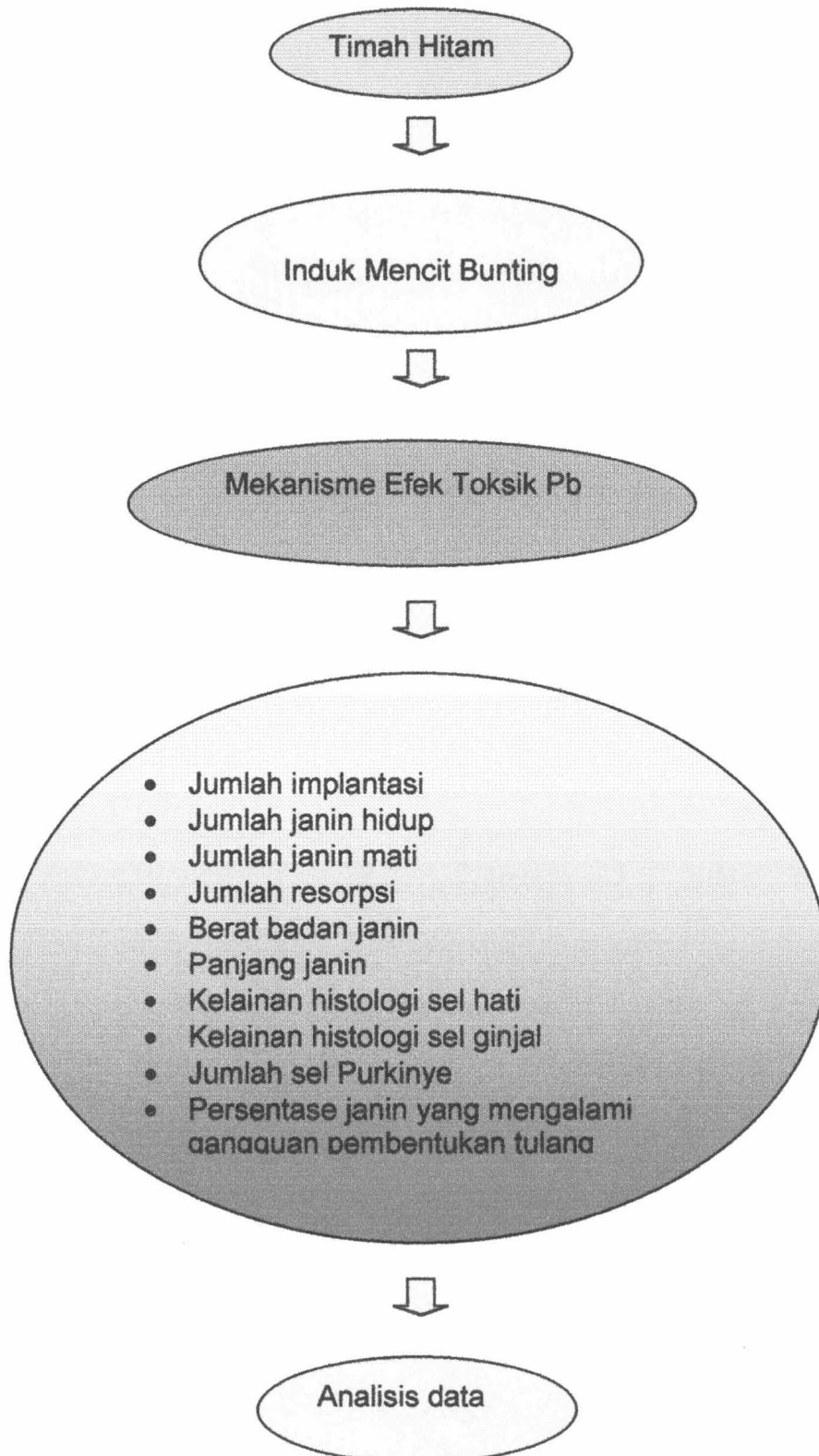
4. 7. 2 Pengumpulan data

Mencit betina pada umur kebuntingan ke-18 dibedah dan diamati jumlah implantasi, jumlah janin hidup, jumlah janin mati, jumlah resorpsi, berat badan janin, panjang janin, skoring perubahan sel hati dan sel tubulus ginjal (degenerasi dan nekrosis), jumlah sel Purkinje, persentase janin yang mengalami gangguan pembentukan tulang.

4. 8 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data, semua hasil pengamatan dari masing-masing variabel dilakukan uji normalitas. Uji ini diperlukan untuk menguji apakah sebaran data berdistribusi normal atau tidak. Jika data berdistribusi normal, data dianalisis dengan menggunakan Analisis Varians (ANOVA). Bila terdapat perbedaan antar perlakuan digunakan uji LSD (Least Significant Difference). Hasil uji ANOVA dan uji LSD bermakna bila diperoleh harga $p \leq 0,05$. Khusus untuk data yang diperoleh dengan

kriteria skoring tanpa dilakukan uji normalitas langsung dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan menggunakan uji Mann Whitney U. Hasil uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney U bermakna bila diperoleh harga $p \leq 0,05$.

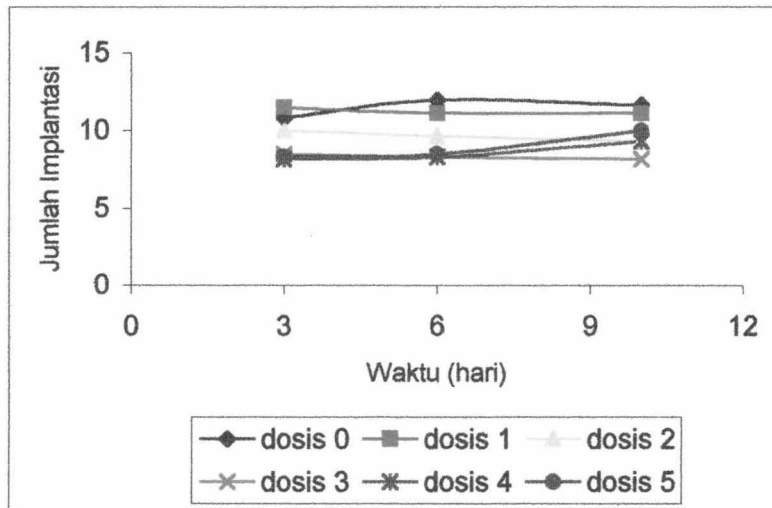


Gambar 4.2 Kerangka operasional penelitian

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1. JUMLAH IMPLANTASI



Gambar 5.1. Grafik garis yang menunjukkan jumlah implantasi dalam uterus induk mencit bunting

Tabel 5.1. Uji Kruskal Wallis terhadap Jumlah Implantasi pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
22,2222	0,0005*	20,9017	0,0008*	16,9242	0,0046*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.2. Uji Mann Whitney U terhadap Jumlah Implantasi yang Menunjukkan Interaksi Antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	11,5	0,2850	11,5	0,2867	15,5	0,6820
D0-D2	14,5	0,5311	2,5	0,0115*	3,5	0,0171*
D0-D3	3,5	0,0171*	0,5	0,0048*	0,0	0,0034*
D0-D4	3,5	0,0173*	3,5	0,0173*	4,5	0,0286*
D0-D5	1,5	0,0066*	1,0	0,0057*	6,5	0,0516
D1-D2	4,0	0,0189*	5,0	0,0315*	6,0	0,0513
D1-D3	0,5	0,0047*	1,0	0,0058*	1,5	0,0069*
D1-D4	0,5	0,0048*	3,0	0,0145*	6,5	0,0609
D1-D5	0,0	0,0035*	2,0	0,0085*	9,5	0,1620
D2-D3	4,0	0,0189*	7,0	0,0652	8,5	0,1174
D2-D4	4,0	0,0192*	8,5	0,1106	17,0	0,8686
D2-D5	1,5	0,0061*	8	0,0981	12,0	0,3117
D3-D4	16,0	0,7417	17,0	0,8656	10,0	0,1799
D3-D5	16,5	0,7992	16,5	0,8037	3,5	0,0179*
D4-D5	17,5	0,9332	15,5	0,6803	11,5	0,2841

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan analisis data dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terhadap jumlah implantasi menunjukkan perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari, nilai p yang dihasilkan adalah 0,0005; 0,0008; 0,0046. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan jumlah implantasi.

Uji Mann Whitney U digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis. Berdasarkan uji tersebut, perbedaan bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menurunkan jumlah implantasi.

Pada interaksi antara D1-D2, D1-D4, dan D1-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg.Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menurunkan jumlah implantasi. Adapun perbedaan yang bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D3, D2-D4, dan D2-D5 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menurunkan jumlah implantasi.

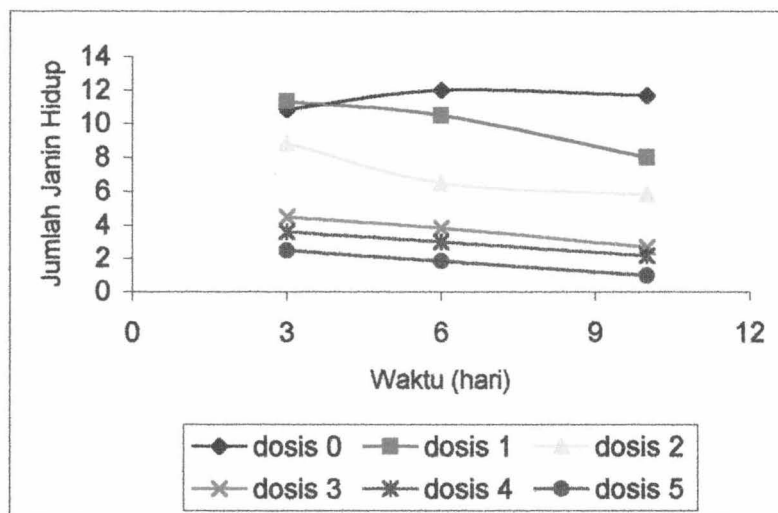
Pada saat pemaparan dengan Pb selama 6 hari perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat menurunkan jumlah implantasi.

Pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, dan D0-D4 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB selama 10 hari dapat menurunkan jumlah implantasi. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D1-D3 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/KG BB selama 10 hari dapat menurunkan jumlah implantasi. Pada interkasi antara D3-D5 menunjukkan perbedaan yang bermakna, berarti pemaparan berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah implantasi.



Gambar 5.2. Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin

5.2. JUMLAH JANIN HIDUP



Gambar 5.3. Grafik garis yang menunjukkan jumlah janin hidup yang dikandung oleh induk mencit bunting

Tabel 5.3. Uji Kruskal Wallis terhadap Jumlah Janin Hidup pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
30,3318	0,0000*	31,6434	0,0000*	31,9610	0,0000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.4. Uji Mann Whitney U terhadap Jumlah Janin Hidup yang Menunjukkan Interaksi Antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	13,0	0,4029	7,5	0,0853	0,5	0,0044*
D0-D2	5,0	0,0334*	0,0	0,0036*	0,0	0,0034*
D0-D3	0,0	0,0036*	0,0	0,0036*	0,0	0,0031*
D0-D4	0,0	0,0035*	0,0	0,0035*	0,0	0,0034*
D0-D5	0,0	0,0032*	0,0	0,0036*	0,0	0,0031*
D1-D2	2,5	0,0118*	0,5	0,0044*	5,0	0,0334*
D1-D3	0,0	0,0037*	0,0	0,0034*	0,0	0,0031*
D1-D4	0,0	0,0036*	0,0	0,0035*	0,0	0,0034*
D1-D5	0,0	0,0033*	0,0	0,0034*	0,0	0,0031*
D2-D3	0,0	0,0135*	1,5	0,0066*	0,0	0,0030*
D2-D4	0,0	0,0034*	0,0	0,0035*	0,0	0,0033*
D2-D5	0,0	0,0032*	0,0	0,0034*	0,0	0,0031*
D3-D4	10,5	0,2087	9,0	0,1269	11,0	0,2123
D3-D5	1,5	0,0065*	1,0	0,0053*	1,0	0,0045*
D4-D5	6,0	0,0447*	5,0	0,0312*	4,5	0,0221*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

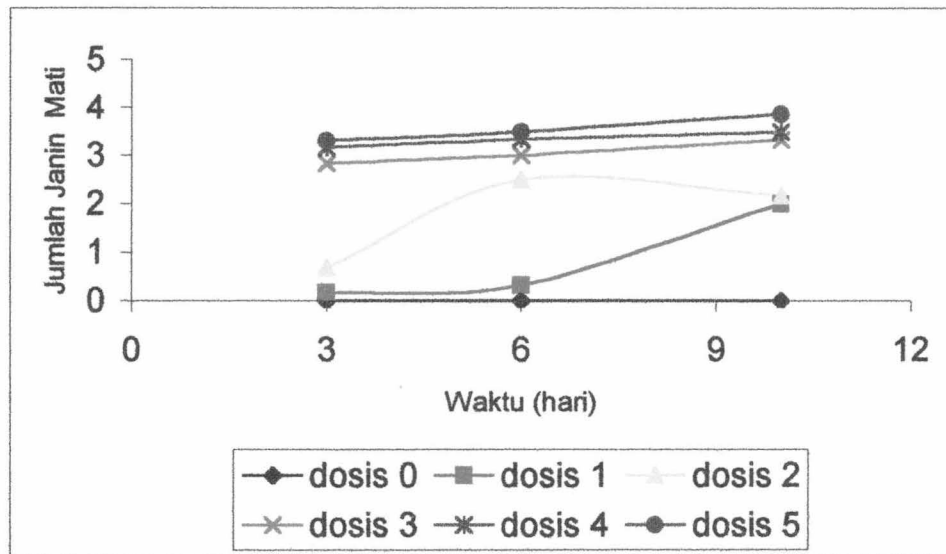
Pengujian statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terhadap jumlah janin hidup menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Nilai p yang dihasilkan pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari adalah 0,0000. Berdasarkan uji Kruskal Wallis

tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan jumlah janin hidup.

Uji lanjutan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis adalah dengan menggunakan uji Mann Whitney U. Berdasarkan uji tersebut pemaparan dengan Pb selama 10 hari, perbedaan bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, dan D0-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB selama 10 hari dapat menurunkan jumlah janin hidup. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari dan 6 hari, perbedaan bermakna terjadi pada interaksi D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah janin hidup.

Pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5 ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan jumlah janin hidup.

5.3. JUMLAH JANIN MATI



Gambar 5.4. Grafik garis yang menunjukkan jumlah janin mati yang dikandung induk mencit bunting

Tabel 5.5. Uji Kruskal Wallis terhadap Jumlah Janin Mati pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
25,7635	0,0001*	21,9422	0,0005*	18,3851	0,0025*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.6. Uji Mann Whitney U terhadap Jumlah Janin Mati yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	15,0	0,3173	12,0	0,1380	0,0	0,0020*
D0-D2	9,0	0,0578	3,0	0,0071*	0,0	0,0017*
D0-D3	0,0	0,0019*	0,0	0,0017*	0,0	0,0017*
D0-D4	0,0	0,0019*	0,0	0,0035*	0,0	0,0020*
D0-D5	0,0	0,0020*	0,0	0,0021*	3,0	0,0074*
D1-D2	11,5	0,2110	4,0	0,0194*	17,0	0,8629
D1-D3	0,0	0,0026*	0,0	0,0028*	6,0	0,0467*
D1-D4	0,5	0,0033*	0,0	0,0027*	5,0	0,0322*
D1-D5	0,0	0,0027*	1,0	0,0052*	10,0	0,1930
D2-D3	1,0	0,0053*	15,0	0,6130	8,5	0,1072
D2-D4	2,0	0,0087*	12,0	0,3089	6,0	0,0443*
D2-D5	1,0	0,0056*	12,5	0,3708	10,5	0,2122
D3-D4	12,5	0,3510	13,0	0,3359	18,0	1,0000
D3-D5	15,5	0,6716	15,0	0,6171	17,5	0,9337
D4-D5	16,5	0,8030	17,0	0,8671	17,5	0,9352

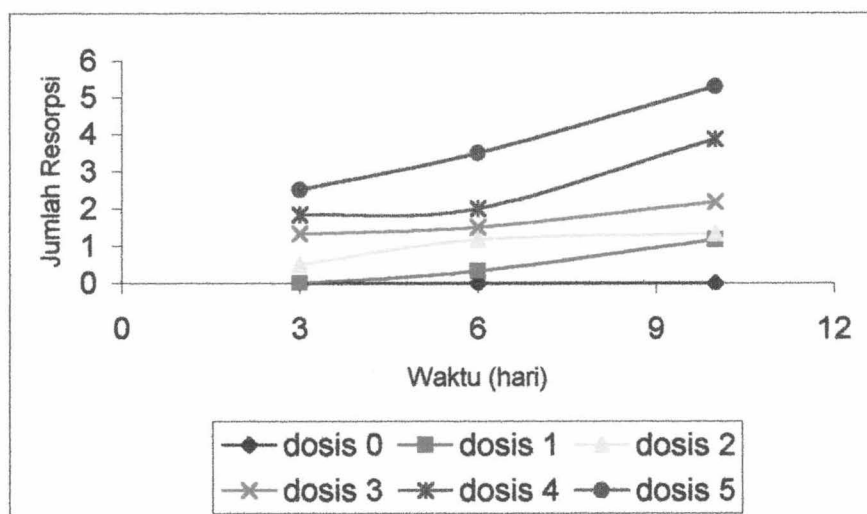
* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Pengujian statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat meningkatkan jumlah janin mati, karena nilai $p < 0,05$. Nilai p yang dihasilkan berturut-turut adalah 0,0001; 0,0005 dan 0,0025.

Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antar dosis dapat diketahui melalui uji Mann Whitney U. Berdasarkan uji tersebut, pada saat pemaparan dengan Pb selama selama 3 hari perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D4, D1-D5, D2-D3, D2-D4 dan D2-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat meningkatkan jumlah janin mati.

Pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5, ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D1-D3 dan D1-D4 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, dan 100 mg/Kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah janin mati. Pada interaksi antara D2-D4 menunjukkan perbedaan yang bermakna, hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 100 mg/Kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah janin mati.

5.4. JUMLAH RESORPSI



Gambar 5.5. Grafik garis yang menunjukkan jumlah resorpsi yang dikandung oleh induk mencit bunting

Tabel 5.7. Uji Kruskal Wallis terhadap Jumlah Resorpsi pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
25,2553	0,0001*	22,0743	0,0005*	25,8371	0,0001*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.8. Uji Mann Whitney U terhadap Jumlah Resorpsi yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	18,0	1,0000	12,0	0,1380	3,0	0,0068*
D0-D2	9,0	0,0555	3,0	0,0068*	3,0	0,0068*
D0-D3	0,0	0,0017*	0,0	0,0018*	0,0	0,0017*
D0-D4	0,0	0,0019*	0,0	0,0019*	0,0	0,0019*
D0-D5	0,0	0,0020*	0,0	0,0021*	0,0	0,0020*
D1-D2	9,0	0,0555	7,0	0,0570	15,0	0,6654
D1-D3	0,0	0,0017*	3,0	0,0105*	7,5	0,0670*
D1-D4	0,0	0,0019*	2,0	0,0074*	1,0	0,0054*
D1-D5	0,0	0,0020*	1,0	0,0052*	1,0	0,0056*
D2-D3	6,0	0,0303*	13,5	0,4227	10,5	0,1496
D2-D4	4,5	0,0198*	10,0	0,1672	1,5	0,0066*
D2-D5	1,5	0,0065*	5,5	0,0379*	1,5	0,0068*
D3-D4	13,0	0,3667	13,0	0,4227	6,0	0,0447*
D3-D5	6,0	0,0419*	7,5	0,0755	4,0	0,0189*
D4-D5	11,5	0,2768	11,5	0,2759	10,5	0,2215

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis Kruskal Wallis membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat meningkatkan jumlah resorpsi karena nilai $p < 0,05$. Nilai p yang dihasilkan berturut-turut adalah 0,0001; 0,0005 dan 0,0001.

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis adalah dengan menggunakan uji Mann Whitney U. Berdasarkan uji tersebut, pemaparan dengan Pb selama selama 3 hari menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada interaksi antara D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D3, D1-D4, D1-D5, D2-D3 dan D2-D4, D2-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB selama 3 hari dapat meningkatkan jumlah resorpsi. Adapun perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D3-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB akan meningkatkan jumlah resorpsi.

Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D4 dan D0-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat meningkatkan jumlah resorpsi pada interaksi antara D1-D3, D1-D4 dan D1-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari di dalam interaksi tersebut dapat meningkatkan jumlah resorpsi. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D5 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB, dapat meningkatkan jumlah resorpsi

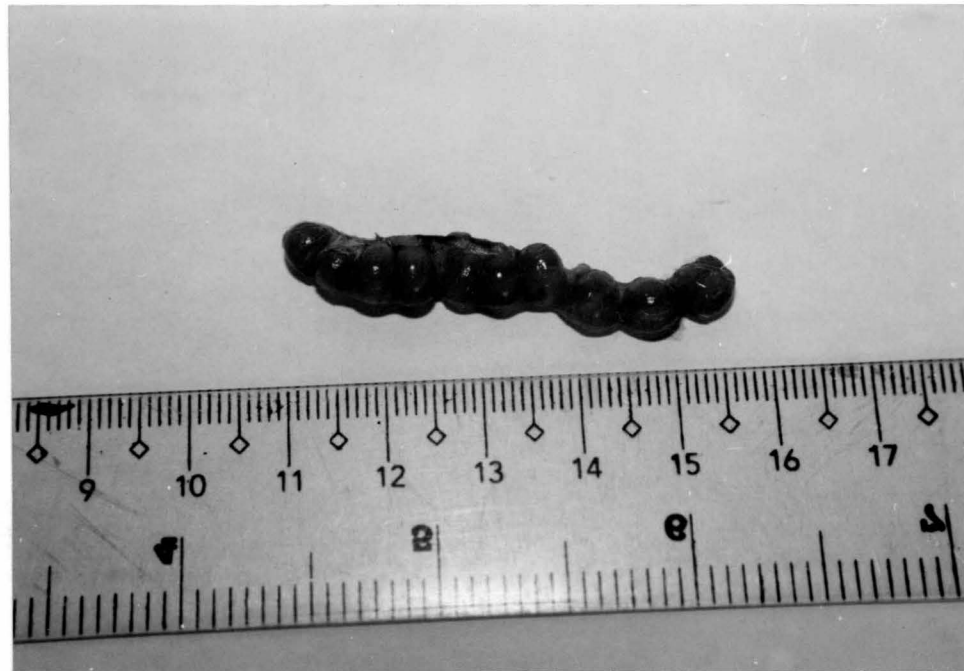
Pada saat pemaparan dengan Pb selama 10 hari, perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB,

50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah resorpsi. Pada interaksi antara D1-D4, D1-D5, D2-D4, D2-D5, D3-D4 dan D3-D5 menunjukkan perbedaan yang bermakna, sehingga dari sini dapat disimpulkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah resorpsi.



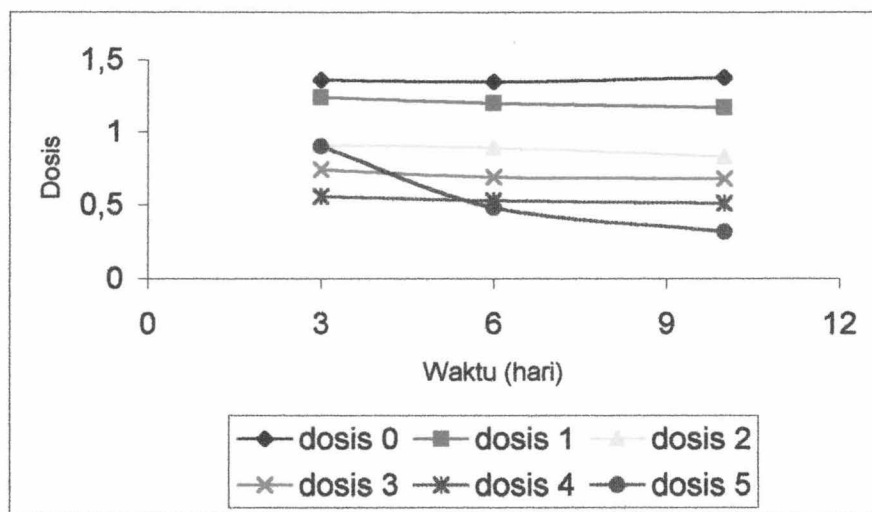
Gambar 5.6 Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin yang mengalami resorpsi

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



Gambar 5.7 Foto uterus induk mencit bunting yang berisi janin yang mengalami resorpsi

5.5. BERAT BADAN JANIN



Gambar 5.8. Grafik garis yang menunjukkan berat badan janin

Tabel 5.9. Uji Kruskal Wallis terhadap Berat Badan Janin pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
32,4324	0,0000*	33,8498	0,0000*	34,0541	0,0000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.10. Uji Mann Whitney U terhadap Berat Badan Janin yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

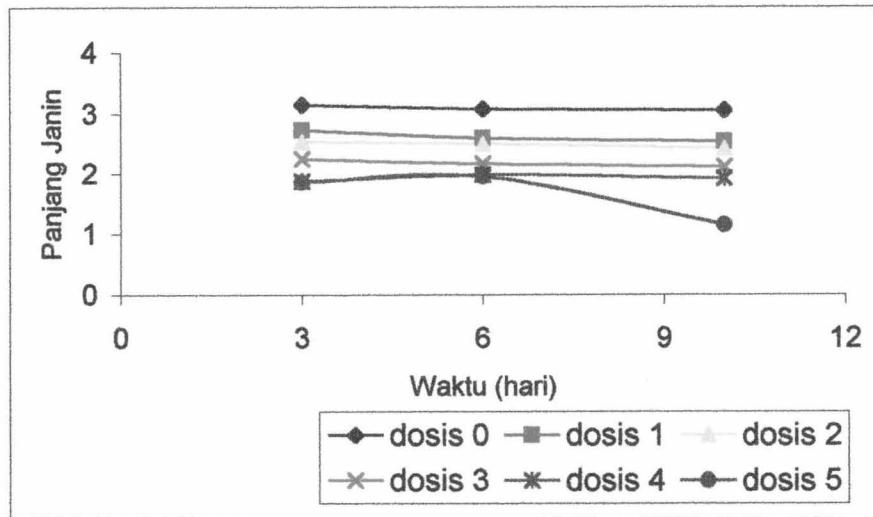
Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	0,0	0,0039*	0,0	0,0038*	0,0	0,0039*
D0-D2	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*
D0-D3	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*
D0-D4	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*
D0-D5	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*
D1-D2	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0038*
D1-D3	0,0	0,0038*	0,0	0,0039*	0,0	0,0038*
D1-D4	0,0	0,0038*	0,0	0,0038*	0,0	0,0038*
D1-D5	0,0	0,0038*	0,0	0,0038*	0,0	0,0038*
D2-D3	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0038*
D2-D4	0,0	0,0039*	0,0	0,0039*	0,0	0,0038*
D2-D5	0,0	0,0038*	5,5	0,0039*	0,0	0,0038*
D3-D4	0,0	0,0038*	13,0	0,0039*	0,0	0,0038*
D3-D5	0,0	0,0038*	7,5	0,0039*	0,0	0,0038*
D4-D5	0,0	0,0038*	11,5	0,0100*	0,0	0,0038*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan analisis data dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terhadap berat badan janin, menunjukkan perbedaan yang bermakna karena nilai yang dihasilkan adalah $p = 0,0000$ ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan berat badan janin mencit.

Adapun uji lanjutan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis dengan menggunakan uji Mann Whitney U. Berdasarkan uji tersebut perbedaan bermakna pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan berat badan janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan berat badan janin mencit. Pada interaksi antara D2-D3, D2-D4 dan D2-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan berat badan janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D3-D5 dan D4 membuktikan bahwa pemaparan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB dapat menurunkan berat badan janin.

5.6. PANJANG JANIN



Gambar 5.9. Grafik garis yang menunjukkan panjang janin mencit

Tabel 5.11. Hasil Analisis Varians 2 Arah terhadap Panjang Janin

Sumber	JK	Db	KT	F	p
Dosis	36,316	5	6,463	401,168	0,0000*
Waktu	1,285	2	0,642	39,868	0,0000*
Dosis x Waktu	0,850	10	0,08498	5,275	0,0000*
Galat	1,450	30	0,01611		

Tabel 5.12. Uji LSD terhadap terhadap Panjang Janin yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis.

Interaksi Antar Dosis	p
D0-D1	0,000*
D0-D2	0,000*
D0-D3	0,000*
D0-D4	0,000*
D0-D5	0,000*
D1-D2	0,001*
D1-D3	0,000*
D1-D4	0,000*
D1-D5	0,000*
D2-D3	0,000*
D2-D4	0,000*
D2-D5	0,000*
D3-D4	0,000*
D3-D5	0,000*
D4-D5	0,001*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.13 Uji LSD terhadap Panjang Janin yang Menunjukkan Interaksi antara Waktu Pemaparan

Interaksi Antar Waktu	p
W1-W2	0,000*
W1-W3	0,000*
W2-W1	0,000*
W2-W3	0,000*
W3-W1	0,000*
W3-W2	0,000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.14. Uji LSD terhadap Panjang Janin yang Menunjukkan Interaksi antara Dosis dan Waktu

Interaksi Antar Dosis dan Waktu	p
D0-W1	0,000*
D0-W2	0,000*
D0-W3	0,000*
D1-W1	0,000*
D1-W2	0,000*
D1-W3	0,000*
D2-W1	0,000*
D2-W2	0,000*
D2-W3	0,000*
D3-W1	0,000*
D3-W2	0,000*
D3-W3	0,000*
D4-W1	0,000*
D4-W2	0,000*
D4-W3	0,000*
D5-W1	0,000*
D5-W2	0,000*
D5-W3	0,000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan analisis data dengan menggunakan analisis varians 2 arah membuktikan bahwa penurunan panjang janin dipengaruhi oleh variasi dosis dan variasi waktu pada nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

Selanjutnya dilakukan uji LSD untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar dosis. Hasil uji LSD tersebut menunjukkan bahwa pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5 terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan panjang janin. Perbedaan bermakna yang lain terdapat pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4, D1-D5. Ini

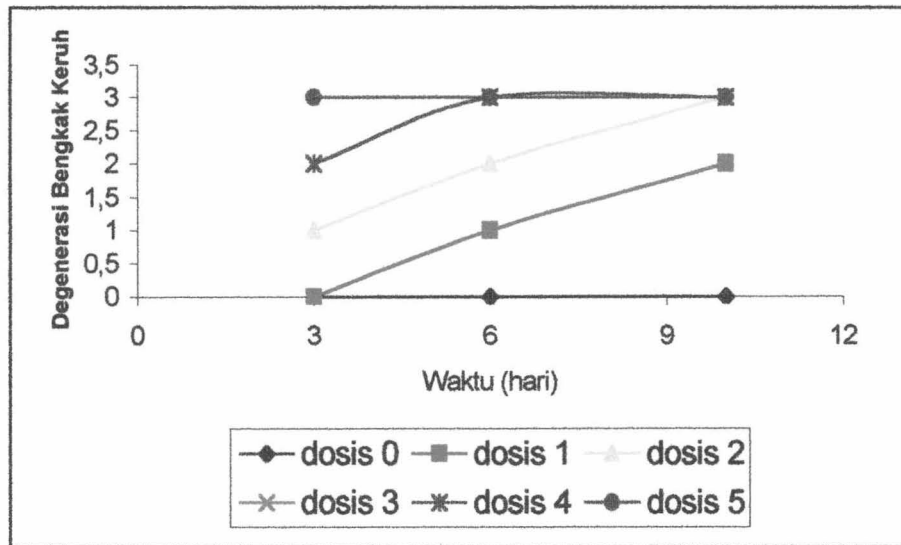
berarti pemaparan Pb dengan dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan panjang janin. Pada interaksi antara D2-D3, D2-D4, D2-D5 terdapat perbedaan yang bermakna, hal ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan panjang janin. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D3-D4 dan D3-D5 membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan panjang janin. Pada interaksi antara D4-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna, berarti pemaparan Pb dengan dosis 125 mg/Kg BB dapat menurunkan panjang janin.

Berdasarkan uji LSD yang menunjukkan interaksi antar waktu membuktikan 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan panjang janin.

Berdasarkan uji LSD yang menunjukkan interaksi antar waktu membuktikan bahwa semua kombinasi perlakuan dapat menurunkan panjang janin.

5.7. KELAINAN HISTOLOGIS HATI PADA JANIN

5.7.1. Degenerasi Bengkak Keruh yang terjadi pada Sel Hati



Gambar 5.10 Grafik garis yang menunjukkan degenerasi bengkak keruh pada sel hati

Tabel 5.15 Uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis yang terjadi pada sel hati pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
23,0000	0,0003*	23,0000	0,0003*	23,0000	0,0003*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.16 Uji Mann Whitney U terhadap nekrosis yang terjadi pada sel hati yang menunjukkan interaksi antar dosis pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi antar Dosis	3 Hari		6 Hari		10 Hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	8,0	1,0000	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D2	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D2	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D2-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D2-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D2-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D3-D4	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D3-D5	0,0	0,0082*	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D4-D5	0,0	0,0082*	8,0	1,0000	8,0	1,0000

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terhadap degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel hati, pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari, ternyata masing-masing memberikan nilai yang sama yaitu $p = 0,0003$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini

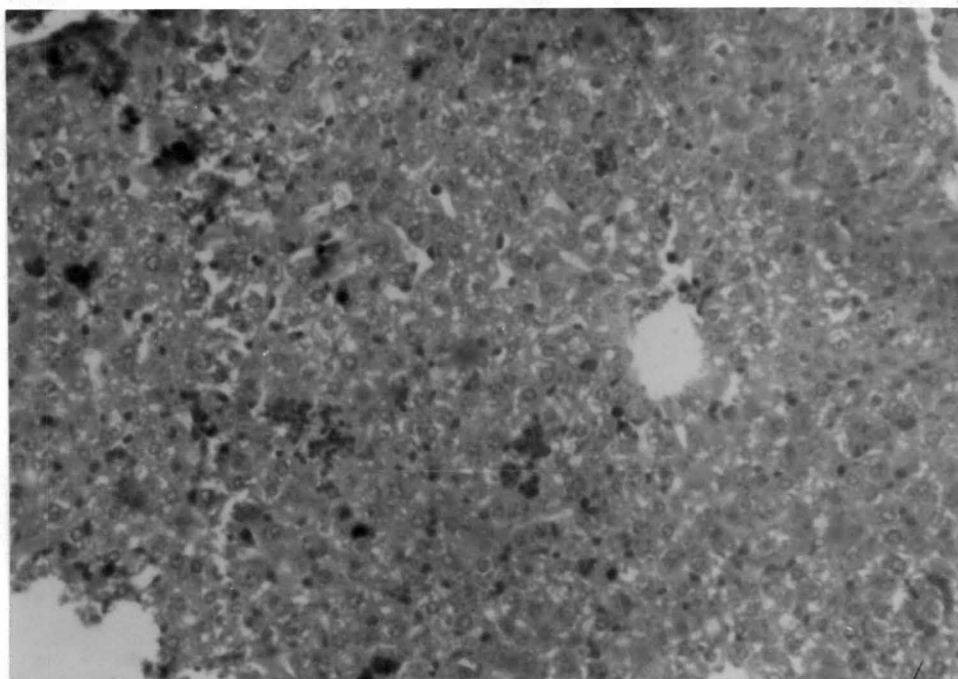
berarti pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari dapat menyebabkan kelainan histologis hati pada janin mencit yang berupa degenerasi bengkak keruh.

Uji Mann Whitney U digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis. Berdasarkan uji tersebut, pemaparan dengan Pb selama 3 hari menunjukkan bahwa perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D3, D2-D4 dan D2-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit. Pada interaksi antara D3-D5 dan D4-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB selama 3 hari menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit.

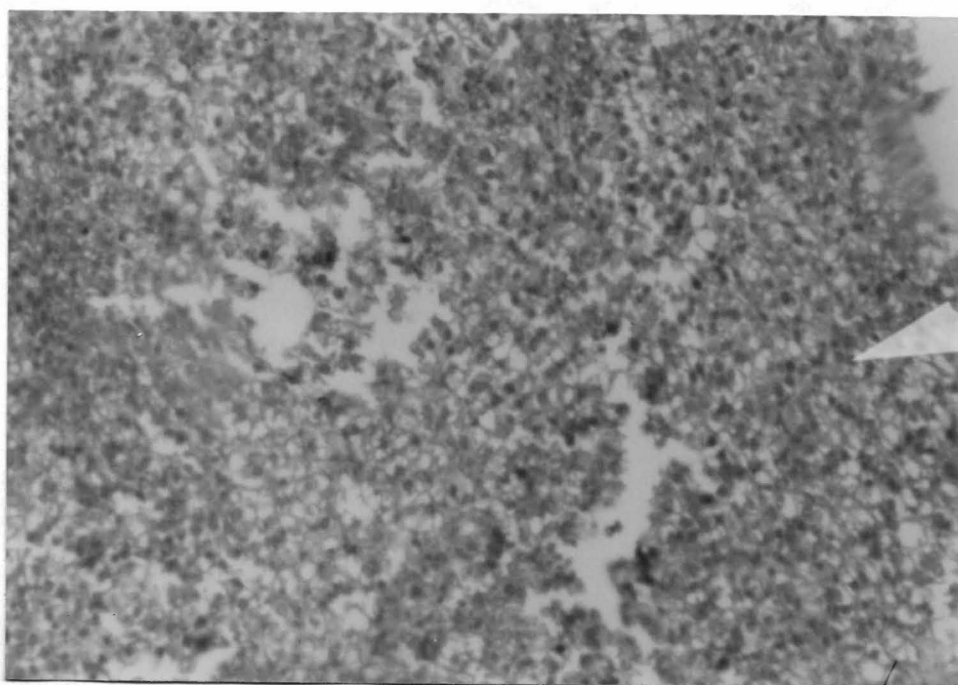
Pada saat pemaparan dengan Pb selama 6 hari, perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg

BB selama 6 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel sel hati janin mencit. Pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4, dan D1-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit. Adapun perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D3, D2-D4 dan D2-D5 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit.

Pada saat pemaparan dengan Pb selama 10 hari, perbedaan bermakna juga terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit. Pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4, dan D1-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel hati janin mencit.

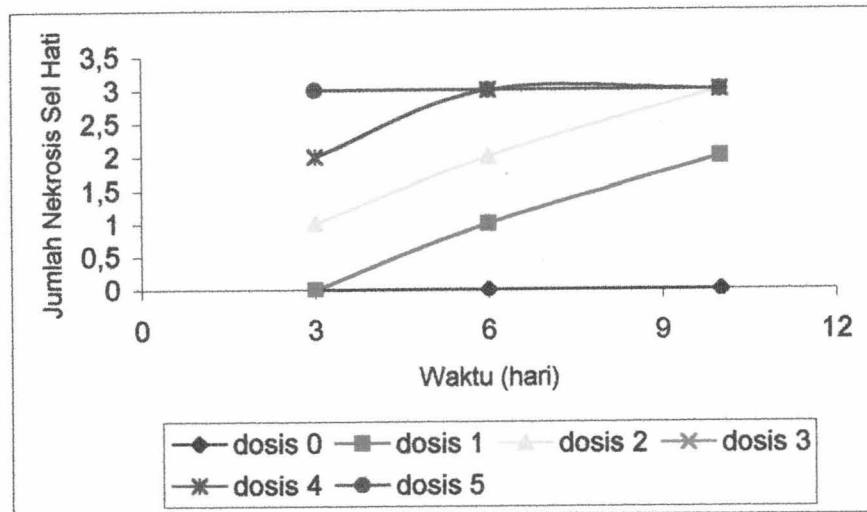


Gambar 5.11. Fotomikroskopis sel-sel hati yang normal pada pembesaran 100x



Gambar 5.12. Fotomikroskopis sel-sel hati yang mengalami degenerasi bengkak keruh pada pembesaran 100 x.

5.7.2 Nekrosis yang terjadi pada sel hati



Gambar 5.13. Grafik garis yang menunjukkan Nekrosis pada sel hati janin mencit

Tabel 5.17. Uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis yang terjadi pada sel hati pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
23,0000	0,0003*	23,0000	0,0003*	23,0000	0,0003*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.18. Uji Mann Whitney U terhadap nekrosis yang terjadi pada sel hati saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari

Interaksi antar Dosis	3 Hari		6 Hari		10 Hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	8,0	1,0000	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D2	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D0-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D2	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D1-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*
D2-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D2-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D2-D5	0,0	0,0082*	0,0	0,0082*	8,0	1,0000
D3-D4	8,0	1,0000*	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D3-D5	0,0	0,0082*	8,0	1,0000	8,0	1,0000*
D4-D5	0,0	0,0082*	8,01	1,0000	8,0	1,0000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

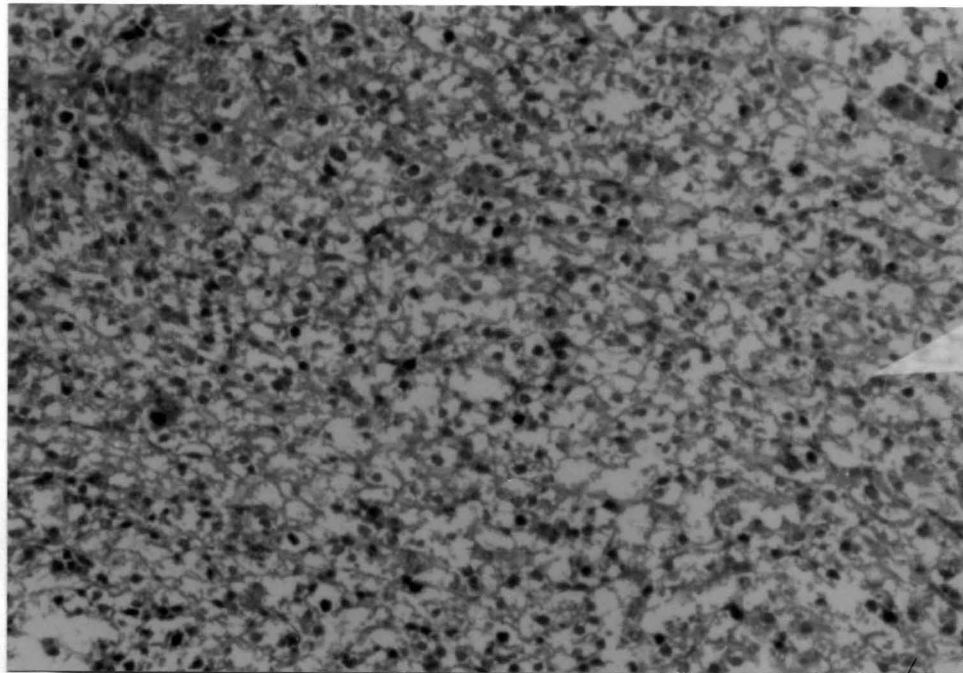
Pengujian statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis yang terjadi pada sel hati, pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari masing-masing menghasilkan nilai yang sama yaitu $p = 0,0003$ ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb selama 3

hari, 6 hari dan 10 hari dapat menyebabkan terjadinya kelainan histologis hati pada janin mencit yang berupa nekrosis.

Uji lanjutan yang digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis adalah uji Mann Whitney U. berdasarkan uji tersebut, pemaparan dengan Pb selama 3 hari menunjukkan bahwa perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D3, D2-D4 dan D2-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit. Pada interaksi antara D3-D5 dan D4-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit.

Pada saat pemaparan dengan Pb selama 6 hari dan 10 hari, perbedaan bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dan 10 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit. Pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-

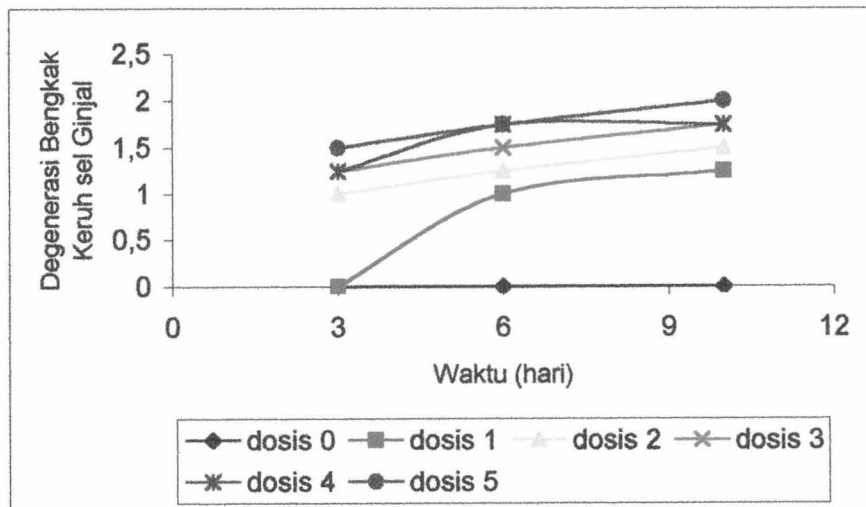
D5, juga menghasilkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dan 10 hari menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D2-D3, D2-D4 dan D2-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel hati janin mencit.



Gambar 5.14. Fotomikroskopis sel-sel hati yang mengalami nekrosis pada pembesaran 100 x

5.8. KELAINAN HISTOLOGIS GINJAL PADA JANIN

5.8.1. Degenerasi Bengkak Keruh yang Terjadi Pada Sel Tubulus Ginjal



Gambar 5.15. Grafik garis yang menunjukkan degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal janin mencit

Tabel 5.19. Uji Kruskal Wallis terhadap degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel tubulus ginjal pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	P
19,1667	0,0018*	15,3333	0,0090*	15,0053	0,0103*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.20. Uji Mann Whitney U terhadap degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel tubulus ginjal yang menunjukkan interaksi antar dosis pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari

Interaksi antar Dosis	3 Hari		6 Hari		10 Hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	8,0	1,0000	0,0	0,0082*	0,0	0,0114*
D0-D2	0,0	0,0082*	0,0	0,0114*	0,0	0,0126*
D0-D3	0,0	0,0114*	0,0	0,0126*	0,0	0,0114*
D0-D4	0,0	0,0114*	0,0	0,0114*	0,0	0,0114*
D0-D5	0,0	0,0126*	0,0	0,0114*	0,0	0,0082*
D1-D2	0,0	0,0082*	6,0	0,3174	6,0	0,4945
D1-D3	0,0	0,0114*	4,0	0,1266	4,0	0,1859
D1-D4	0,0	0,0114*	2,0	0,0404*	4,0	0,1859
D1-D5	0,0	0,0126*	2,0	0,0404*	2,0	0,0404*
D2-D3	6,0	0,1373	6,0	0,4945	6,0	0,4945
D2-D4	6,0	0,1373	4,0	0,1859	6,0	0,4945
D2-D5	4,0	0,1266	4,0	0,1859	4,0	0,1266
D3-D4	8,0	1,0000	6,0	0,4945	8,0	1,0000
D3-D5	6,0	0,4945	6,0	0,4945	6,0	0,3173
D4-D5	6,0	0,4945	8,0	1,0000	6,0	0,3173

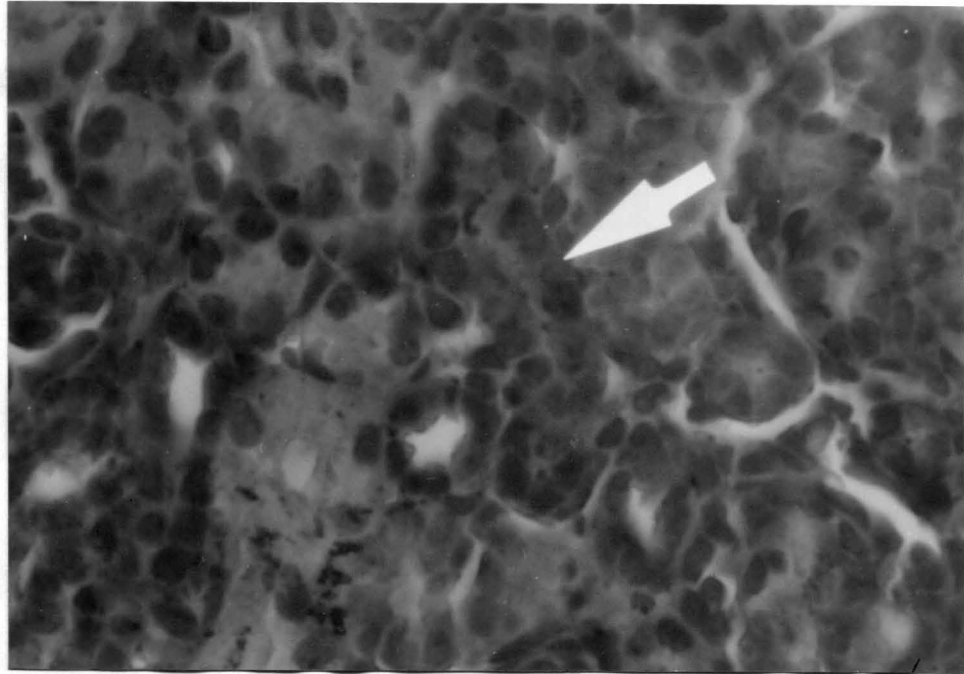
* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan analisis Kruskal-Wallis terhadap degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel tubulus ginjal, ternyata pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari, masing-masing menghasilkan nilai $p = 0,0018$; $0,0090$; dan $0,0103$. Ini berarti nilai $p < 0,05$, sehingga terdapat perbedaan yang bermakna. Hal tersebut membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10

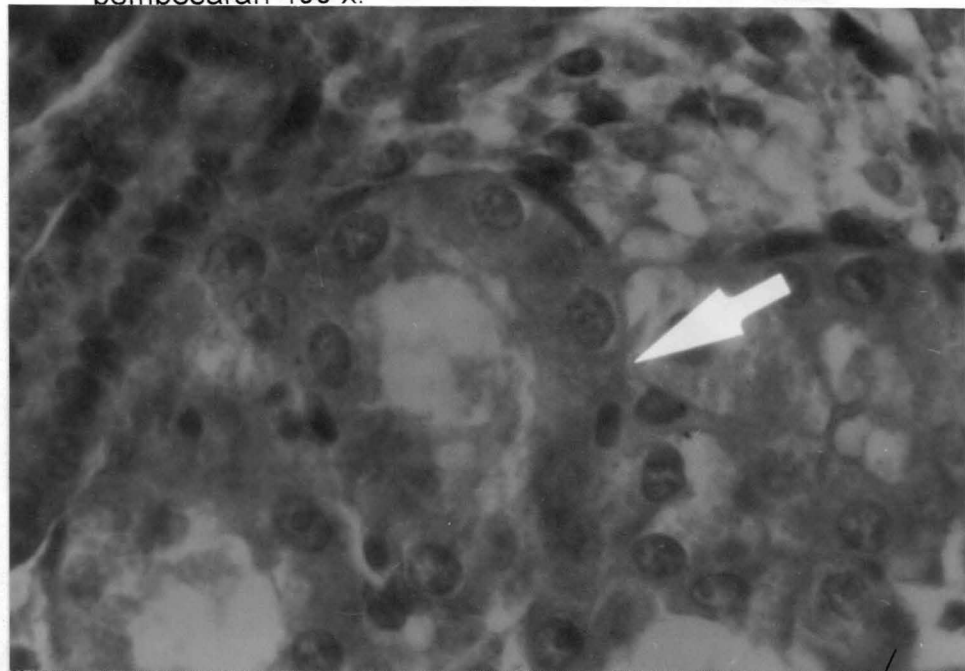
hari dapat menyebabkan terjadinya kelainan histologis ginjal yang berupa degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal janin mencit.

Cara yang digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis adalah dengan uji Mann Whitney U. Berdasarkan uji tersebut menunjukkan bahwa perbedaan bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5, D1-D2, D1-D3, D1-D4, dan D1-D5. Ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal janin mencit. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 6 hari dan 10 hari, perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5. Ini berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dan 10 hari dapat menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal janin mencit. Pada interaksi antara D1-D4 dan D1-D5, juga menunjukkan perbedaan yang bermakna, yang berarti pemaparan dengan Pb pada dosis 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 6 hari dan 10 hari menyebabkan degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal mencit. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 10 hari, perbedaan bermakna hanya terjadi pada interaksi antara D1-D5, hal ini membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB selama 10 hari

menyebabkan terjadinya degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal mencit.

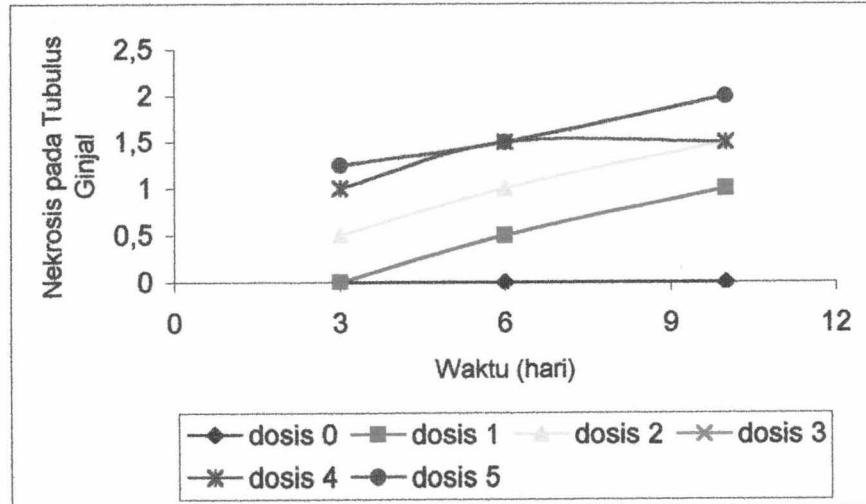


Gambar 5.16. Fotomikroskopis sel-sel tubulus ginjal yang normal, pada pembesaran 400 x.



Gambar 5.17 Fotomikroskopis sel-sel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi bengkak keruh, pada pembesaran 400 x

5.8.2. Nekrosis Yang terjadi pada Sel Tubulus Ginjal



Gambar 5.18 Grafik garis yang menunjukkan nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit

Tabel 5.21. Uji Kruskal Wallis terhadap Nekrosis yang Terjadi Pada Sel Tubulus Ginjal Pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
18,7684	0,0021*	15,3333	0,0090*	15,9592	0,0070*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.22. Uji Mann Whitney U terhadap Nekrosis yang terjadi Sel Tubulus Ginjal yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	8,0	1,0000	4,0	0,1266	0,0	0,0082*
D0-D2	4,0	0,1266	0,0	0,0082*	0,0	0,0126*
D0-D3	0,0	0,0082*	0,0	0,0126*	0,0	0,0126*
D0-D4	0,0	0,0082*	0,0	0,0126*	0,0	0,0126*
D0-D5	0,0	0,0126*	0,0	0,0126*	0,0	0,0082*
D1-D2	4,0	0,1266	4,0	0,1266	4,0	0,1266
D1-D3	0,0	0,0082*	2,0	0,0614	4,0	0,1266
D1-D4	0,0	0,0082*	2,0	0,0614	4,0	0,1266
D1-D5	0,0	0,0126*	2,0	0,0614	0,0	0,0082*
D2-D3	4,0	0,1266	4,0	0,1266	8,0	1,0000
D2-D4	4,0	0,1266	4,0	0,1266	8,0	1,0000
D2-D5	2,0	0,0614	4,0	0,1266	4,0	0,1266
D3-D4	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D3-D5	4,0	0,1266	8,0	1,0000	4,0	0,1266
D4-D5	4,0	0,1266	8,0	1,0000	4,0	0,1266

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

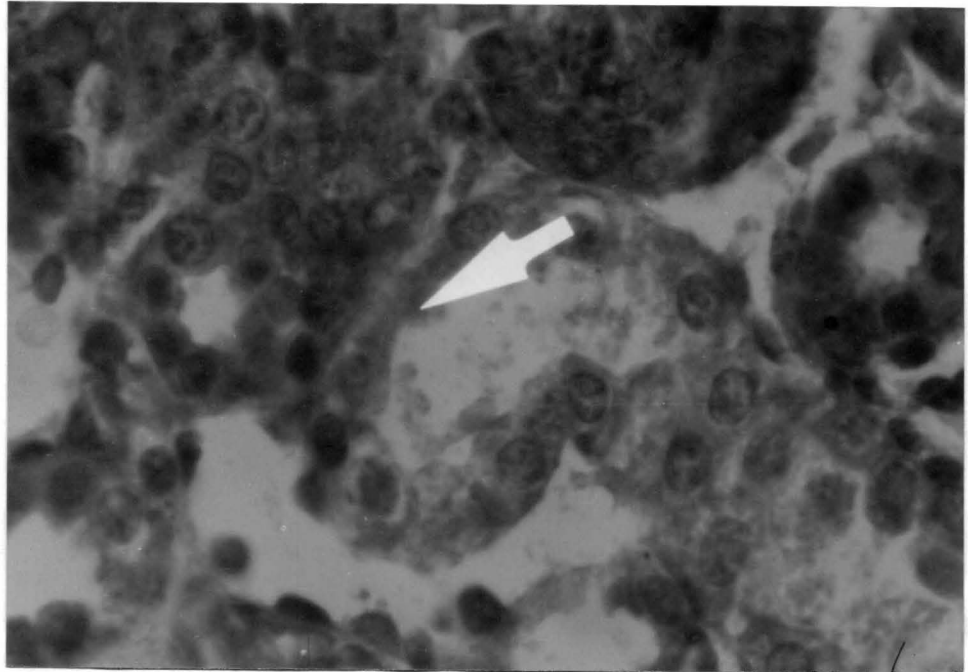
Uji Kruskal Wallis terhadap nekrosis yang terjadi pada sel tubulus ginjal pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari masing-masing menghasilkan perbedaan yang bermakna karena nilai $p < 0,05$ yaitu $p = 0,0021$; $0,0090$ dan $0,0070$. Ini berarti pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menyebabkan terjadinya kelainan histologis pada sel tubulus ginjal yaitu nekrosis.

Selanjutnya dilakukan uji Uji Mann Whitney U untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada interaksi antar dosis. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D3, D0-D4, D0-D5, D0-D5, D1-D2, D1-D3, D1-D4 dan D1-D5. Hal ini membuktikan bahwa pada interaksi tersebut

pemaparan dengan Pb pada dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 3 hari dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 6 hari perbedaan bermakna hanya terjadi pada interaksi antara D0-D2, D0-D3, D0-D4 dan D0-D5 pada dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB selama 6 bulan dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit.

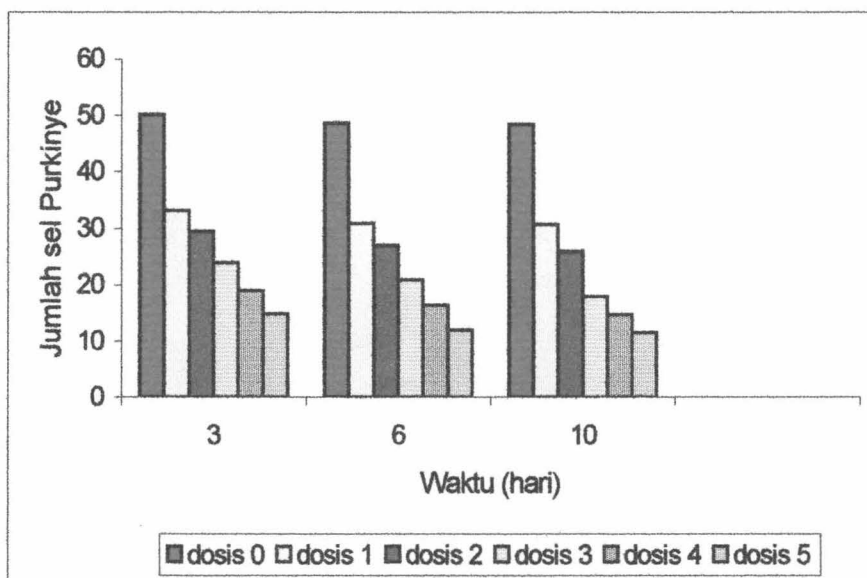
Adapun perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, dan D0-D5 menunjukkan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB selama 10 hari menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit.

Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D1-D5 membuktikan bahwa pemaparan dengan Pb pada dosis 125 mg/Kg BB selama 10 hari menyebabkan nekrosis pada sel tubulus ginjal janin mencit.



Gambar 5.19 Fotomikroskopis sel-sel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada pembesaran 400 X

5.9. KELAINAN HISTOLOGIS OTAK PADA JANIN



Gambar 5.20. Histogram yang menunjukkan jumlah sel purkinje

Tabel 5.23. Hasil Analisis Varians 2 Arah terhadap Jumlah Sel Purkinje

Sumber	JK	db	KT	F	p
Dosis	83,928	5	16,786	933,444	0,000*
Waktu	1,712	2	0,856	47,614	0,000*
Dosis x Waktu	0,395	10	0,03953	2,198	0,032*
Galat	0,971	54	0,01789		

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.24. Uji LSD terhadap terhadap Jumlah Sel Purkinje yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis.

Interaksi Antar Dosis	p
D0-D1	0,000*
D0-D2	0,000*
D0-D3	0,000*
D0-D4	0,000*
D0-D5	0,000*
D1-D2	0,001*
D1-D3	0,000*
D1-D4	0,000*
D1-D5	0,000*
D2-D3	0,000*
D2-D4	0,000*
D2-D5	0,000*
D3-D4	0,000*
D3-D5	0,000*
D4-D5	0,001*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.25. Uji LSD terhadap Panjang Janin yang Menunjukkan Interaksi antara Waktu

Interaksi Antar Waktu	p
W1-W2	0,000*
W1-W3	0,000*
W2-W1	0,000*
W2-W3	0,003*
W3-W1	0,000*
W3-W2	0,003*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.26. Uji LSD terhadap Jumlah Sel Purkinje yang Menunjukkan Interaksi antara Dosis dan Waktu

Interaksi Antar Dosis	p
D0-W1	0,000*
D0-W2	0,000*
D0-W3	0,000*
D1-W1	0,000*
D1-W2	0,000*
D1-W3	0,000*
D2-W1	0,000*
D2-W2	0,000*
D2-W3	0,000*
D3-W1	0,000*
D3-W2	0,000*
D3-W3	0,000*
D4-W1	0,000*
D4-W2	0,000*
D4-W3	0,000*
D5-W1	0,000*
D5-W2	0,483
D5-W3	0,000*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

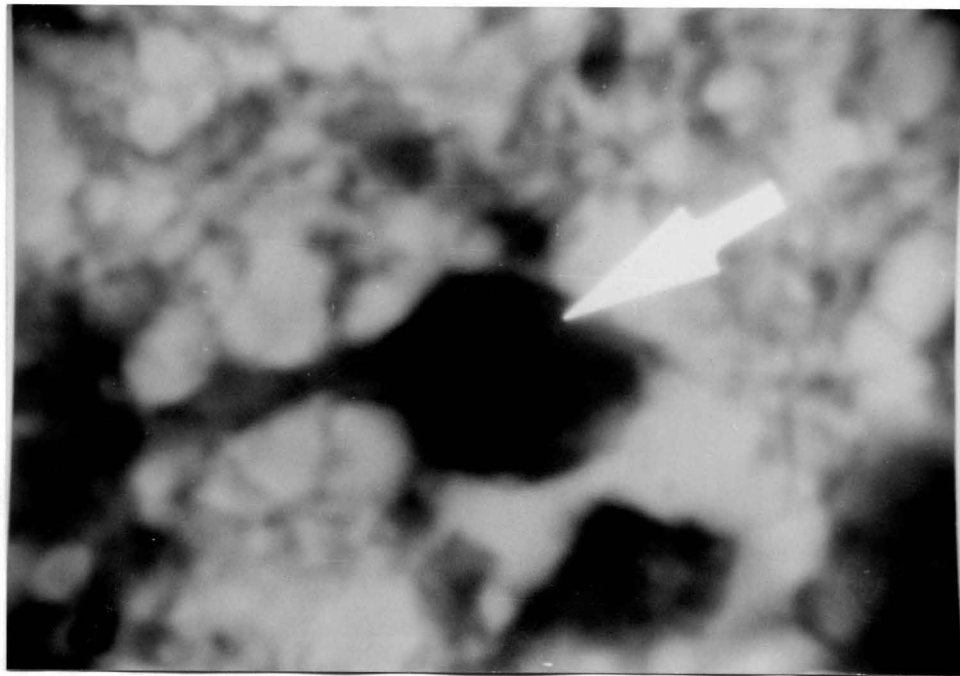
Berdasarkan analisis data dengan menggunakan analisis varians 2 arah membuktikan bahwa penurunan jumlah sel Purkinje dipengaruhi oleh variasi dosis dan variasi waktu maupun interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu pada nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

Uji LSD digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar dosis. Pada interaksi antara D0-D1, D0-D2, D0-D3, D0-D4, D0-D5 terdapat perbedaan yang bermakna. Ini berarti pemaparan Pb dengan dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah sel Purkinje. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D1-D2, D1-D3, D1-D4, D1-D5

membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 50 mg/Kg BB, 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah sel Purkinje. Pada interaksi antara D2-D3, D2-D4, D2-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna, ini berarti pemaparan Pb dosis 75 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah sel purkinje. Perbedaan bermakna yang terjadi pada interaksi antara D3-D4 dan D3-D5 membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 100 mg/ Kg BB dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah sel purkinje. Pada interaksi antara D4-D5 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna berarti pemaparan Pb dengan dosis 100 mg/Kg BB, dan 125 mg/Kg BB dapat menurunkan jumlah sel Purkinje.

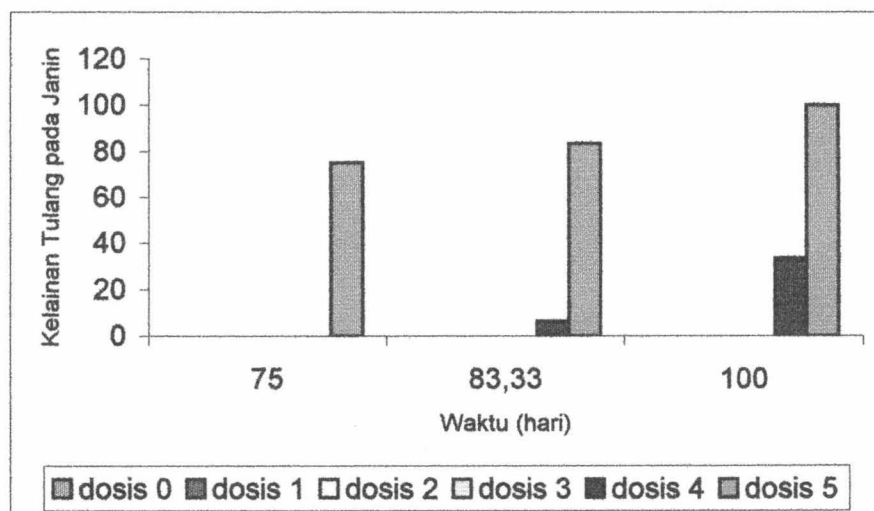
Berdasarkan uji LSD yang menunjukkan interaksi antar waktu membuktikan bahwa pemaparan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menurunkan jumlah sel Purkinje.

Berdasarkan uji LSD yang menunjukkan interaksi antar dosis dan waktu semuanya menunjukkan perbedaan yang bermakna yang berarti semua kombinasi dapat menurunkan jumlah sel Purkinje kecuali pada kombinasi perlakuan D5-W3.



Gambar 5.21. Foto yang menunjukkan sel purkinje janin menciit

5.10. KELAINAN TULANG PADA JANIN



Gambar 5.22. Histogram yang menunjukkan persentase janin yang mengalami kelainan tulang

Tabel 5.27. Uji Kruskal Wallis terhadap Kelainan Tulang Pada Saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari, dan 10 hari.

3 hari		6 hari		10 hari	
Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p	Kruskal Wallis	p
5,4000	0,3690	10,0000	0,0752	10,6000	0,0599

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.28. Uji Mann Whitney U terhadap Kelainan Tulang yang Menunjukkan Interaksi antar Dosis pada saat Pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari.

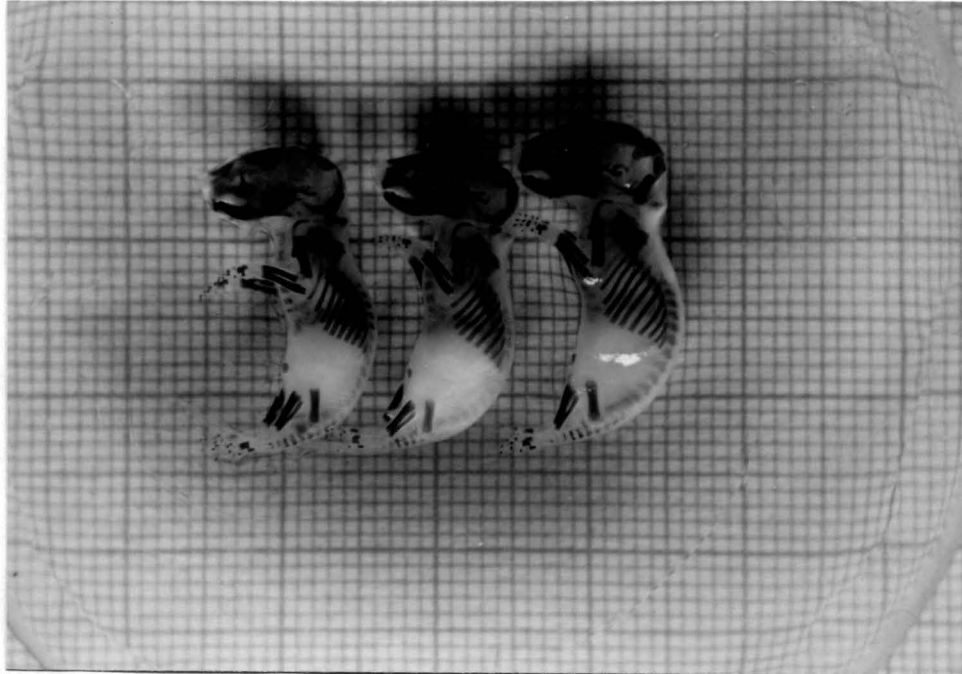
Interaksi Antar Dosis	3 hari		6 hari		10 hari	
	U	p	U	p	U	p
D0-D1	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D0-D2	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D0-D3	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D0-D4	8,0	1,0000	6,0	0,3173	4,0	0,1306
D0-D5	2,0	0,0404*	0,0	0,0114*	0,0	0,0082*
D1-D2	8,0	1,0000	8,0	1,0000	8,0	1,0000
D1-D3	8,0	1,0000	8,0	0,3173	8,0	1,0000
D1-D4	8,0	1,0000	6,0	0,0114*	4,0	0,1306
D1-D5	2,0	0,0404*	0,0	1,0000	0,0	0,0082*
D2-D3	8,0	1,0000	8,0	0,3174	8,0	1,0000
D2-D4	8,0	1,0000	6,0	0,0114*	4,0	0,1306
D2-D5	2,0	0,0404*	0,0	0,3174	0,0	0,0082*
D3-D4	8,0	1,0000	6,0	0,3173	4,0	0,1306
D3-D5	2,0	0,0404*	0,0	0,0114*	0,0	0,0082*
D4-D5	2,0	0,0404*	0,0	0,0152*	2,0	0,0455*

* Menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

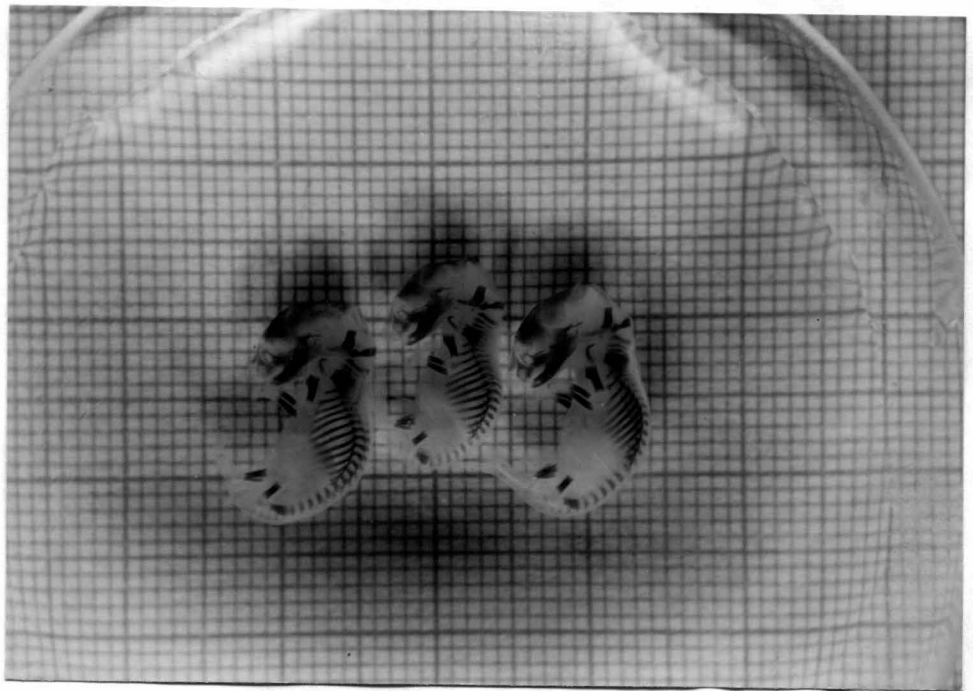
Berdasarkan analisis data dengan menggunakan Uji Kruskal Wallis terhadap kelainan tulang pada janin ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$, karena pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari nilai yang dihasilkan adalah $p < 0,05$ yaitu $p = 0,3690$; $0,0752$ dan $0,0599$. Hal ini membuktikan bahwa

pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari tidak dapat menyebabkan kelainan tulang pada janin mencit.

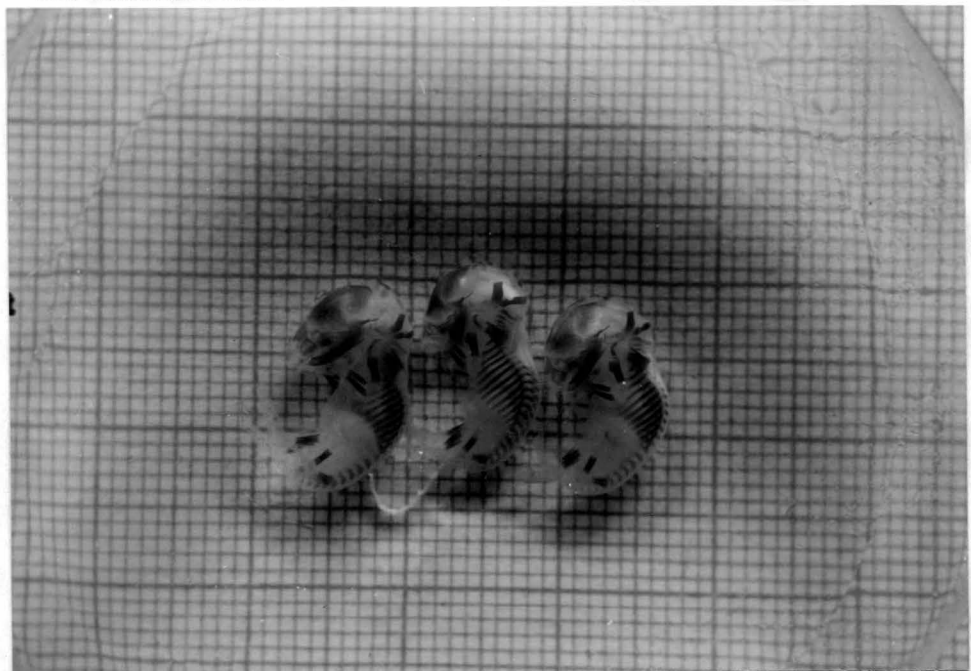
Berdasarkan uji Mann Whitney U pada interaksi antar dosis ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Pada saat pemaparan dengan Pb selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari perbedaan yang bermakna terjadi pada interaksi antara D0-D5, D1-D5, D2-D5, D3-D5, dan D4-D5. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dengan dosis 125 mg/Kg BB, selama 3 hari, 6 hari dan 10 hari dapat menyebabkan kelainan tulang pada janin.



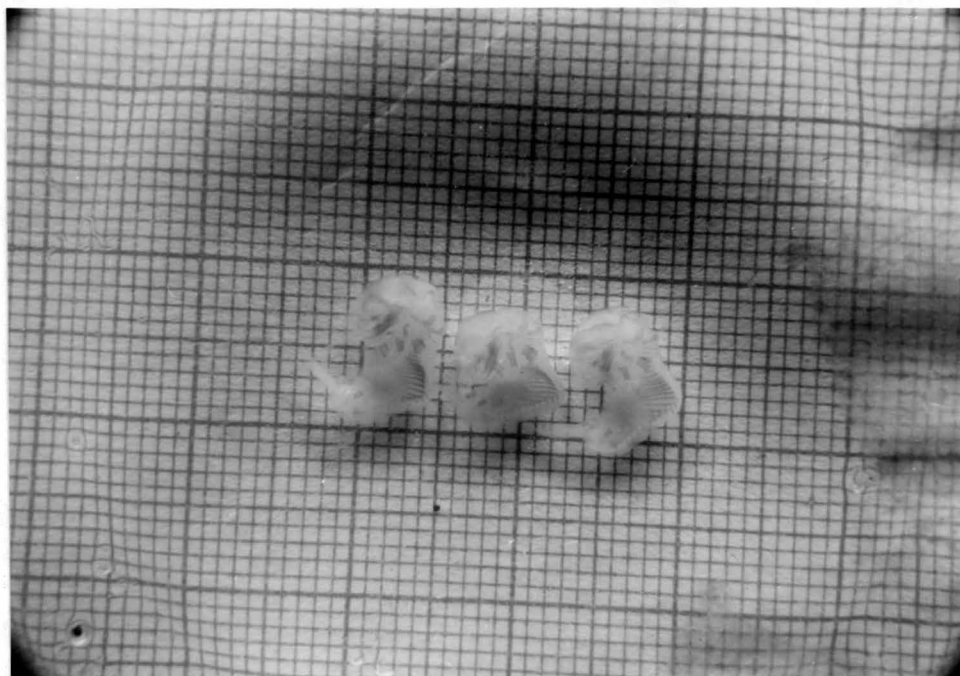
Gambar 5.23. Foto janin mencit normal yang tidak mengalami kelainan pembentukan tulang



Gambar 5.24. Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/Kg BB selama 3 hari.



Gambar 5.25. Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/Kg BB selama 6 hari.



Gambar 5.26. Foto janin mencit yang mengalami kelainan pembentukan tulang pada saat pemaparan dengan dosis Pb 125 mg/Kg BB selama 10 hari.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Jumlah Implantasi

Penghitungan jumlah implantasi dilakukan pada hari kebuntingan ke-18. Penghitungan ini dilakukan untuk mengetahui efek toksik Pb terhadap kemampuannya mencegah implantasi. Terbukti berdasarkan analisis hasil penelitian, pemaparan Pb dengan variasi dosis dan variasi waktu menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap penurunan jumlah implantasi (Tabel 5.1 dan Tabel 5.2).

Menurunnya jumlah implantasi dapat dikatakan sebagai salah satu kegagalan reproduksi, dan hal ini dapat dikaitkan dengan peranan hormon dalam proses kebuntingan. Kelenjar endokrin yang terlibat dalam fase kebuntingan adalah korpus luteum. Korpus luteum memegang peranan yang sangat penting dalam mengelola pertumbuhan makhluk yang hidup dalam kandungan, terlebih pada saat implantasi sampai pertengahan umur kebuntingan. Hormon yang dihasilkan oleh korpus luteum tersebut adalah progesteron. Mencit termasuk salah satu hewan yang kebuntingannya tergantung pada hormon progesteron. Di dalam proses implantasi progesteron mempunyai empat pengaruh nyata pada uterus, yaitu :

1. Menghambat kontraksi myometrium. Ketenangan myometrium ini menjamin penanaman blastosit dalam uterus. Selanjutnya

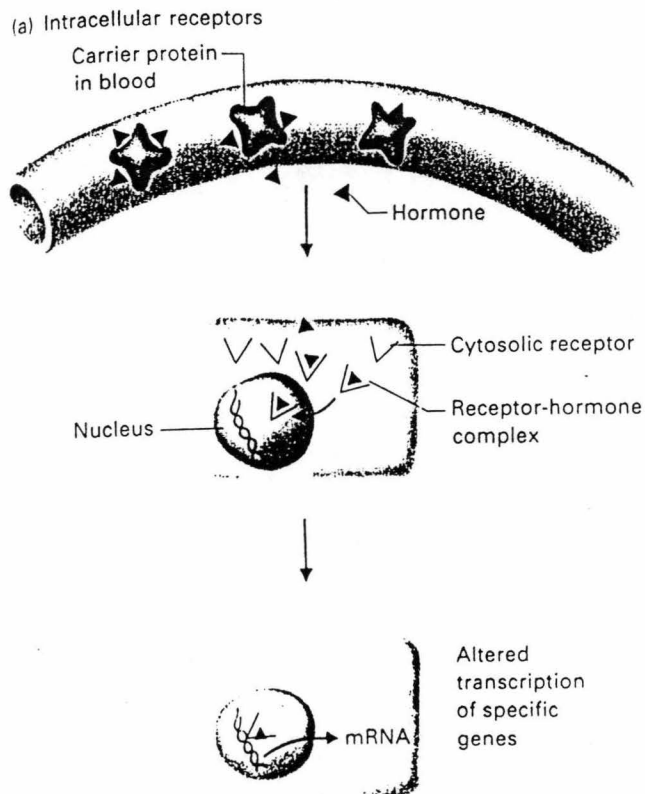
progesteron meniadakan pengaruh oksitosin pada myometrium, sehingga selama progesteron masih dominan dalam peredaran darah, sukar untuk menginduksi terjadinya kelahiran.

2. Progesteron merangsang timbulnya kelenjar susu uterus pada endometrium. Sebelum progesteron dihasilkan oleh korpus luteum, kelenjar pada endometrium ini hanya berupa invaginasi (lekukan kecil) yang dangkal. Oleh pengaruh progesteron invaginasi ini menjadi dalam dan berkelok-kelok sampai membentuk spiral. Sel-sel sekretori yang merupakan lapis permukaan lumen kelenjar susu uterus memperlihatkan aktifitas untuk membentuk granula glikogen yang akan menjadi bahan susu uterus. Susu uterus sangat diperlukan oleh blastosit sebelum implantasi.
3. Implantasi selalu diikuti oleh proses perkembangan sel permukaan endometrium yang menerima blastosit yang disebut deciduoma. Tanpa adanya rangsangan progesteron deciduoma tersebut tidak terbentuk.
4. Peningkatan progesteron yang cepat yang disekresi oleh korpus luteum ovarium mula-mula akan memacu peningkatan reseptor progesteron pada sel otot polos tuba falopii dan kemudian mengaktifkannya, melepaskan suatu efek relaksasi yang memungkinkan masuknya ovum ke dalam uterus (Partodihardjo, 1980 dan Guyton, 1997).

Jika dari hasil analisis penelitian ini, terjadi penurunan jumlah implantasi, hal ini disebabkan karena Pb bersifat menghambat mekanisme kerja dari hormon progesteron. Selain itu, Pb sebagai bahan beracun merusak sel-sel penghasil progesteron dalam hal ini adalah sel korpus luteum, sehingga sintesis dan sekresi hormon progesteron terhambat.

Menurut Wilson (1993) dan Robins (1999) tanda kerusakan sel dapat dilihat dari kerusakan inti. Di dalam setiap sel apapun, terdapat organel nukleus yang merupakan pusat pengaturan sel. Secara singkat, nukleus mengandung sejumlah besar DNA.

Ganong (1995) dan Lodish (1995) melaporkan bahwa hormon progesteron termasuk hormon steroid yang mempunyai reseptor di sitosol dan di nukleus (intranuklear). Di dalam sitosol, hormon progesteron akan bergabung atau berikatan dengan protein intrasel (reseptor sitosolik) dan membentuk reseptor hormon kompleks. Selanjutnya reseptor hormon kompleks ini akan terikat dengan DNA, yang meningkatkan pembentukan m RNA (transkripsi) yang kemudian mengarahkan pembentukan protein baru yang memperantarai kerja hormon progesteron. Jadi efek progesteron terutama ditimbulkan oleh kerja atas DNA untuk memulai sintesis m RNA yang baru (Gambar 6.1).



Gambar 6.1 Reseptor Sitosolik pada hormon progesteron (Lodish, 1995)

Jika fertilisasi dan implantasi terjadi, maka progesteron akan menstimulasi jaringan plasental untuk memproduksi chorionik gonadotropin yaitu hormon peptida yang struktur dan fungsinya menyerupai LH. Chorionic Gonadotropin kemudian mempengaruhi korpus luteum untuk mencegah terjadinya degenerasi dan memelihara produksi progesteron. Demikianlah mekanisme umpan balik dari progesteron untuk memelihara endometrium uterus supaya terdapat suplai darah yang baik sehingga dapat memelihara embrio yang terimplantasi. Jadi jika suatu sel terjejas oleh Pb maka DNA akan mengalami kerusakan sehingga efek progesteron tidak akan terjadi yang akhirnya menyebabkan penurunan

terhadap jumlah implantasi. Selain itu kerusakan yang terjadi pada sel korpus luteum dapat menghambat sintesis dan sekresi progesteron.

Menurut Suhana (1980) tidak semua janin dapat berhasil mengalami implantasi, sebab hanya sebagian saja sel telur yang diovulasikan dapat difertilisasi, selanjutnya di sel telur yang difertilisasi tersebut, hanya sebagian saja yang dapat mengalami implantasi hingga lahir dan tumbuh dewasa.

Menurut Partodihardjo (1980) dan Yatim (1990) implantasi adalah proses terjadinya janin pada endometrium. Proses implantasi adalah proses yang berlangsung secara bertahap. Tahap ini adalah tahap persentuhan janin dengan endometrium, terlepasnya zona pellucida, pergeseran atau pembagian tempat dan yang terakhir adalah pertautan antara trofloblast dengan epitel endometrium. Pertumbuhan janin yang dimulai dengan membelah diri dari satu menjadi dua sel dan seterusnya tidak merubah besarnya seluruh janin, sebab pembelahan dan pertumbuhan ini terjadi dalam zona pellucida, dan sel-sel yang terbentuk makin lama makin kecil. Pembelahan sel berlangsung terus. Pada waktu jumlah sel dalam zona pellucida mencapai jumlah 32, janin ini disebut morula. Cairan mulai terlihat diantara beberapa sel dalam tubuh morula. Ruang ini disebut blastocoele dan janin disebut blastula. Jika blastocoele telah terbentuk maka tubuh janin seolah-olah terbagi dua, ada bagian sel yang tumbuh membentuk sel-sel tipis di bagian permukaan, yang menyelubungi hampir seluruh tubuh blastocoele. Bagian yang

menyelubungi ini disebut trofloblast, sedangkan bagian yang diselubungi disebut inner cell mass (massa sel bagian dalam). Dalam pertumbuhan selanjutnya trofloblast akan tumbuh menjadi plasenta, sedangkan massa sel bagian dalam tumbuh menjadi makhluk baru yang akan lahir.

Tahap dalam prose implantasi tersebut adalah tahap persentuhan janin dengan endometrium, terlepasnya zona pellucida, pergeseran atau pembagian tempat dan yang terakhir adalah pertautan antara trofloblast dengan epitel endometrium. Pada spesies yang mempunyai banyak anak dalam satu masa kebuntingan (polytocous) implantasi tiap-tiap embrio dalam uterus diatur oleh suatu mekanisme tertentu hingga tidak terjadi penimbunan janin pada salah satu tempat, melainkan terjadi penyebaran ke seluruh permukaan endometrium. Mekanisme itu adalah kontraksi myometrium.

Implantasi dikatakan telah terjadi bila janin telah bertautan dengan endometrium sedemikian rupa sehingga tidak akan berubah tempatnya. Perkataan implantasi yang berarti tertanam, tampaknya cocok untuk spesies yang janinnya terkubur dalam kelenjar endometrium. Jenis spesies ini misalnya mencit, janinnya terbenam dalam kript endometrium. Seluruh trofloblast berhubungan sangat erat dengan dinding kelenjar endometrium.

6.2 Jumlah Janin Hidup

Berdasarkan analisis hasil penelitian terhadap jumlah janin hidup, baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dapat menurunkan jumlah janin hidup (Tabel 5.3 dan Tabel 5.4). Penghitungan terhadap jumlah janin hidup dilakukan karena jumlah janin merupakan hasil akhir dari proses reproduksi sehingga terjadinya penurunan jumlah janin hidup mencerminkan adanya gangguan fertilitas pada induk mencit betina.

Menurut Hardjopranto (1995) reproduksi merupakan proses perkembangbiakan suatu makhluk hidup, dimulai sejak bersatunya sel telur dari induk betina dengan sel sperma dari induk jantan sehingga menjadi makhluk baru yang disebut zigot, disusul dengan periode kebuntingan yang ditandai dengan terjadinya pembelahan sel, pembentukan organ (organogenesis) serta diakhiri dengan proses melahirkan anak. Reproduksi sebenarnya merupakan suatu proses yang majemuk. Oleh karena itu, untuk mempelajari proses reproduksi diperlukan pemahaman ilmu yang lain seperti anatomi, fisiologi, embriologi, mikrobiologi, dan sebagainya. Reproduksi merupakan proses yang rumit karena untuk terjadinya reproduksi yang normal dipengaruhi oleh banyak faktor dari dalam maupun dari luar tubuh. Tidak munculnya satu atau beberapa faktor tersebut, dapat menyebabkan terjadinya hambatan proses reproduksi. Makin banyak faktor penghambat, makin

berat gangguan reproduksi yang terjadi pada hewan tersebut. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses reproduksi adalah adanya logam berat Pb.

Menurut Ganong (1995) dan Guyton (1997) penurunan jumlah janin adalah sebagai akibat terganggunya rangkaian proses reproduksi induk. Gangguan tersebut mungkin terjadi pada berbagai tahap dari proses reproduksi yang meliputi gangguan pada perkembangan sel telur yang berakhir dengan proses ovulasi, gangguan transportasi ovum dan fertilisasi serta proses implantasi.

Karena pemaparan Pb dilakukan pada periode kritis (organogenesis) yaitu dimulai pada hari ke-6 masa kebuntingan maka gangguan proses reproduksi itu adalah pada proses implantasi dalam hal ini yaitu pada masa awal kehidupan intra uterin.

Menurut Guyton (1997) setelah mencapai uterus, blastula yang sedang berkembang biasanya tetap tinggal di dalam kavum uteri selama 1 sampai 3 hari sebelum berimplantasi dalam endometrium. Jadi implantasi biasanya terjadi kira-kira pada hari ke-5 sampai ke-7 setelah ovulasi. Sebelum implantasi, blastula mendapat makanan dari sekresi endometrium yang disebut susu uterus. Implantasi merupakan hasil dari kerja sel-sel trofoblast yang berkembang di seluruh permukaan blastula. Sel ini menyekresikan enzim proteolitik yang mencerna dan mencairkan sel-sel endometrium. Cairan dan nutrisi yang kemudian dilepaskan akan ditranspor secara aktif oleh sel-sel yang berdekatan lainnya baik dari

blastula maupun endometrium uterus berproliferasi dengan cepat, membentuk plasenta dan berbagai membran kehamilan.

Telah ditekankan bahwa progesteron yang disekresikan oleh korpus luteum ovarium selama pertengahan setiap siklus seksual mempunyai pengaruh khusus terhadap endometrium untuk mengubah sel-sel stroma endometrium menjadi sel-sel besar yang membengkak, yang mengandung sejumlah besar glikogen, protein, lipid dan bahkan beberapa mineral yang penting untuk perkembangan hasil konseptus. Kemudian, bila hasil konseptus berimplantasi dalam endometrium, progesteron yang terus disekresikan masih akan menyebabkan sel-sel stroma membengkak dan bahkan menyimpan lebih banyak nutrisi. Sel-sel ini sekarang disebut sel-sel desidua, dan massa sel secara keseluruhan disebut desidua.

Sewaktu sel trofoblast menembus desidua, mencerna dan mengimbibisinya, nutrisi disimpan dalam desidua akan digunakan oleh embrio untuk pertumbuhan dan perkembangan. Selama minggu pertama setelah implantasi, ini merupakan satu-satunya cara bagi embrio untuk memperoleh nutrisi, dan embrio akan terus memperoleh sebagian besar nutrisinya dengan cara ini.

Adanya pemaparan Pb menyebabkan gangguan pada sintesis dan sekresi hormon progesteron dan menghambat mekanisme kerja hormon progesteron atau efek progesteron. Hal ini mengakibatkan sel-sel stroma (desidua) tidak menyimpan nutrisi, yang diperlukan untuk pertumbuhan

dan perkembangan janin. Akibatnya pertumbuhan dan perkembangan janin terhambat, sehingga jumlah janin yang hidup mengalami penurunan.

6.3 Jumlah Janin Mati

Berdasarkan analisis hasil penelitian terhadap jumlah janin mati, baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dapat meningkatkan jumlah janin mati (Tabel 5.5 dan Tabel 5.6). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mantovani (1993) dan Lu (1995) yang menyatakan bahwa pada hewan betina pemaparan Pb selain mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan prenatal, juga menyebabkan kematian pada saat lahir. Telah dilaporkan bahwa pada tahun 1984 di Amerika Serikat, 400.000 janin terpapar oleh Pb melalui darah ibu, dan terlihat adanya suatu kenaikan angka lahir mati (Anonymous, 1996). Menurut Setokoesoemo (1986) salah satu ukuran yang seringkali dipergunakan secara luas dalam menilai fungsi reproduksi adalah lahir mati.

Terdapat hubungan antara peningkatan jumlah janin mati akibat pemaparan oleh Pb, karena seiring dengan tingginya dosis dan lamanya pemaparan, ternyata berdasarkan analisis hasil penelitian, terbukti bahwa pemaparan Pb dapat menyebabkan kelainan histopatologis pada sel hati dan sel tubulus ginjal janin menciit yang berupa degenerasi bengkak keruh maupun nekrosis. Terjadinya kerusakan pada sel hati dan sel tubulus

ginjal akan menyebabkan kelainan fungsi pada kedua organ tersebut, yang akhirnya menyebabkan kematian pada janin, sehingga jumlah janin yang mati mengalami peningkatan.

Menurut Ganong (1995), pada usia dewasa sekitar 85 % eritropoietin berasal dari ginjal dan 15 % dari hati. Kedua organ ini mengandung mRNA bagi eritropoietin selama kehidupan fetus dan neonatus, tempat produksi eritropoietin utama terletak di dalam hati dan ia juga merupakan tempat utama produksi eritropoietin sebelum eritropoiesis diambil alih oleh sumsum tulang dan produksi eritropoietin oleh ginjal. Sel mesangial di dalam glomerulus ginjal bertanggung jawab bagi produksi sejumlah eritropoietin yang disekresi oleh ginjal, karena sel ini menghasilkan hormon bila dibiakkan in – vitro. Tetapi banyak mRNA di dalam ginjal ada di dalam tubulus renalis. Di dalam hati, sel kupfer dan hepatosit menghasilkan eritropoietin. Klein et. al (1994) melaporkan bahwa Pb dapat menghambat sintesis hemoglobin dan eritropoietin.

Berdasarkan hal tersebut peningkatan jumlah janin yang mati terjadi karena adanya gangguan terhadap sintesis hemoglobin dan eritropoiesis yang disebabkan oleh Pb. Pengaruh Pb terhadap sintesis hemoglobin dapat dijelaskan sebagai berikut : sel darah merah merupakan suatu bentuk kompleks khelat yang dibentuk oleh logam Fe dengan gugus haeme dan globin, yang pada sintesisnya melibatkan 2 macam enzim yaitu :

- a. enzim ALAD (*Amino Levulinic Acid Dehidrase*) atau asam amino levulinat dehidrase, termasuk golongan enzim sitoplasma. Enzim ini bereaksi aktif pada tahap awal sintesis dan selama sirkulasi sel darah merah berlangsung.
- b. Enzim *ferrokhelatase*, termasuk golongan enzim mitokondria. Enzim ini berfungsi aktif pada akhir proses sintesa, yaitu mengkatalisasi pembentukan khelat haemoglobin.

Sintesa haemoglobin : diawali dengan bereaksinya *succinyl Co-A* dengan *glycin* yang akan membentuk senyawa ALA (δ - *Amino Levulinic Acid*) yang dikatalisasi oleh ALA-sintese. Selanjutnya ALA mengalami dehidrasi menjadi *porphobilinogen* oleh enzim ALAD (ALA dehidrase). Setelah melalui beberapa tahapan reaksi akhirnya terbentuklah *protoporphyrin-IX*, yang selanjutnya diubah menjadi haeme. Dengan bantuan enzim *ferrokhelatase*, selanjutnya haeme akan bereaksi dengan globin dan ion Fe^{2-} membentuk khelat haemoglobin senyawa Pb yang terdapat dalam tubuh akan menghambat enzim ALAD dan ferrokhetase secara langsung atau dengan mekanisme negatif feedback. Penghambatan tersebut disebabkan terbentuknya ikatan yang kuat (ikatan kovalen) antara Pb dengan grup sulfur yang terdapat di dalam asam amino dari enzim tersebut (Pallar, 1994; Darmono, 1995; Murray, 1997; dan Fardiaz, 2000).

Pada janin pembentukan sel darah merah (eritropoiesis) membutuhkan hormon eritropoietin yang diproduksi oleh sel-sel hati. Kerusakan yang terjadi pada sel hati misalnya nekrosis menyebabkan kerusakan pada inti terutama fragmentasi DNA. Adanya fragmentasi DNA menyebabkan proses transkripsi m RNA menjadi terganggu sehingga pembentukan hormon eritropoietin akan terhambat.

6.4 Jumlah Resorpsi

Analisis hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan Pb baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu berpengaruh terhadap jumlah resorpsi. Hal ini membuktikan bahwa paparan Pb dapat meningkatkan jumlah resorpsi (Tabel 5.7 dan Tabel 5.8). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang et. al (1997) di dalam studi perkembangan toksisitas bahan kimia industri ternyata Pb menghambat pertumbuhan embrio tikus. Di dalam penelitian ini yang diamati adalah resorpsi akhir yang merupakan selisih antara jumlah implantasi dengan jumlah janin baik jumlah janin hidup maupun jumlah janin mati. Pengamatan terhadap resorpsi yang dilakukan pada hari kebuntingan ke-18, sehingga embrio yang telah mati sebagian besar telah diserap oleh dinding uterus (Hardjopranto, 1995). Menurut Setokoesoemo (1986) faktor bahan atau zat kimia bila diberikan dengan dosis tinggi atau sangat dini pada perkembangan embrio, dapat menimbulkan kematian embrio yang diikuti oleh resorpsi.

Faktor-faktor yang menentukan kecepatan penyeberangan bahan-bahan melalui membran biologis adalah kelarutan lipid, berat molekul relatif dan daya ikat protein. Pengikatan sebagian dari bahan pada protein plasma induk akan mengurangi konsentrasi molekul yang bebas (tidak terikat) dan dengan demikian kecepatan penyeberangan melalui plasenta juga berkurang. Setelah bahan tersebut dapat menyeberangi plasenta, maka protein plasma dalam embrio dapat pula mengikat sebagian dari bahan tersebut. Bila kapasitas pengikatan (daya ikat) protein plasma embrio lebih rendah daripada kapasitas pengikatan protein plasma induk, maka konsentrasi bahan yang bebas di dalam embrio akan lebih tinggi. Pada umumnya, plasenta tidak dapat berfungsi sebagai barrier terhadap bahan yang mempunyai berat molekul relatif kurang lebih 300 atau lebih rendah, tetapi bahan yang mempunyai BM relatif lebih tinggi akan muncul lebih lambat dalam darah embrio karena kecepatan transfer plasenta lebih rendah (Soetokosoemo, 1986). Jika dalam hasil penelitian ini jumlah resorpsi mengalami peningkatan karena BM senyawa Pb yang digunakan adalah 379,34 sehingga dapat melewati plasenta.

Meningkatnya jumlah resorpsi memberikan petunjuk telah terjadi implantasi, namun mengalami hambatan perkembangan janin (Kusumawati, 1993). Mekanisme atau cara kerja Pb dalam menghambat pertumbuhan janin adalah dengan menghambat proliferasi sel embrio dan sintesis protein. Sintesis protein ini tidak lepas dari peranan gen. Pada masa embrio dan proses pertumbuhan hampir semua sel giat melakukan

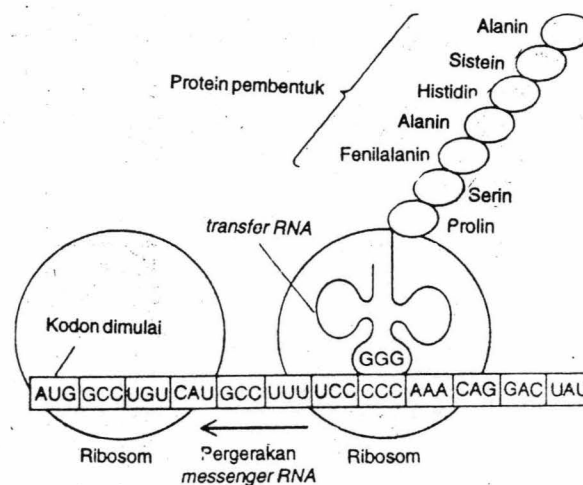
sintesis protein dan pada proses proliferasi selalu didahului proses sintesis protein. Karena protein merupakan nutrisi esensial yang diperlukan untuk pertumbuhan. Nutrisi esensial tersebut adalah histidin, isoleusin, lisin, metionin, sistein, fenilalanin, tirosin, treonin, triptofan dan valin. Hambatan proses proliferasi sel pada stadium embriogenesis berarti hambatan pada proses mitosis sel. Proses mitosis diawali dengan pembelahan inti sel (kariokinesis) dan disusul dengan pembelahan sitoplasma (sitokinesis). Sebelum terjadi pembelahan sel maka bahan genetis mengalami penggandaan terlebih dahulu yang disebut replikasi. Pada proses replikasi terjadi proses penggandaan dari 1 pasang DNA induk menjadi 2 pasang DNA baru yang mempunyai sifat sama dengan DNA induk. Proses replikasi ini memerlukan enzim DNA Polimerase. Gangguan pada proses replikasi dapat disebabkan gangguan aktifitas atau tidak terbentuknya enzim DNA polimerase, karena enzim merupakan protein dan pada pemaparan Pb terjadi gangguan pada sintesis protein.

Menurut Guyton (1997) setiap agen merupakan sebuah asam nukleat yang disebut asam deoksiribo nukleat (DNA) yang secara otomatis mengatur pembentukan asam nukleat lain yaitu asam ribonukleat (RNA) yang menyebar di seluruh sel dan mengatur pembentukan sebuah protein spesifik, dengan kata lain gen mengatur fungsi sel dengan cara menentukan bahan-bahan yang akan disintesis di dalam sel. Terhambatnya sintesis DNA polimerase oleh Pb adalah sebagai berikut : jika suatu sel terjejas oleh Pb maka perubahan pertama adalah pada

membran plasma yang mencerminkan gangguan pengaturan ion dan volume yang disebabkan oleh kehilangan ATP. Hal ini terdiri atas pembengkakan sel. Jika jejas berlanjut perubahan diikuti oleh mitokondria dimana tidak ada aktifitas fosforilasi sehingga tidak ada pembentukan ATP. Selanjutnya terjadi pelebaran retikulum endoplasma yang diikuti oleh pelepasan ribosom dan pecahnya polisom yang disertai dengan penurunan sintesis protein, termasuk di sini adalah sintesis DNA polymerase.

Di dalam hasil penelitian ini resorpsi akhir yang terbentuk berupa gumpalan yang menandakan bahwa organ-organnya tidak berkembang secara sempurna. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Klein et. al (1994) yang melaporkan bahwa konsentrasi Pb yang sebesar 100 µg/L dapat menyebabkan fetal hypothyrophy, yaitu berkurangnya ukuran atau fungsi organ karena berkurangnya ukuran masing-masing sel. Hal ini disebabkan oleh adanya gangguan pada sintesis protein padahal protein sangat diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan organ. Adanya gangguan pada sintesis protein dapat menghambat pembentukan organ. Perlu diketahui bahwa rangkaian sintesis protein memerlukan sintesis enzim yang dimulai dari proses transkripsi yaitu pembentukan mRNA oleh DNA yang dikatalisis oleh enzim RNA polymerase. Di dalam inti yang kemudian ditranslasikan ke dalam sitoplasma atau ribosom. Sementara itu t RNA membawa dan memasangkan asam amino yang sesuai dengan rangkaian kodon yang dibawa oleh m RNA ke dalam

ribosom. Jadi transfer RNA bertindak sebagai suatu pengangkut (carrier) untuk mengangkut jenis asam amino spesifiknya ke ribosom, dimana molekul protein dibentuk. Dalam ribosom setiap jenis transfer RNA akan mengenali suatu kodon tertentu dari messenger RNA dan oleh karenanya akan menghantarkan asam amino ke tempat yang sesuai di dalam rantai molekul protein yang baru dibentuk. Karena fungsi t RNA adalah untuk menyebabkan pelekatan dari asam amino khusus yang membentuk suatu rantai protein, sangat penting bahwa setiap transfer RNA juga memiliki spesifitas terhadap kodon tertentu dalam m RNA. Kode spesifik dalam transfer RNA yang memungkinkan mengenali kodon tertentu merupakan suatu triplet basa nukleotida yang disebut antikodon (Gambar 6.2).



Gambar 6.2 Sebuah rantai messenger RNA bergerak melalui dua ribosom. Sewaktu setiap "kodon" melewatinya, sebuah asam amino ditambahkan pada rantai protein yang sedang dibentuk, yang ditunjukkan pada ribosom di sebelah kanan. Molekul transfer RNA menentukan asam amino yang akan ditambahkan pada setiap tahap pembentukan protein (Guyton, 1997)

Adanya pemaparan Pb dapat menurunkan binding atau pengikatan t RNA ke dalam ribosom dengan kata lain menurunkan fungsi transfer RNA untuk mengenali suatu kodon tertentu dari mRNA di dalam ribosom. Akibatnya sintesis protein terganggu dan memicu terbentuknya fetal hypothyroidism (gangguan pembentukan organ).

6.5 Berat Badan Janin

Berdasarkan analisis hasil penelitian terhadap berat badan janin baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini membuktikan bahwa pemaparan Pb dapat menurunkan berat badan janin (Tabel 5.9 dan Tabel 5.10). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rasile et. al (1995) bahwa pemberian Pb asetat pada tikus dengan kadar 0,5 % dalam air minum, ternyata menunjukkan pengurangan berat badan. Pb juga mempengaruhi pertumbuhan janin, hal ini terlihat adanya berat badan lahir rendah (Anonymous, 1996). Menurut Setokoesoemo (1986) berat badan waktu lahir merupakan salah satu ukuran yang seringkali dipergunakan secara luas dalam menilai hasil fungsi reproduksi serta merupakan faktor yang menarik untuk diteliti karena sering terdapat dalam catatan kelahiran bayi dan seringkali dikenal sebagai hal yang mudah dipengaruhi oleh faktor-faktor ekstrinsik. Salah satu faktor ekstrinsik yang dapat mempengaruhi berat badan janin adalah pemaparan Pb. Melalui penimbangan janin dapat dideteksi pertumbuhan janin, umumnya bila ada

efek terhadap pertumbuhan dalam uterus maka berat badan janin yang berasal dari induk yang diberi perlakuan akan berbeda bila dibandingkan dengan berat badan kontrol. Seiring dengan tingginya dosis dan lamanya pemaparan, berat badan janin mengalami penurunan.

Menurut Underwood (1999) faktor yang berpengaruh pada pertumbuhan dan ukuran fetus adalah faktor genetik, endokrin dan nutrisi. Mekanisme atau pengontrolan pertumbuhan dalam kehidupan fetus sangat berbeda dengan pertumbuhan postnatal. Fetus merupakan suatu unit tersendiri dalam konteks pertumbuhan, karena hormon peptid dan tiroid ibu melewati plasenta dalam jumlah yang fisiologis cukup banyak, walaupun hormon seks steroid dan steroid yang lain melewati plasenta, yang umumnya dalam bentuk tidak aktif.

Jadi, fetus memproduksi hormon pertumbuhannya sendiri, tetapi hormon tersebut tidak digunakan untuk mendorong pertumbuhan karena sangat sedikitnya kandungan reseptor GH pada fetus. Pertumbuhan fetus tidak memerlukan pituitari, hipotalamus atau bahkan kepala, sehingga fetus yang anencephalic sering mencapai berat normal sesuai usia kehamilan.

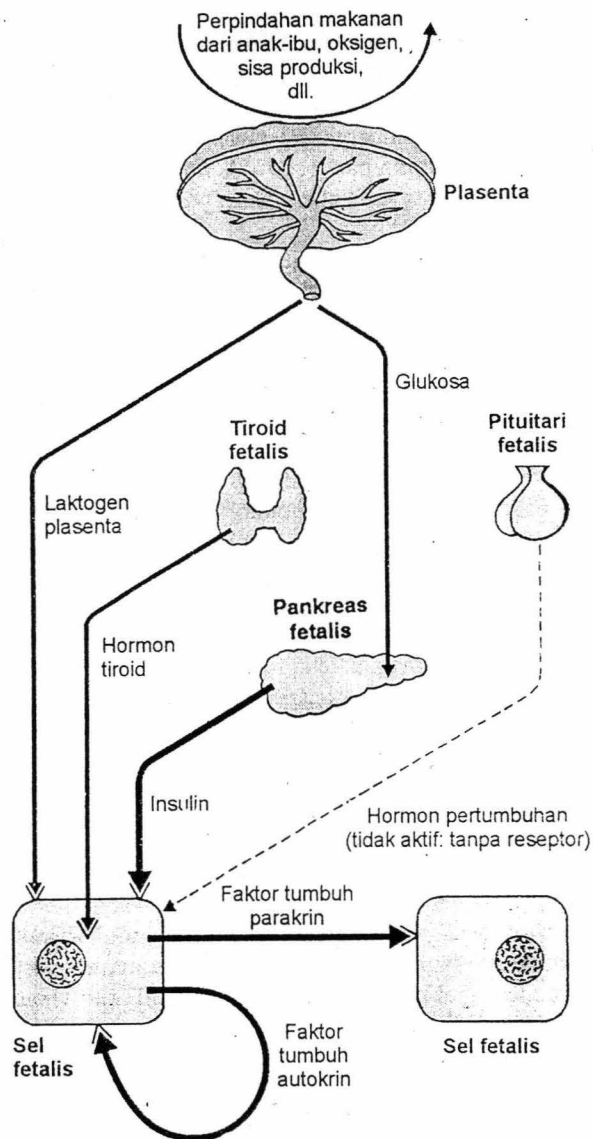
Walaupun pertumbuhan fetus tidak diperantarai oleh GH, tetapi somatomedins (terutama IGF – 2 pada fetus) tetap penting, walaupun ini tidak di bawah kontrol GH. Faktor tumbuh lain yang ikut berperan adalah faktor tumbuh epidermis (epidermal growth factor = EGF), faktor tumbuh transformasi β , faktor tumbuh asal trombosit (platelet – derived growth

factor = PDGF), (transforming growth factor β = TGF β) dan faktor tumbuh saraf (nerve growth factor = NGF).

Hormon pengatur pertumbuhan fetus yang terpenting adalah insulin, seperti halnya pada orang dewasa, konsentrasi insulin dalam darah fetus diatur oleh konsentrasi glukosa. Insulin dan glukosa diperlukan untuk fungsi metabolisme normal fetus dan plasenta.

Insulin juga secara langsung merangsang produksi faktor tumbuh (terutama somatomedin, IGF - 2) dalam sel, dan ini bekerja pada sel pembuat IGF² dalam sel, dan sel di dekatnya, oleh mekanisme autokrin dan parakrin secara berurutan untuk merangsang pertumbuhan. Pertumbuhan sebagian besar dirangsang oleh polipeptida faktor pertumbuhan.

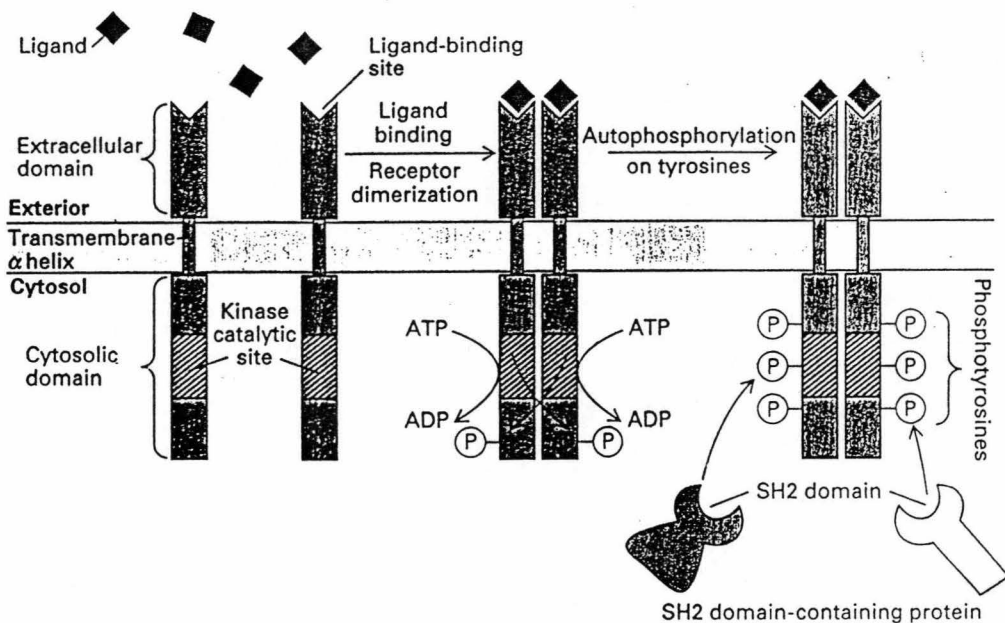
Berkurangnya pertumbuhan yang ditandai oleh penurunan berat badan yang dipengaruhi oleh faktor endokrin adalah berkurangnya reseptor insulin fetalis yang menyebabkan kurang sensitifnya terhadap pengaruh insulin yang beredar dalam sirkulasi, yang berakibat terjadinya pertumbuhan yang terhambat (Gambar 6.3).



Gambar 6.3 Pengaturan Pertumbuhan Fetus (Underwood, 1999)

Rangkaian peristiwa molekuler yang diinduksi oleh faktor pertumbuhan (growth factors) dalam hal ini insulin dapat dijelaskan melalui mekanisme kerja insulin dalam menginduksi terjadinya pembelahan sel. Mekanisme ini dimulai dengan pengikatan faktor pertumbuhan yaitu Insulin Like Growth Factors (IGF) kepada reseptor. Reseptor untuk IGF ini adalah Reseptor Tirosin Kinase (RTK) yang terdapat di plasma membran.

Ikatan antara IGF (ligand) dengan RTK akan menyebabkan DNA menghasilkan bahan yang dinamakan transduser yaitu terjadi peningkatan cAMP, IP₃ (Inositol Trifosfat), ion Ca⁺⁺ dan 3 – fosfat diasil gliserol. Transduser lalu mengaktifkan RTK yang tadinya monomer menjadi dimer, lalu diikat oleh asam-asam phosphat, inilah yang dinamakan otofosforilasi sehingga menjadi aktif. Aktifnya RTK ini menyebabkan suatu protein yang tadinya in-aktif karena fosforilasi maka menjadi aktif. Inilah yang dinamakan SH₂ Domain. Ini tidak lain adalah src Homology – 2. src adalah suatu gen yang menghasilkan protein yang dinamakan Src. Src ini adalah produk dari src yaitu suatu protein yang memegang peran dalam pembelahan sel (Gambar 6.4). Di samping itu RTK yang aktif akan mengaktifkan Transcription Factor (TF). TF lalu mengaktifkan RNA polimerase pada DNA, sehingga DNA menghasilkan mRNA. Dalam hal ini jika pada suatu sel ada IGF maka akan dihasilkan protein yang disebut siklin. Siklin inilah yang mengatur sehingga sel itu bisa bermitosis. Siklin ini mempunyai aktifitas seperti layaknya dalam pembelahan sel, misalnya melarutkan dinding inti, menggerakkan sentriol, membentuk kromosom, dan sebagainya. Jadi siklin merupakan serangkaian protein regulator yang mengontrol siklus sel yang konsentrasinya naik dan turun selama siklus sel serta membentuk suatu kompleks dengan kinase protein yaitu cdc 2 kompleks siklin kinase G₁ dan G₂ kemudian memfosforilasi sejumlah protein substrat yang terlibat dalam inisiasi replikasi DNA; pembentukan kumparan mitotik dan peristiwa-peristiwa lain dalam siklus sel.



Gambar 6.4 Mekanisme kerja insulin melalui aktivasi Reseptor Tirosin Kinase (Lodish, 1995)

Hal lain yang juga sangat mempengaruhi pertumbuhan sel dan fungsi sel adalah matriks ekstraseluler, yang terdiri dari protein struktural fibrosa dan suatu matriks interstisial yang tersusun dari glikoprotein adhesif yang tertanam dalam suatu sel proteoglikan. Proteoglikan terdiri dari protein yang terdiri dari glikosaminoglikan yang terikat pada protein. Protein yang terikat secara kovalen pada glikosaminoglikan disebut protein inti, yang berfungsi untuk memodulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Proteoglikan dapat berikatan dengan faktor pertumbuhan misalnya FGF, karena hormon ini dapat menginduksi proliferasi atau perkembangbiakan sel. Interaksi antara matriks ekstraseluler dan faktor pertumbuhan dalam mempengaruhi bentuk sel, motilitas dan pertumbuhan

sel dapat dijelaskan sebagai berikut : pengikatan faktor pertumbuhan pada matriks ekstraseluler diperantarai oleh pengenalan suatu urutan tiga asam amino spesifik RGD (arginin, glisin, asam aspartat) di matriks ekstraseluler. Pengikatan pada sel terjadi melalui integrin, yaitu reseptor sel yang menembus membran dan berinteraksi dengan sitoskeleton lalu bekerja pada inti dan sitoplasma untuk menyebabkan respon sel, misalnya untuk proliferasi.

Reseptor merupakan protein yang terdiri dari rangkaian asam amino. Di antara rangkaian asam amino yang menyusun reseptor ada yang mengandung gugus SH. Jika suatu sel terjejas oleh logam berat Pb, Pb akan berikatan dengan gugus SH asam amino. Hal ini akan menyebabkan kerusakan sel dan menghalangi pengikatan hormon IGF dengan reseptor sehingga pembentukan siklin yang menginduksi pembelahan sel menjadi terhambat. Tingginya konsentrasi reseptor mengakibatkan sel rentan terhadap pengaruh hormon dan faktor pertumbuhan. Sebaliknya tidak adanya reseptor menyebabkan sel tidak sensitif terhadap pengaruh hormon ataupun faktor pertumbuhan (Lodish, 1995; Keeley, 1997; Robbins, 1999; dan Underwood, 1999).

6.6 Panjang Janin

Berdasarkan analisis hasil penelitian terhadap panjang janin ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pemaparan Pb baik ditinjau dari variasi dosis, variasi waktu dan

interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu dapat menurunkan panjang janin (Tabel 5.11, Tabel 5.12, Tabel 5.13 dan Tabel 5.14). Pengukuran panjang janin ini lebih dihubungkan untuk tujuan pengamatan cacat makroskopis misalnya pada bahan-bahan yang menyebabkan pertumbuhan kerdil. Jadi gangguan pertumbuhan dapat diidentifikasi menurut panjang dan berat janin, karena gangguan pada masa pertumbuhan akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan panjang janin.

Pertumbuhan adalah suatu proses struktural dan biologis yang berkaitan dengan bertambahnya berat dan panjang badan dalam waktu tertentu. Pertumbuhan mempunyai dua aspek, yaitu bertambahnya massa atau berat per unit waktu dan perubahan bentuk serta konformasi tubuh. Pertumbuhan tulang tinggi sekali pada waktu prenatal, yang nantinya memegang peranan penting pada waktu postnatal. Tulang dibentuk dalam mesenkim, terjadinya melalui satu dari dua cara. Mesenkim dapat membentuk model tulang yang berupa tulang rawan hialin yang kemudian diubah menjadi tulang, ini disebut ossifikasi intrakartilaginosa (endokondrial). Kemungkinan lain adalah mesenkim langsung diubah menjadi tulang dan proses ini dikenal sebagai ossifikasi intramembranosa.

Pertumbuhan yang normal ditandai dengan bertambahnya berat badan dan panjang janin. Penurunan panjang janin yang disebabkan oleh pemaparan Pb dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu faktor endokrin dan pertumbuhan tulang. Faktor endokrin dalam hal ini adalah Insulin Like

Growth Factor (IGF) yang berfungsi sebagai ligand membentuk suatu kompleks dengan suatu reseptor yang terdapat di plasma membran. Kompleks ligand dengan reseptor ini akan menyebabkan DNA menghasilkan transduser yang ditandai dengan adanya peningkatan ion Ca^{++} , c AMP, IP_3 dan 3 - fosfat diasilgliserol. Selanjutnya terjadi pengaktifan transcription factor yang menyebabkan DNA mengadakan transkripsi membentuk mRNA polymerase, selanjutnya akan dihasilkan siklin yang akan menginduksi terjadinya pembelahan sel. Jika suatu sel terjejas oleh Pb maka Pb akan membentuk ikatan kovalen dengan gugus SH protein membran sel; sehingga IGF tidak bisa berikatan dengan protein reseptor yang terdapat pada membran sel dan akhirnya pembelahan sel menjadi terhambat (Lodish, 1995; Robbins, 1999 dan Underwood, 1999).

Menurut Ganong (1995) tulang tengkorak dibentuk oleh osifikasi membrana (pembentukan tulang intra membranosa). Tulang panjang mula-mula dalam bentuk kartilago dan kemudian diubah ke dalam tulang dengan osifikasi yang dimulai di dalam corpus dan di dalam ujung tulang (pembentukan tulang endokondral). Osteoblast membentuk jaringan serabut kolagen kemudian matriks ini berkalsifikasi. Dalam waktu ini kartilago di dalam pusat corpus diinvasi oleh osteoklast yang mengerosinya.

Selama pertumbuhan, area khusus pada ujung tiap tulang panjang (epiphysis) dipisahkan dari corpus tulang oleh lempengan kartilago yang aktif berproliferasi, yaitu linea epiphysis. Pertumbuhan dalam panjang

tulang terjadi karena lempengan ini meletakkan tulang baru pada ujung corpus ini. Lebar linea epiphysialis sebanding dengan kecepatan pertumbuhan. Lebarnya dipengaruhi oleh jumlah hormon, tetapi paling jelas oleh hormon pertumbuhan hipofisis dan IGF - 1. Pertumbuhan tulang linear dapat terjadi selama epiphysis dipisahkan dari corpus tulang, tetapi pertumbuhan demikian terhenti setelah epiphysis bersatu dengan corpus. Jadi pada tulang pipa terbagi atas tiga bagian, yaitu bagian tengahnya disebut diafise dan kedua ujungnya disebut epifise. Diantara epifise dan diafise terdapat cakra epifise yang terdiri dari tulang rawan dan mengandung osteoblast yang senantiasa berproliferasi. Adanya logam berat Pb menyebabkan sel-sel yang terdapat di dalam cakra epifise menjadi terhambat sehingga tulang yang terbentuk menjadi pendek.

6.7.1 Degenerasi Bengkak Keruh Yang Terjadi Pada Sel Hati Janin Mencit

Berdasarkan hasil analisis penelitian menunjukkan, bahwa pemaparan Pb terbukti berpengaruh terhadap sel-sel hati, yang ditandai dengan adanya perubahan histopologi yang berupa degenerasi bengkak keruh, baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu (Tabel 5.15 dan Tabel 5.16).

Perubahan pada sel hati awalnya berupa proses degenerasi bengkak keruh, yaitu perubahan morfologi akibat jejas non lethal yang sifatnya reversibel. Di dalam hasil penelitian ini degenerasi bengkak keruh yang terjadi menunjukkan tanda-tanda ukuran sel membesar atau

membengkak, sitoplasma tampak keruh, dan inti membesar. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Wilson (1993) dan Thomas (1988) bahwa degenerasi bengkak keruh adalah akibat gangguan sistem metabolik yang mempertahankan lingkungan ion dari sel yang disebut pompa ion. Bila mekanisme regulasi ini gagal, maka natrium dan air mengalir ke dalam sel dan kalium meninggalkan sel akibatnya sitoplasma tampak terisi oleh granula protein yang halus (bengkak keruh). Timbulnya kekeruhan disebabkan oleh peningkatan penyebaran cahaya (efek Tyndall).

Keadaan ini terjadi karena setiap bahan kimia termasuk Pb dapat mempengaruhi sel dalam hal ini keseimbangan cairan maupun permeabilitas membran. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Underwood (1999) bahwa degenerasi bengkak keruh umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti keracunan bahan kimia.

Menurut Wilson (1993) dan Underwood (1999), sel yang mengalami cedera atau kerusakan, seringkali tidak mati, tetapi menunjukkan perubahan morfologis yang mudah dapat dikenali. Secara potensial perubahan sublethal ini adalah reversibel yaitu jika jejas yang menimbulkan cedera dihentikan, maka sel kembali kepada keadaan sehat seperti sebelumnya. Sebaliknya, perubahan ini dapat merupakan suatu langkah ke arah kematian sel jika pengaruh yang berbahaya ini tidak dapat diatasi. Perubahan sublethal pada sel disebut degenerasi atau

perubahan degeneratif. Salah satu perubahan seluler sublethal yang umum terjadi adalah degenerasi bengkak keruh atau perubahan hidropik.

Constantinides (1994) dan Robbins (1994 dan 1999) menyatakan bahwa degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada sel hati dapat dijelaskan sebagai berikut : bahwa komposisi ion-ion intra seluler sel mamalia sangat berbeda dengan komposisi ion-ion di cairan ekstra seluler. Untuk mempertahankan perbedaan komposisi ini diperlukan suatu keseimbangan atau balans yang tepat dari difusi atau transport aktif ion-ion tersebut. Seperti sudah diketahui bahwa transport aktif merupakan keadaan dengan ketergantungan terhadap energi (energi dependence) dan erat hubungannya dengan enzim membran, misalnya ATP-ase. Keseimbangan intraseluler ini dijaga oleh membran plasma.

Pengaruh volume intraseluler pada sel mamalia sangat tergantung pada pengaturan air sel. Pengaturan ini terutama dikerjakan dengan pengaturan komposisi elektrolit. Pergerakan air hanya pasif saja. Transport aktif untuk air tidak terjadi pada sel mamalia. Faktor-faktor yang mempengaruhi tenangnya distribusi air antara sel dengan lingkungan sel antara lain perbedaan tekanan hidrostatik, perbedaan khemis air, potensial elektrik, temperatur dan potensial khemis. Karena aktifitas air di dalam sel dan tekanan hidrostatik air di dalam sel, sama dengan keadaan di cairan ekstraseluler, maka air di dalam keadaan normal selalu dalam keadaan equilibrium. Karena itu jelas bahwa yang memegang peranan penting dalam pengaturan ini adalah transport sodium-potasium melalui

“active transport” disebut juga sebagai “sodium–potasium pump” atau pompa ion.

Pompa ion yang terdapat di membran sel bertanggung jawab untuk mempertahankan kadar kalium yang relatif tinggi dan kadar natrium yang relatif rendah di dalam sel. Adanya paparan Pb menyebabkan terjadinya ikatan kovalen antara Pb dengan gugus SH protein pada membran sel. Ikatan kovalen tersebut pada akhirnya menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran. Jika permeabilitas membran berubah maka pompa ion dalam hal ini sodium-potasium pump akan mengalami gangguan. Sel akan menghisap cairan untuk menyamakan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel. Dapat pula dikatakan bahwa natrium dan air masuk ke dalam sel dan kalium meninggalkan sel. Hal ini menyebabkan volume sel meningkat dan juga akan meningkatkan tekanan hidrostatis (disebut pembengkakan isoosmotik). Selain itu hal ini akan mengganggu pembentukan ATP atau energi yang diperlukan untuk transpor aktif tersebut. Akibatnya adalah perubahan morfologis disebut pembengkakan sel atau bengkak keruh.

Perubahan degeneratif semacam ini cenderung melibatkan sitoplasma sel, sedangkan nukleus mempertahankan integritas mereka selama sel tidak mengalami cedera lethal (Wilson, 1993).

Menurut Thomas (1988) dan Robbins (1994) menyatakan bahwa deskriptif dari degenerasi bengkak keruh yang mencerminkan keadaan sebuah organ yang sel-selnya menderita perubahan secara kasar

menunjukkan keadaan seperti setengah matang, dan sel-sel yang terkena secara mikroskopis terlihat sitoplasma terisi oleh granula protein yang halus (bengkak keruh). Timbulnya kekeruhan disebabkan oleh peningkatan penyebaran cahaya (efek Tyndall). Perubahan ini juga mencerminkan kenyataan bahwa sewaktu air tertimbun di dalam sitoplasma, organel sitoplasma juga menyerapnya, sehingga menyebabkan pembengkakan mitokondria, retikulum endoplasma, dan inti. Pembengkakan mitokondria terjadi bila mitokondria bertambah volumenya karena air masuk ke dalam mitokondria. Bila dilihat dengan mikroskop sinar, pembengkakan mitokondria (peningkatan volumenya) memperlihatkan suatu gambaran granuler di sitoplasma. Disebut juga dengan degenerasi hidropik atau "cloudy swelling". Terdapat dua jenis pembengkakan mitokondria, salah satu diantaranya adalah pembengkakan amplitudo tinggi yang penyebabnya adalah bahan kimia Pb. Kekurangan ATP berkepanjangan di dalam mitokondria dapat mengakibatkan pecahnya atau kacaunya membran sebelah dalam dan terjadi pembengkakan "high amplitudo swelling". Pembengkakan jenis "high amplitudo swelling" ini berhubungan dengan adanya koper longgar suatu oksidasi fosforilasi pada fase awal dan bila berkepanjangan pembengkakan ini, fosforilasi akan hilang sama sekali. Jadi jelas bahwa untuk sintesis ATP diperlukan membran mitokondria yang utuh. Meskipun mitokondria mengalami gangguan bentuk sangat berat, tetapi masih mempunyai kemampuan berespirasi dan fosforilasi maupun regenerasi kompartemen

sebelah dalam, sehingga kembali normal kembali fungsi dan bentuknya. Asalkan lingkungan mikroseluler dikembalikan pada keadaan normal. Disamping perubahan tersebut di atas, mitokondria semuanya membengkak, kompartemen sebelah dalam ekspansif, disertai dengan pecahnya membran sebelah luar. Di dalam matriks mitokondria mulai tampak agregasi protein yang masih kecil. Jatuhnya konsentrasi ATP sel, akan merangsang aktifitas fosfofruktokinase. Ini menimbulkan peningkatan glikolisis anaerobik. Aselerasi glikolisis menyebabkan penumpukan asam laktat, yang bersama-sama peningkatan fosfat inorganik menurunkan pH intrasel. Karena sirkulasi telah terhenti, metabolit seperti laktat dan ion H juga menumpuk di lingkungan ekstraseluler, menekan pH ekstraseluler. Turunnya pH mungkin dapat berpengaruh sebagai proteksi karena mempunyai efek "stabilisasi" terhadap membran sel.

Inti dapat pula menunjukkan pembengkakan (pembengkakan inti degeneratif). Namun ia harus dibedakan dari pembengkakan inti fungsional atau fisiologik, yang sering disertai oleh pembesaran nukleolus dan mencerminkan peningkatan aktifitas metabolik. Selain pembengkakan inti perubahan lain yang terjadi adalah penggumpalan kromatin inti yang berlangsung sangat cepat, tetapi sangat reversibel. Penggumpalan kromatin ini berhubungan dengan menurunnya sintesa RNA inti. Gangguan sintesa RNA inti tidak mempunyai akibat yang segera, karena bila sirkulasi tidak segera diperbaiki, selnya sudah mati dan mengalami

nekrosis (sebelum terlihat adanya akibat dari gangguan sintesa RNA tersebut). Penggumpalan kromatin di dalam inti ini disebut piknosis.

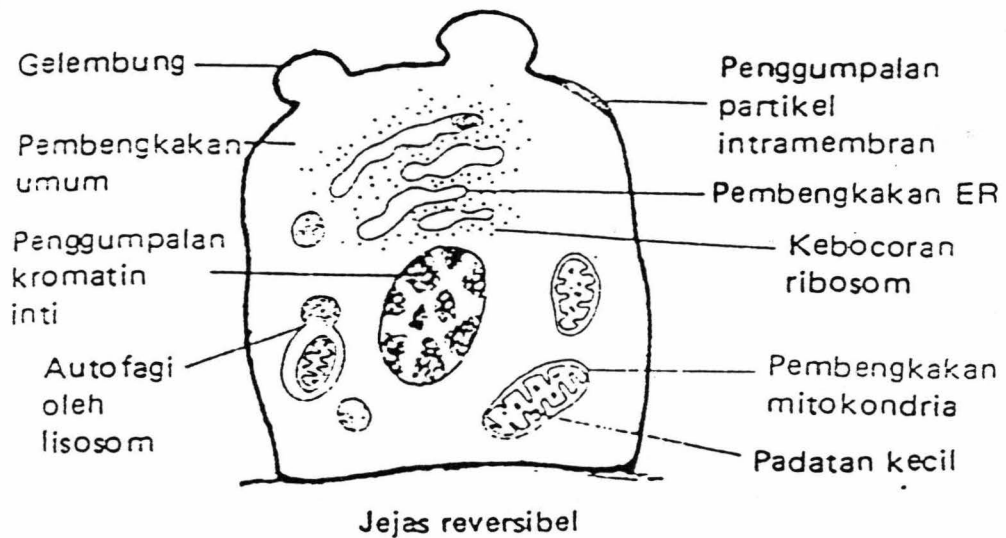
Pelebaran retikulum endoplasma terjadi segera setelah jejas, mungkin karena perubahan gerakan ion dan air. Terlihat polisom masih melekat pada retikulum endoplasmik kasar, tetapi pelepasan polisom menjadi ribosom mulai tampak. Segera setelah itu, akan tampak gejala lepasnya polisom dari membran endoplasmik dan pecahnya polisom menjadi ribosom. Fragmentasi polisom ini diikuti dengan gangguan sintesis protein (pengurangan sintesis protein). Gambaran dan fungsi sintesis protein ini dapat kembali normal bila ada restorasi oksigen dan sintesis ATP. Terlihat adanya polisom dan ribosom tunggal yang terikat pada retikulum endoplasmik maupun yang bebas, tetapi lebih banyak yang bebas. Organel lisosom juga tampak membengkak dan jernih meskipun pecahnya membran lisosom belum terjadi atau tampak bocornya asam hidrolase. Terlihat pada perubahan degenerasi bengkak keruh adalah autofagi oleh lisosom. Autofagi adalah fagositosis oleh lisosom terhadap organel intrasel yang sedang rusak, termasuk mitokondria dan retikulum endoplasma. Autosom terutama terlihat pada sel yang mengalami antrofi. Lisosom dengan debris yang belum dicerna (vakuol autofagik) dapat bertahan dalam sel sebagai jisim residu atau mungkin dikeluarkan dari sel (Gambar 6.5).

Perubahan pertama yang terjadi pada membran plasma akibat jejas sel adalah adanya gangguan pengaturan ion dan volume yang

disebabkan oleh kehilangan ATP. Hal ini terdiri atas pembengkakan sel, pembentukan gelembung sitoplasma penumpukan distorsi jonjot mikro, pembentukan gambaran mielin dan kehilangan pelekatan intersel. Perubahan ini dapat terjadi cepat dan reversibel. Gelembung sitoplasma di permukaan sel mempunyai viskositas rendah dan gelembung dapat hilang timbul. Bila keadaan memburuk dan sel lebih mendekati "point of no return", hilang dan timbulnya gelembung permukaan sel ini lebih meningkat. Mikrofil di permukaan sel juga mengalami perubahan akut.

Jika dapat influks air yang hebat berlanjut tertimbun di dalam sel, sebagian organella sitoplasma seperti retikulum endoplasma dapat diubah menjadi kantong-kantong yang berisi air. Pada pemeriksaan mikroskopis terlihat sitoplasma bervakuola yang disebut perubahan hidropik atau kadang-kadang perubahan vakuolar. Vakuola kecil jernih yang tampak dalam sitoplasma diduga merupakan retikulum endoplasma yang melebar dan menonjol keluar atau segmen pecahannya. Organ yang terkena secara kasar tampak perubahan yang identik dengan pembengkakan sel.

Secara mikroskopik perubahan pembengkakan sel sangat tidak kentara dan secara sederhana menyangkut pembesaran sel dan sedikit perubahan pada susunannya. Jika pengaruh membahayakan yang menimbulkan pembengkakan sel dapat dihilangkan, maka setelah beberapa lama, sel-sel biasanya mulai mengeluarkan natrium dan bersama-sama dengan air, sehingga volumenya kembali normal. Perubahan ini merupakan gangguan ringan dari keadaan normal.



Gambar 6.5 Bagan yang menunjukkan perubahan ultrastruktur pada jejas reversibel (Robbins, 1994)

6.7.2 Nekrosis yang Terjadi pada Sel Hati Janin Mencit

Analisis hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan Pb berpengaruh terhadap sel-sel hati janin mencit yang berupa nekrosis. Pengamatan secara mikroskopik terhadap nekrosis ditandai dengan adanya perbedaan yang bermakna baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu (Tabel 5.17 dan Tabel 5.18). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Forri (1997) tentang pengaruh Pb terhadap struktur histologis jaringan hati mencit dengan pemberian larutan Pb dengan konsentrasi 1,5 ppm sebanyak 0,5 cc selama 10 hari ternyata dapat menyebabkan terjadinya nekrosis sel hati. Memurry (1995) melaporkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian Pb dalam air

minum terhadap mencit dengan konsentrasi 0 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, setelah 7 minggu menyebabkan kerusakan sel-sel hati yang berupa nekrosis. Kerusakan lebih nyata pada konsentrasi Pb dan lama waktu pemberian adalah sebagai hepatotoksikan (Lu, 1995).

Hal yang sama juga dikemukakan oleh Ressay (1984) bahwa penyebab nekrosis hati dapat dibagi menjadi 2 macam yaitu toksopatik dan trofopatik. Kerusakan toksopatik disebabkan oleh pengaruh langsung dari bahan yang bersifat toksin, misalnya zat-zat kimiawi atau toksin kuman. Kerusakan trofopatik disebabkan oleh kekurangan langsung atau tidak langsung faktor-faktor yang penting untuk kehidupan sel, misalnya oksigen dan zat-zat makanan. Jadi kerusakan hati oleh Pb merupakan nekrosis toksopatik. Pada umumnya nekrosis toksopatik memerlukan sedikit waktu untuk menimbulkan gejala-gejala klinis. Biasanya secara histopatologi terlihat nekrosis setempat yang secara teratur tersebar di seluruh hati, akan tetapi bila racun zat kimia Pb sangat kuat maka terlihat gambar nekrosis terpecah.

Pada hasil penelitian ini, nekrosis yang terjadi menunjukkan tanda-tanda penyusutan inti yang disebabkan oleh mengecilnya bahan inti sehingga menjadi massa hiperkromatin yang homogen, batas-batasnya tidak teratur dan berwarna gelap bila diwarnai. Inti hancur atau pecah serta meninggalkan pecahan zat-zat kromatin yang tersebar di dalam inti, lalu inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan

menghilang, sehingga pada nekrosis sel hati yang disebabkan oleh Pb terlihat sel-sel dengan sitoplasma yang kosong tanpa inti.

Hal ini didukung oleh pernyataan yang dikemukakan oleh Thomas (1988), Wilson (1993), Robbins (1994 dan 1999) bahwa tanda jelas kematian sel terdapat dalam inti dan sitoplasma. Selanjutnya perubahan inti pada kematian sel terlihat sebagai salah satu dari tiga gambaran inti, yaitu perubahan inti pada sel nekrosis meliputi piknosis yang ditandai oleh pengisutan inti (inti kecil padat) dan bertambah basofil. Di sini DNA agaknya menggumpal menjadi massa yang solid, basofil dan mengisut. Karioreksis inti terpecah menjadi banyak gumpalan atau inti piknosis mengalami fragmentasi seiring dengan perjalanan waktu (satu atau dua hari). Kariolisis yang ditandai oleh kromatin basofil menjadi pucat (inti pucat larut). Ini adalah suatu perubahan yang diduga mencerminkan aktifitas DNA-ase pada penurunan pH sel. Selanjutnya dengan cara yang sama atau cara lainnya, inti pada sel yang nekrosis sama sekali hilang. Sementara itu sitoplasma berubah menjadi massa asidofil suram granula. Asidofil ini mencerminkan afinitas terhadap zat warna asam (eosinofil) yang sebagian sebagai akibat denaturasi protein sitoplasma, yang gugus basanya terbuka dan bagian akibat aktivasi ribonuklease asam yang menghancurkan asam yang menghancurkan RNA sitoplasma yang normal basofil. Dalam keadaan ini sel nekrosis berubah menjadi debris asidofil tanpa inti.

Perubahan inti pada sel hati awalnya berupa proses degeneratif bengkak keruh yaitu perubahan morfologi akibat jejas non lethal yang sifatnya reversibel. Di dalam hasil penelitian ini, degenerasi bengkak keruh yang terjadi menunjukkan tanda-tanda ukuran sel membesar. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Thomas (1988) dan Wilson (1993) bahwa degenerasi bengkak keruh akibat gangguan sistem metabolik yang mempertahankan lingkungan ion dari sel yang disebut pompa ion. Bila mekanisme regulasi ini gagal maka natrium dan air mengalir ke dalam sel dan kalium meninggalkan sel. Akibatnya sitoplasma tampak berisi granula protein yang halus (bengkak keruh). Timbulnya kekeruhan disebabkan oleh peningkatan penyebaran cahaya (efek Tyndall). Keadaan ini terjadi karena setiap bahan kimia termasuk Pb dapat mempengaruhi sel dalam hal keseimbangan cairan maupun permeabilitas membran. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Underwood (1999) bahwa degenerasi bengkak keruh umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti keracunan bahan kimia.

Jika pengaruh berbahaya pada sebuah sel cukup hebat atau berlangsung cukup lama maka sel akan mencapai suatu titik dimana ia tidak lagi dapat mengkompensasi dan tidak dapat melangsungkan metabolisme. Pada point of no return, proses-proses itu menjadi reversibel dan sel sebetulnya mati (nekrosis). Di dalam hasil penelitian ini, nekrosis yang terjadi adalah akibat pemaparan Pb yang terus menerus,

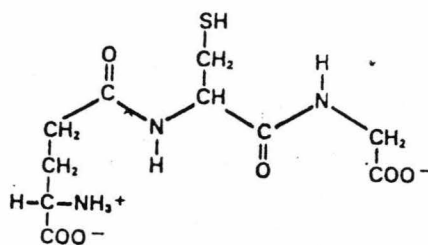
sehingga pada keadaan ini semua mitokondria sudah dalam keadaan pembengkakan amplitudo tinggi, dan sudah ada penggumpalan densitas matriks, sehingga sel membengkak. Membran di sistem rongga sitoplasma terpecah-pecah atau fragmentasi. Lisosom yang membengkak tetapi masih mengandung partikel makromolekuler. Pada stadium ini, kromatin mulai terserang akibat enzim yang lama-lama akan mengakibatkan lenyapnya inti (kariolisis) dan protein mengalami denaturalisasi secara nyata. Jadi sel dianggap mati setelah mengalami serangkaian penambahan yang dinamakan nekrosis. Nekrosis dapat didefinisikan sebagai perubahan morfologi akibat degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas lethal. Dua proses penting yang menunjukkan perubahan nekrosis adalah pencernaan sel oleh enzim dan denaturasi protein. Enzim katalitik yang berasal dari lisosom sel mati, yang mencerna secara enzimatik dinamakan autolisis atau dari leukosit imigran, dan disebut heterolisis. Akhirnya pada tahap lanjut ireversibel, robekan terlihat pada selaput yang membungkus sel dan membran organel. Selain itu, pada mitokondria terjadi pembengkakan dan akhirnya terjadi robekan keluar selaput mitokondria, disusul dengan perkapuran. Terjadi pula fragmentasi progresif retikulum endoplasma dan pembentukan gambaran mielin, sedangkan pada organel lain misalnya lisosom akan robek dan dapat menghilang sebagai struktur yang ditemukan sebagai bentuk sel yang mati. Semua sel memiliki berbagai enzim yang banyak diantaranya bersifat litik. Sewaktu sel hidup, enzim-enzim lain tidak menimbulkan

kerusakan pada sel, tetapi enzim ini dilepaskan pada saat kematian sel, dan mulai melarutkan berbagai unsur sel. Selain itu pada saat sel mati, secara kimiawi berubah, maka jaringan hidup yang bersebelahan memberikan respon terhadap perubahan itu dan menimbulkan reaksi peradangan akut. Bagian dari reaksi yang terakhir ini adalah pengiriman banyak leukosit atau sel darah putih ke daerah itu, dan membantu pencernaan sel-sel yang mati. Jadi dari enzim-enzim pencernaan mereka sendiri atau sebagai proses peradangan, maka sel-sel yang sudah mencapai *point of no return* mulai mengalami perubahan-perubahan morfologis yang dapat dilihat (Wilson, 1993 dan Robbins, 1994).

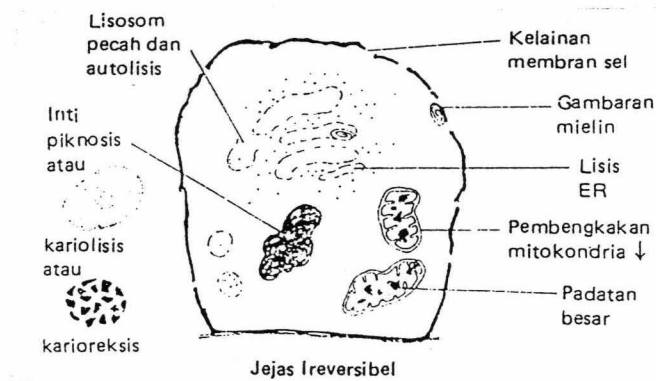
Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat-zat makanan serta sebagian besar toksikan. Hepatosit (sel parenkim hati) merupakan sebagian besar organ itu. Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam proses metabolisme. Hati sering menjadi organ sasaran karena beberapa hal. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, dan setelah diserap, toksikan dibawa oleh venaporta ke hati (Lu, 1995). Kerusakan terhadap sel hati yang disebabkan oleh pemaparan Pb terjadi melalui konversi ke metabolisme reaktif. Hal ini disebabkan karena hati mempunyai kadar enzim yang tinggi untuk metabolisme Pb, yaitu Sitokrom P - 450. Hal yang sama dikemukakan oleh Murray (1997) bahwa sitokrom P - 450 terdapat dengan kadar paling tinggi di dalam hati. Di dalam hati dan sebagian

jaringan lainnya, sitokrom P - 450 terutama terdapat dalam membran retikulum endoplasma halus yang merupakan bagian fraksi mikrosomal pada saat jaringan tersebut mengalami fraksinasi subseluler. Sitokrom P - 450 di dalam mikrosom sel hati bisa menyusun sampai 20 % total protein. Sitokrom P - 450 ditemukan dalam banyak jaringan lain, walaupun dengan kadar yang lebih rendah dibandingkan dengan hati. Sitokrom P - 450 inilah yang menyebabkan Pb lebih reaktif. Jika metabolit reaktif ini berkumpul di dalam sel, disertai dengan terjadinya deplesi GSH, maka Pb ini mempunyai kemampuan untuk mengikat makromolekul sel tubuh sehingga menyebabkan terjadinya nekrosis.

Dalam proses biotransformasi toksikan terdapat suatu reaksi yang disebut reaksi konjugasi dengan glutation. Glutation (γ - glutamil sisteinil glisin) merupakan tri peptida yang terdiri atas asam glutamat, sistein dan glisin (Gambar 6.6).



Gambar 6.6 Glutation (γ - glutamil - sistenil – glisin) (Murray, 1997)



Gambar 6.7 Bagan yang menunjukkan perubahan ultrastruktur pada jejas ireversibel (Robbins, 1997)

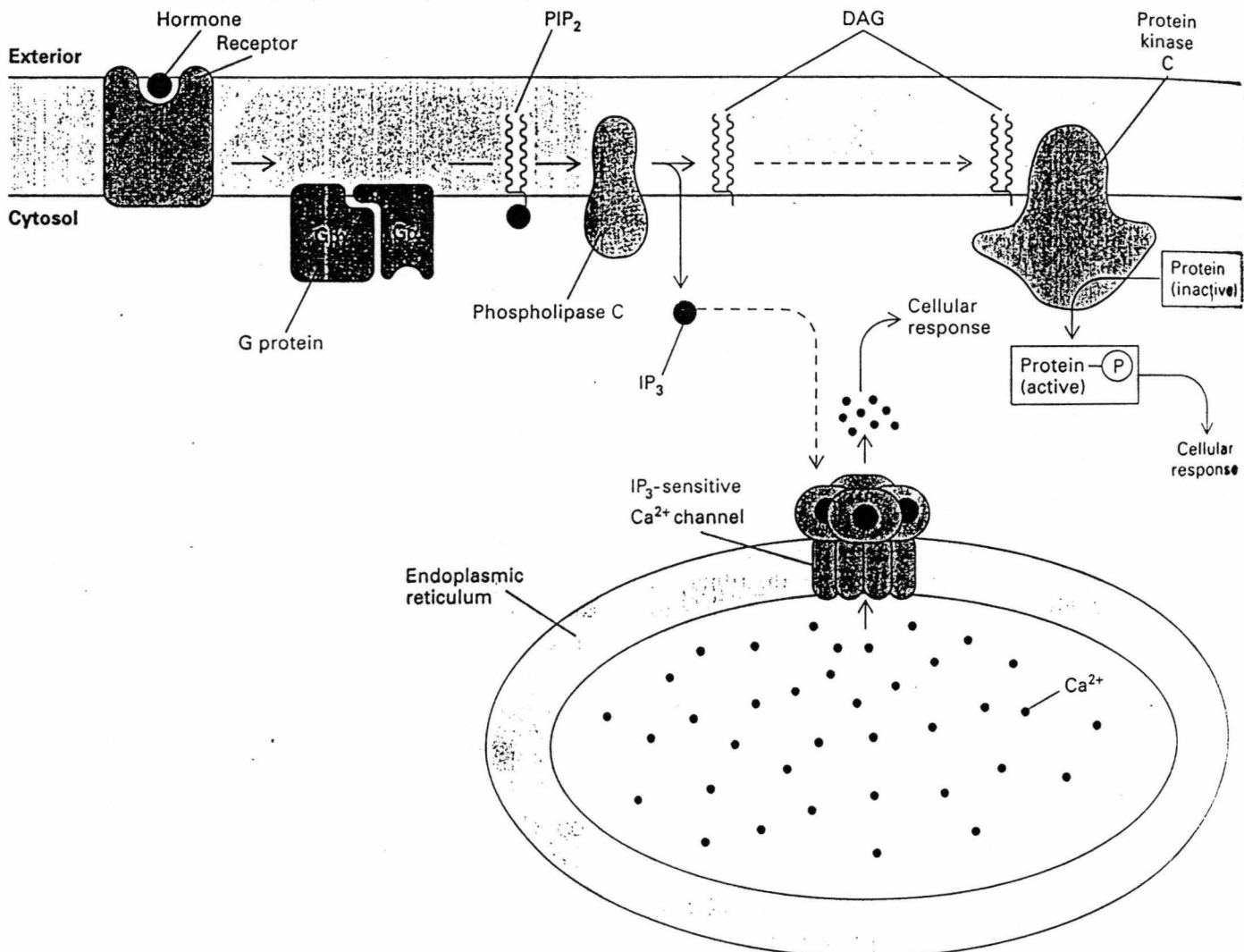
Glutation pada umumnya disingkat menjadi GSH (karena gugus sulfhidril yang terikat pada sistein) dan merupakan bagian yang berfungsi dalam molekul glutation. Sejumlah toksikan yang potensial beracun seperti Pb akan berkonjugasi dengan GSH nukleofilik dalam reaksi yang dapat digambarkan sebagai berikut : $R + GS\text{HO} \rightarrow R - S - G$. Dimana R adalah toksikan. Enzim yang mengkatalisis reaksi ini disebut glutation - S - transferase dan terdapat dalam sitosol sel hati dengan jumlah yang tinggi dan dalam jaringan yang lainnya dengan jumlah yang lebih rendah. Jika toksikan yang potensial beracun tidak terkonjugasi, molekulnya akan berada dalam keadaan bebas yang membentuk ikatan kovalen dengan DNA, RNA atau protein sel, dengan demikian dapat mengakibatkan kerusakan sel yang serius yang disebut dengan nekrosis. Karena itu GSH merupakan mekanisme pertahanan yang penting terhadap senyawa toksin tertentu. Jika kadar GSH dalam suatu jaringan seperti sel hati

menurun maka sel-sel hati bisa menjadi lebih rentan terhadap cedera oleh zat kimia Pb yang dalam keadaan normal akan terkonjugasi dengan GSH.

Mekanisme zat kimia Pb menyebabkan terjadinya nekrosis sel hati dapat terjadi secara langsung, dimana Pb terikat pada grup SH protein membran sel, sehingga terjadi kerusakan pada membran sel yang menyebabkan hilangnya homeostasis kalsium dan meningkatnya kalsium intrasel karena ion kalsium dari mitokondria dan retikulum endoplasma lepas. Terjadinya peningkatan kalsium sitosolik akan mengaktifkan fosfolipase yang memecah fosfolipid membran, protease menguraikan protein membran dan sitoskeletal, ATP-ase yang mempercepat penguraian ATP dan endonuklease yang berperan dalam fragmentasi kromatin. Di dalam nekrosis ini fragmen kromatin ukuran panjangnya tidak sama. Jadi hilangnya integritas membran menyebabkan influks kalsium dari ruang ekstrasel yang berakibat disfungsi mitokondria, inhibisi enzim sel, denaturasi protein, perubahan sitologi yang merupakan ciri dari nekrosis koagulatif. Menurut Ressang (1984), pada nekrosis koagulatif, hati biasanya membengkak dan pada bidang sayatan dan permukaan atas memperlihatkan sarang-sarang nekrotik yang lonjong, suram, putih kekuning-kuningan. Biasanya sarang-sarang dibatasi oleh jaringan merah (hiperemi). Sarang-sarang yang terletak pada permukaan atas dapat menembus hati dan menyebabkan perlekatan dan pertautan dengan diafragma. Proses ini juga sering menembus ke dalam vena hati dan terjadilah sarang metastatik dalam paru-paru. Sarang-sarang nekrosa

meluas pada stadium tertentu, kemudian sarang itu tidak membesar lagi. Di sekitar sarang mulai demarkasi seluler, kemudian diganti oleh selubung jaringan ikat. Bila hati penuh dengan sarang nekrosa maka bisa menimbulkan kematian pada organisme hidup.

Menurut Lodish (1995) peningkatan Ca^{++} sitosolik disebabkan oleh peranan inositol 1, 4, 5 trifosfat dan hormon Vasopressin yang dihasilkan oleh sel-sel hati. Ion kalsium di dalam sel disimpan dalam vesikel di sitoplasma, dan lumen dari retikulum endoplasma. Di tempat tersebut, ion kalsium diikat oleh protein yang disebut dengan kalmodulin. Jadi berarti inositol 1, 4, 5 trifosfat setelah mendapatkan signal hormon Vasopressin, Calmodulin akan melepaskan ion kalsiumnya untuk merespon signal-signal yang diberikan oleh hormon. Di dalam reaksi ini diperlukan suatu enzim yang dinamakan c-AMP fosfodiesterase. Prosesnya dapat dijelaskan sebagai berikut : setelah vasopressin diikat oleh reseptor maka akan mengaktifkan G protein, lalu mengaktifkan PIP_3 (inositol 1, 4, 5, trifosfat). Lalu setelah G protein diaktifkan, lalu oleh fosfolipase C, rangkaian P dari inositol difosfolisir yang menyebabkan terjadinya fosforilasi yaitu memfosforilasi kembali saluran ion, supaya saluran ion bisa terbuka setelah itu Diasilgliserol (DAG) mengaktifkan protein kinase C dengan cara difosforilasi, lalu protein kinase C menjadi aktif yang tadinya adalah in aktif. Hal ini selanjutnya menghasilkan respon atau dengan kata lain DAG menyebabkan protein kinase C aktif sehingga menghasilkan respon yaitu peningkatan ion kalsium (Gambar 6.8).



Gambar 6.8 Mekanisme terbukanya pompa ion kalsium (Ca^{++}) (Iodish, 1995)

Akibat nekrosis yang paling nyata pada sel hati adalah hilangnya fungsi daerah yang mati itu, dan sel yang mengalami nekrosis seringkali membocorkan enzim-enzim yang dikandung ke dalam aliran darah karena sel-sel mati dan permeabilitas membran sel bertambah. Berdasarkan hal tersebut untuk menganalisa contoh darah dan menentukan kadar

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

berbagai enzim seperti transaminase, LDH (laktat dehidrogenase) maupun ALP (alkalin fosfatase). Kemudian, peningkatan dari salah satu enzim atau enzim lain dapat menunjukkan bahwa penderita mempunyai daerah nekrosis yang tersembunyi jauh dalam suatu jaringan. Prinsip ini menimbulkan bidang diagnostik yang penting yaitu enzimologi klinis (Wilson, 1993).

Menurut Dalimartha (1999), transaminase merupakan sekelompok enzim. Adapun enzim yang sering digunakan untuk menilai penyakit hati adalah SGOT dan SGPT, karena merupakan indikator yang peka terhadap kerusakan sel-sel hati. Sel hati termasuk salah satu sel yang banyak mengandung transaminase. Bila sel hati mengalami nekrosis atau hancur oleh suatu sebab, maka enzim transaminase akan terlepas dan masuk ke dalam peredaran darah sehingga kadarnya di dalam serum meningkat. Pada penyakit hepatitis, kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi menunjukkan kelainan berlanjut dan terjadinya nekrosis hati. Serum transaminase terbagi menjadi dua macam, yaitu :

- a. SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase) atau AST (Aspartat Aminotransferase). Enzim ini terdapat di dalam sel-sel organ tubuh, terutama sel hati. SGOT sebagian besar terikat dalam organel dan sisanya hanya sebagian kecil dalam sitoplasma.
- b. SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase) atau ALT (Alanin Aminotransferase). Enzim ini terdapat dalam sel-sel jaringan tubuh

tetapi yang terbanyak dan sebagai sumber utamanya adalah sel-sel hati. Kebalikan dari SGOT, enzim SGPT ini sebagian besar terikat dalam sitoplasma sehingga pada kerusakan membran sel hati, kenaikannya lebih menonjol.

Enzim lain yang dihasilkan oleh sel hati adalah laktat dehidrogenase (LDH) dan alkalin fosfatase (ALP) yang merupakan sekelompok enzim yang mempercepat hidrolisis fosfat organik dengan melepaskan fosfat anorganik.

6.8.1 Degenerasi Bengkak Keruh yang Terjadi pada Sel Tubulus Ginjal Janin Mencit

Berdasarkan analisis hasil penelitian ternyata pemaparan Pb dengan variasi dosis dan variasi waktu menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap perubahan histo patologis yang berupa degenerasi bengkak keruh pada sel tubulus ginjal janin mencit (Tabel 5.19 dan Tabel 5.20). Darmawan (1994) melaporkan bahwa perubahan seluler yang terjadi akibat pengaruh Pb adalah degenerasi sampai nekrosis. Degenerasi sampai nekrosis terjadi pada sel-sel tubulus ginjal.

Menurut Lu (1995) ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik karena ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu. Ginjal membuang toksikan dari tubuh dengan mekanisme yang serupa dengan mekanisme yang

digunakan untuk membuang hasil akhir metabolisme faali, yaitu dengan filtrasi glomerulus, difusi tubuler dan sekresi tubuler. Struktur yang menonjol dalam ginjal adalah nefron, kira-kira berjumlah $1,3 \times 10^6$. Tiap nefron terdiri atas glomerulus dan serangkaian tubulus. Glomerulus dialiri darah oleh sistem kapiler bertekanan tinggi yang menghasilkan ultrafiltrat dari plasma. Filtrat yang terkumpul dalam kapsula bowman mengalir melalui tubulus berkelok proksimal, ansa Henle, dan tubulus distal, dan kemudian mengalir melalui kumpulan tubulus ke dalam piala ginjal dan dibuang sebagai urin.

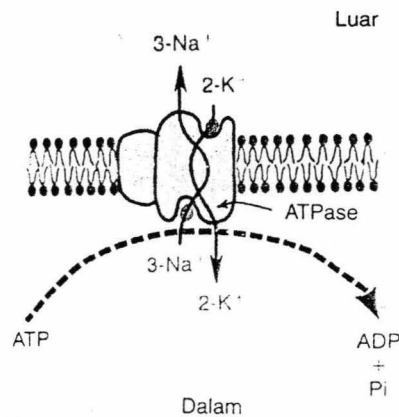
Kapiler glomerulus memiliki pori-pori yang besar (70 nm), karena itu sebagian besar toksikan akan lewat di glomerulus, kecuali toksikan yang sangat besar (lebih besar dari BM 60.000) atau yang terikat erat pada protein plasma. Senyawa Pb yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai BM 379,34, sehingga dapat melalui proses ultrafiltrasi glomerulus dengan mudah. Karena Pb yang digunakan merupakan persenyawaan organik maka toksikan dalam filtrat glomerulus akan mengalami absorpsi pasif di sel-sel tubulus karena koefisien partisi lipidnya tinggi.

Tubulus kontortus proksimalis merupakan segmen nefron terpanjang dan merupakan pembentuk massa utama korteks. Sel-selnya berbentuk piramida terpancung, batas-batas sel yang bersebelahan tidak tampak jelas, sitoplasma eosinofilik karena banyak mitokondria, inti spheris terletak di tengah. Pada satu potongan melintang tubulus

kontortus proksimal terdapat 6 – 12 sel di sekeliling lumen. Namun yang tampak mengandung inti hanya 4 – 5 sel saja, karena ukuran selnya lebih besar daripada ketebalan sayatan sediaan, sehingga pada waktu pengirisan jaringan ada inti sel yang tidak ikut terpotong. Tinggi sel bervariasi sesuai aktifitas fungsinya. Tiap sel mempunyai mikrofili yang panjang-panjang, halus, dan menggerombol padat, sehingga permukaan lumen tampak ada brush border. Tubulus kontortus proksimalis berakhir pada pars descendens lengkung Henle (Leeson, 1995).

Pada permukaan membran sel tubulus ginjal terdapat pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$. Salah satu fungsi terpenting dari pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ialah mengatur volume sel. Tanpa fungsi pompa ini, kebanyakan sel tubuh akan membengkak sampai kemudian pecah. Mekanisme yang mengontrol volume tersebut adalah sebagai berikut : di dalam sel terdapat sejumlah protein organik lain yang tidak dapat keluar dari sel. Kebanyakan dari komponen ini mengandung muatan negatif sehingga di daerah sekitar komponen ini banyak terkumpul ion positif. Semua komponen ini cenderung menyebabkan terjadinya osmosis air ke dalam sel; kalau hal ini tidak dikendalikan, sel akan membengkak sampai pecah. Mekanisme normal yang mencegah hal tersebut adalah pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$. Pompa ini akan memompa tiga ion Na^+ keluar sel setiap terjadi pemasukan dua ion K^+ ke dalam. Selain itu, membran sel memiliki permeabilitas yang jauh lebih rendah terhadap ion natrium dibandingkan dengan ion kalium, sehingga begitu ion natrium berada di luar, ion ini memiliki kecenderungan kuat

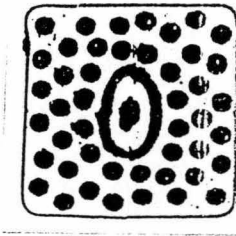
untuk tinggal di dalam. Jadi, keadaan ini memungkinkan ion, secara terus menerus keluar dari sel, yang mencetuskan kecenderungan osmotik berlawanan untuk mengeluarkan air dari sel. Selanjutnya, bila sel mulai membengkak, hal ini secara otomatis akan mengaktifkan pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$, mengeluarkan ion yang masih tersisa keluar, dan membawa air bersertanya (Gambar 6.9). Oleh karena itu, pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$ mempunyai fungsi untuk menjaga volume sel agar tetap normal (Guyton, 1997).



Gambar 6.9 Mekanisme pompa natrium – kalium (Robbins, 1994)

Terjadinya degenerasi bengkak keruh yang disebabkan oleh pemaparan Pb dapat dijelaskan sebagai berikut : Pb membentuk ikatan kovalen dengan gugus SH protein membran sel, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dari membran sel, dalam hal ini terjadi perubahan pada dua lapisan lipoprotein penyusun membran sel. Akibatnya terjadi kegagalan transportasi aktif terhadap ion Na dan K,

sehingga natrium masuk ke dalam sel, kalium keluar dari dalam sel dan air bertambah secara isoosmotik. Perubahan morfologi sel yang dihasilkan adalah pembengkakan sel. Pada keadaan normal gambaran histologis dari sel tubulus kontortus proksimal adalah intinya terang, anak inti jelas, sitoplasma rata. Tetapi jika terjadi degenerasi bengkak keruh, maka gambaran histologis dari sel tubulus kontortus proksimal adalah inti sel terang, anak inti masih kelihatan, sitoplasma tidak rata atau berlubang-lubang, karena terjadi influks air yang hebat sehingga tertimbun di dalam sel, dalam sitoplasma tampak vakuola-vakuola kecil yang jernih, yang diduga merupakan retikulum endoplasma yang melebar dan menonjol keluar segmen pecahannya. Pelebaran retikulum endoplasma terjadi segera setelah pemaparan Pb, mungkin karena perubahan gerakan ion dan air. Pada sitoplasma terlihat adanya gambaran seperti sarang lebah yang halus, dan terjadi granula protein yang halus (bengkak keruh). Timbulnya kekeruhan karena peningkatan penyebaran cahaya. Jika terjadi pembengkakan sel, maka organela yang membengkak adalah mitokondria. Jika keadaan ini terjadi pada seluruh sel maka akan menyebabkan kerusakan berat pada ginjal (Wilson, 1993; Robbins, 1999; Underwood, 1999).



Gambar 6.10 Degenerasi bengkak keruh (Thomas, 1988)

Menurut Ressay (1984) sel-sel tubulus ginjal yang mengalami pembengkakan, akan mengakibatkan penyempitan lumen tubulus. Lumen tubulus yang sempit dapat berbentuk bintang karena penonjolan tidak teratur dari sel-sel ke dalam lumen, sehingga ginjal akan membengkak.

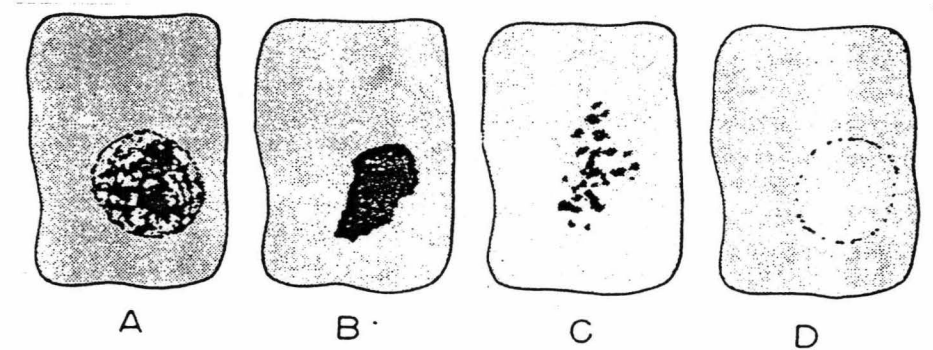
6.8.2 Nekrosis yang terjadi pada sel tubulus ginjal janin mencit

Berdasarkan analisis hasil penelitian, pemaparan Pb dengan variasi dosis dan variasi waktu menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap perubahan histopatologis yang berupa nekrosis pada sel tubulus ginjal (Tabel 5.21 dan Tabel 5.22). Terjadinya perubahan histopatologis yang berupa nekrosis ini karena logam berat Pb adalah kelompok utama nefrotoksikan. Semua bagian nefron secara potensial dapat dirusak oleh efek toksikan. Beratnya beberapa efek beragam dari satu perubahan biokimia atau lebih sampai kematian sel (Lu, 1995 dan Lopez Alonzo, 2000).

Menurut Wilson (1993) ginjal sangat mudah terserang oleh bahan kimia, misalnya Pb karena alasan sebagai berikut : (1) ginjal menerima 25 % dari curah jantung sehingga sering dan mudah kontak dengan zat-zat kimia dalam jumlah besar; (2) interstisial yang hiperosmatik

memungkinkan zat kimia dikonsentrasikan pada daerah yang relatif hipovaskuler; (3) ginjal merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk kebanyakan toksikan, sehingga insufisiensi ginjal mengakibatkan penimbunan toksikan dan meningkatkan konsentrasi dalam cairan tubuh. Hal ini menyebabkan logam berat Pb akan bergabung dalam sel-sel tubulus ginjal.

Pada hasil penelitian ini, perubahan-perubahan sel yang mengalami nekrosis dapat diamati pada inti dan sitoplasma yang meliputi piknosis, yang ditandai dengan terjadinya penggumpalan kromatin dan tidak dikenali lagi adanya anak inti (nukleus), warna sitoplasma menjadi lebih gelap atau lebih tua setelah dilakukan proses pewarnaan. Karioreksis ditandai dengan adanya kerusakan pada inti yang pecah berkeping-keping dan meninggalkan pecahan zat-zat kromatin yang tersebar di dalam sel atau inti, bentuknya tidak teratur dan sitoplasma mulai memanjang. Kariolisis ditandai dengan intinya yang mulai tidak jelas atau hilang sehingga sulit dikenali lagi dan bentuk selnya lebih memanjang serta warna tidak begitu jelas setelah dilakukan proses pewarnaan.



Gambar 6.11 Perubahan-perubahan inti pada nekrosis. Perubahan morfologis paling jelas yang menunjukkan nekrosis adalah perubahan morfologis inti (A) inti normal, (B) inti piknotis, (C) inti kariorektis, (D) inti yang sudah mengalami kariolisis (Wilson, 1993)

Terjadinya nekrosis pada sel tubulus ginjal dapat dijelaskan sebagai berikut : setelah melalui proses absorpsi dan distribusi senyawa Pb yang ikut aliran darah kemudian masuk ke dalam ginjal. Karena kapiler glomerulus mempunyai pori-pori yang besar (70 nm), maka beberapa zat dengan bobot molekul di bawah 60.000 dapat disaring masuk ke dalam glomerulus. Beberapa zat yang tersaring seperti glukosa dan asam amino yang penting bagi tubuh diserap kembali oleh tubulus. Termasuk senyawa Pb yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai BM 379,34, sehingga dengan mudah dapat melalui proses ultrafiltrasi glomerulus. Pada filtrat glomerulus terdapat toksikan Pb yang selanjutnya akan mengalami absorpsi pasif di sel-sel tubulus ginjal. Perubahan morfologis awal yang terjadi pada sel tubulus ginjal adalah pembengkakan sel yang merupakan manifestasi pertama pada hampir semua bentuk jejas pada sel, sebagai akibat pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Proses awal terjadinya

pembengkakan sel adalah karena adanya ikatan kovalen antara logam berat Pb dengan gugus SH protein membran sel yang akan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel. Dalam hal ini permeabilitas membran sel meningkat. Pada keadaan normal pompa ion yang terdapat pada membran sel akan mempertahankan volume sel, dan menjaga keseimbangan cairan intraseluler misalnya mempertahankan kadar kalium yang relatif tinggi dan kadar natrium yang rendah di dalam sel. Bila terjadi perubahan pada permeabilitas membran maka pompa ion $\text{Na}^+ \text{K}^+$ yang terdapat pada membran sel akan mengalami gangguan. Akibatnya terjadi pergeseran ion, natrium masuk ke dalam sel dan kalium keluar dari dalam sel, sehingga bentuk sel mulai berubah. Bila pompa ion mengalami gangguan, maka sel akan menghisap cairan untuk menyamakan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel. Hal ini akan menyebabkan volume sel meningkat dan juga akan meningkatkan tekanan hidrostatik (disebut pembengkakan isoosmotik). Dapat dikatakan bahwa pembengkakan sel terjadi bila sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan. Pembengkakan sel diikuti dengan pembengkakan organel sel misalnya mitokondria, inti, retikulum endoplasma, dan sebagainya. Sel-sel tubulus ginjal akan mengalami perubahan menjadi bengkak keruh karena peningkatan permeabilitas dengan masuknya ion-ion natrium yang menarik air ke dalam sel. Apabila senyawa Pb dipaparkan berulang-ulang dengan dosis yang semakin tinggi, pembengkakan sel akan berlangsung terus menerus, dan sel akan pecah, hal ini akan mengganggu

pembentukan energi atau ATP yang diperlukan untuk transport aktif, sehingga sel-sel tubulus ginjal akan mengalami nekrosis (Wilson, 1993; Lu, 1995; Guyton, 1997; Robbins, 1999 dan Underwood, 1999).

Kematian sel atau nekrosis pada sel tubulus ginjal bisa terjadi melalui konversi ke metabolit reaktif (Robbins, 1999). Menurut Lu (1995) dan Murray (1997) tubulus kontortus proksimalis merupakan sasaran utama dari efek toksik. Hal ini disebabkan karena pada tubulus kontortus proksimalis terjadi proses reabsorpsi dan kadar toksikan pada tubulus kontortus proksimalis sering lebih tinggi daripada tubulus kontortus distal. Selain itu kadar sitokrom P – 450 yang berfungsi untuk mengaktifkan toksikan juga lebih tinggi pada tubulus kontortus proksimal dibandingkan dengan tubulus kontortus distal. Sitokrom P – 450 pada sel tubulus kontortus proksimal banyak ditemukan di dalam retikulum endoplasma dan mitokondria. Sitokrom P – 450 akan mengubah Pb menjadi metabolit reaktif, dan jika Pb yang potensial beracun ini tidak terkonjugasi dengan glutathion, maka molekulnya akan berada dalam keadaan bebas yang akan membentuk ikatan kovalen dengan makromolekul sel pada spesies yang reaktif terhadap Pb yang dihasilkan oleh metabolisme. Sasaran makromolekuler ini mencakup DNA, RNA, dan protein. Jika makromolekul yang terikat dengan toksikan yang reaktif tersebut sangat tinggi bagi kelangsungan hidup jangka pendek sel, misalnya protein atau enzim yang terlibat dalam fungsi seluler yang amat menentukan seperti fosforilasi oksidatif atau pengaturan permeabilitas membran plasma, maka sejumlah

akibat yang parah pada fungsi seluler dapat segera terlihat dengan nyata. Proses bioaktivasi atau perubahan bentuk toksikan menjadi bentuk metabolit reaktif pada ion-ion logam misalnya Pb adalah melalui reduksi, reaksi ini baru terjadi bila toksikan yang masuk mempunyai potensial oksidasi reduksi.

Nekrosis pada sel tubulus ginjal dapat terjadi melalui gangguan pompa ion kalsium pada membran sel. Ikatan kovalen antara Pb dengan gugus SH pada protein membran sel menyebabkan keseimbangan konsentrasi ion kalsium terganggu disertai meningkatnya konsentrasi ion kalsium intrasel karena logam Pb dapat menyebabkan lepasnya ion kalsium dari mitokondria dan retikulum endoplasma sehingga terjadi peningkatan kalsium sitosolik. Peningkatan kalsium sitosolik ini akan mengaktifkan fosfolipase yang memecah fosfolipid membran. Protease dapat menyebabkan pecahnya elemen membran sel rentan terhadap tarikan dan robekan; ATPase yang mempercepat pengurangan ATP, padahal ATP diperlukan untuk proses transportasi pada membran, sintesis protein dan pertukaran fosfolipid; endonuklease yang terkait dengan fragmentasi kromatin panjang fragmen kromatin ukurannya tidak sama (Robbins, 1994 dan 1999).

Wilson (1993) dan Robbins (1999) melaporkan bahwa nekrosis atau destruksi yang terjadi pada sel tubulus ginjal yang disebabkan oleh nefrotoksin Pb disebut Nekrosis Tubular Akut. Pada pemeriksaan melalui mikroskop cahaya terhadap kelainan morfologinya menunjukkan bahwa

Nekrosis Tubular Akut, kebanyakan pada tubulus proksimalis, meskipun segmen tubulus lainnya dapat terkena. Hal yang sama dikemukakan oleh Lu (1995) bahwa logam berat Pb dapat mengubah fungsi tubulus yang ditandai dengan glikosuria, aminoasiduria, dan poliuria. Pada dosis yang lebih tinggi, logam berat Pb menyebabkan kematian sel, BUN yang meningkat dan anuria. Terlihat bahwa bagian lurus (*pars recta*) pada tubulus proksimal lebih rentan daripada bagian berkelok terhadap toksikan Pb. Mahaffey (1988) juga melaporkan bahwa sel-sel tubulus ginjal rupanya merupakan target dengan mengganggu aktifitas reabsorpsinya sehingga akan menyebabkan glikosuria dan aminoasiduria. Efek langsung dari paparan jangka panjang Pb adalah nefropati, gangguan tubulus atas yang terlihat adanya aminoaciduri, glikosuria, hiperfosfaturia dan hipertensi (Anonymous, 1996).

Nekrosis Tubular Akut termasuk gagal ginjal renal; pada glomerulus umumnya tidak dijumpai perubahan, kelainan terutama dijumpai pada tubulus. Tentang nekrosis tubular akut terdapat bermacam-macam hipotesis yang telah digunakan, namun sampai saat ini yang dianggap paling mungkin mendasari adanya nekrosis tubular akut adalah kelainan tubular dan vaskular :

- a. Teori tubular. Di sini oligouria disebabkan karena adanya obstruksi pada tubulus sebagai akibat adanya silinder, sisa sel yang rusak dan edema interstisial.

- b. Teori vaskuler. Dianggap yang berperan adalah adanya vasokonstriksi pra – glomerular yang hebat Vasokonstriksi ini disebabkan antara lain karena pengaruh sistem renin – angiotensin dan gagalnya aliran tubuli untuk membawa prostaglandin dari medula ke korteks, dimana pada keadaan normal akan menghambat vasokonstriksi arterio afferent (Soeparman, 1990 dan Guyton, 1997).

Menurut Dalimartha (1999) bila sel ginjal yang banyak mengandung transaminase mengalami nekrosis atau hancur oleh suatu sebab maka enzim transaminase akan terlepas dan masuk ke dalam peredaran darah sehingga kadarnya di dalam serum meningkat. Enzim tersebut adalah SGOT (serum glutamic oxaloacetic acid transaminase) atau AST (aspartat amino transaminase). SGOT ini sebagian besar terikat dalam organel dan sisanya hanya sebagian kecil dalam sitoplasma.

6.9 Kelainan Histologis Otak pada Janin

Berdasarkan analisis hasil penelitian, ternyata pemaparan Pb berpengaruh terhadap kelainan histologis otak pada janin. Ini berarti pemaparan Pb yang ditinjau dari variasi dosis, variasi waktu, maupun interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu menyebabkan penurunan terhadap jumlah sel Purkinje (Tabel 5.23; Tabel 5.24; Tabel 5.25; Tabel 5.26). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kujawa (1994) bahwa intoksikasi Pb menyebabkan sel Purkinje dari serebelum mengalami penurunan jumlah.

Sebelum tersusun dari dua lobus atau hemisfer utama yang tersambung oleh lobus ketiga yang dikenal sebagai vermis. Tiap lobus terdiri dari beberapa sub bagian, yaitu lobulus yang tersusun dalam beberapa gulungan atau folia melintang. Seperti halnya dengan serebrum, serebelum terdiri dari suatu inti sentral bahan putih, medula, dan suatu penutup luar bahan abu-abu yang tebal, yakni korteks. Secara fungsional serebelum itu berhubungan dengan gerakan otot rangka, berhubungan dengan koordinasi, sikap tubuh, dan keseimbangan.

Korteks serebelum terbagi menjadi tiga lapis : yaitu lapis dalam atau granula dimana terdapat badan sel-sel granula dan glomeruli; lapis tengah yang tipis terdiri dari bahan sel-sel Purkinje, dan lapis luar atau molekul dimana terdapat sel stellat dan sel basket. Di bagian dalam serebelum terdapat nukleus serebelum yaitu fastigii, emboliformis, globosus, dan dentatus. Nuclei emboliformis dan globosus bersama dikenal sebagai nucleus interpositus. Serebelum tersusun dari (1) dua jenis akson input serabut rambat (climbing fibers) dan serabut lumut (mossy fibers); (2) lima jenis neuron intrinsik : sel granula, sel basket, sel stellat, sel golgi jenis II, dan sel Purkinje; dan (3) satu jenis neuron output sel-sel nukleus otak kecil.

Sel Purkinje merupakan satu-satunya neuron yang menyalurkan rangsangan keluar dari korteks serebelum (out put neuron). Cabang dendritnya yang menyerupai pohon terdapat di dalam lapisan molekuler dan terletak di dalam suatu bidang yang tegak lurus dengan sumbu

panjang folium. Sel Purkinje merupakan sel neuron yang besar, mempunyai bentuk yang menyerupai botol dengan leher yang kecil. Setiap sel Purkinje akan menerima rangsangan dari sel granul, sel stellat, sel basket dan sel Purkinje lainnya.

Semua rangsangan yang keluar dari korteks serebelum akan bersifat sebagai hambatan (inhibisi). Hal ini dimengerti oleh karena dari lima neuron yang terdapat di dalam serebelum, empat diantaranya bersifat menghambat. Neuron-neuron yang bersifat menghambat ini adalah sel stellat, sel basket, sel golgi dan sel Purkinje. Hanya sel granul yang mempunyai sifat mengadakan eksitasi. Seluruh rangsangan yang keluar dari korteks serebelum selalu bersifat inhibisi (menghambat), karena sel Purkinje yang mempunyai sifat menghambat, merupakan satu-satunya neuron yang membawa rangsangan keluar dari serebelum (out put neuron). Rangsangan ini selanjutnya akan menuju sel-sel neuron di dalam nukleus serebelum. Rangsangan dari luar serebelum akan masuk melalui perantaraan climbing fibers dan mossy fibers yang berfungsi sebagai serat-serat afferent. Rangsangan dari climbing fibers terutama akan menuju sel Purkinje, sedangkan cabang-cabang kolateralnya akan menuju sel neuron yang lain yaitu sel granul, sel golgi, sel stellat, dan sel basket, serta sebagian ada yang langsung menuju nukleus serebelum. Rangsangan yang berasal dari mossy fibers terutama akan menuju glomeruli di dalam lapisan granular dan kolateralnya pun ada yang langsung menuju nukleus serebelum. Selanjutnya rangsangan yang

diterima oleh sel Purkinje akan diteruskan terutama menuju sel-sel neuron di dalam nukleus ini juga, dan kolateralnya akan meneruskan rangsangan menuju sel stellat, sel basket, sel golgi dan sel Purkinje yang lain. Pada glomeruli rangsangan akan diteruskan menuju sel granuli ini rangsangan akan dibawa menuju ke arah lapisan molekuler yaitu melalui aksonnya yang bercabang membentuk huruf T yang disebut paralel fibers. Rangsangan ini kemudian akan diterima oleh sel Purkinje, sel stellat, sel golgi dan sel basket. Akhirnya sebagai satu-satunya output neuron, sel Purkinje akan mengeluarkan semua rangsangan yang diterimanya menuju sel-sel neuron di dalam nukleus yaitu nukleus fastigius, nukleus emboliformis, dan nukleus dentatus.

Jadi, sel Purkinje merupakan satu-satunya output neuron, sehingga fungsinya adalah menyalurkan rangsangan keluar dari korteks serebelum. Karena sel Purkinje merupakan neuron yang bersifat menghambat, maka rangsangan yang keluar dari serebelum juga berupa hambatan. Hal ini sesuai dengan fungsi serebelum pada umumnya yaitu untuk mengkoordinasi gerakan otot, sehingga gerakan tersebut dapat terlaksana dengan sempurna. Apabila serebelum mengalami kerusakan, maka gerakan-gerakan ini menjadi tidak teratur dan tidak menentu arahnya. Untuk merubah gerakan dengan cepat juga menjadi sulit, apalagi bila dilakukan berulang-ulang. Pada umumnya kerusakan pada satu hemisphere serebelum menimbulkan gejala-gejala pada sisi yang sama. Kerusakan pada daerah vermis menimbulkan gejala bilateral. Fungsi lain

dari serebelum adalah untuk mempertahankan keseimbangan tubuh (Noback dan Demarest, 1995, dan Leeson, 1995).

Mekanisme intoksikasi Pb dalam menurunkan jumlah sel Purkinje dapat dijelaskan sebagai berikut : Menurut Lu (1995) sebagai suatu bagian vital dalam tubuh, susunan saraf dilindungi dari toksikan dalam darah oleh suatu mekanisme protektif yang unik, yaitu sawar darah otak – Endotelium dalam otak tidak dapat ditembus oleh zat berberat molekul 40.000; diameter 5 – 6 nm. Tetapi zat-zat yang sangat larut dalam lipid lebih mudah melintasi sawar darah otak. Karena senyawa Pb yang digunakan dalam penelitian ini merupakan senyawa Pb organik yang bersifat lipofilik dan BM – nya adalah 379,34 maka dapat melintasi sawar darah otak.

Di dalam sel Purkinje terdapat badan Nissl yang meliputi (1) lembaran-lembaran lebar RE granular (yang dinamakan RE kasar dengan ribosom yang melekat pada permukaan luar sistem) yang ditumpuk satu di atas yang lain menurut pola yang teratur dan (2) ribosom bebas yang dalam kelompok atau roset yang terdiri dari lima sampai enam butir yang mengelilingi satu butir sentral (poliribosom) dan terletak di dalam neuroplasma diantara sistem RE. Ribosom ialah butir-butir yang kaya RNA. Apabila sel Purkinje terjejas oleh Pb, perubahan pertama yang terjadi adalah adanya gangguan pada permeabilitas membran, yang diikuti dengan perubahan organel lain yaitu pelebaran retikulum endoplasma yang diikuti oleh pelepasan ribosom dan pecahnya polisom

disertai dengan pengurangan sintesis protein, padahal protein diperlukan untuk proses mitosis atau pembelahan sel, sehingga jumlah sel Purkinje mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lewadowska (1994) yang menyatakan bahwa Pb menyebabkan gangguan pada sintesis protein sel Purkinje, hal ini terlihat dengan adanya perubahan pada retikulum endoplasma kasar maupun retikulum endoplasma halus.

6.10 Kelainan Pembentukan Tulang

Berdasarkan analisis hasil penelitian, ternyata pemaparan Pb yang ditinjau dari variasi dosis menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini berarti pemaparan Pb dengan variasi dosis tertentu menyebabkan gangguan pada pembentukan tulang. Tetapi jika ditinjau dari variasi lama pemaparan, tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Tabel 5.27 dan Tabel 5.28). Karena dalam penelitian ini waktu pemaparan paling lama adalah 10 hari sehingga lama pemaparan tersebut tidak cukup untuk menginduksi terjadinya gangguan pembentukan tulang. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sobotka dan Rahwan (1995) pemaparan Pb dalam waktu yang panjang, lebih dari 3 minggu dapat mengakibatkan lordoskoliosis pada konsentrasi Pb 0,02 – 0,1 mg/l.

Metode yang digunakan untuk mengetahui adanya gangguan pembentukan tulang adalah dengan pewarnaan alizarin red S yang merupakan pewarnaan selektif pada jaringan yang mengalami kalsifikasi. Hal ini disebabkan karena alizarin red S mempunyai afinitas yang tinggi

terhadap kalsium atau dapat mengikat kalsium yang ada dalam tulang dengan menghasilkan warna yang sesuai dengan zat warna yang diberikan. Skeleton dari vertebrata kecil dapat diwarnai dengan alizarin red S sehingga berwarna merah dan jaringan di sekelilingnya transparan yang dapat dilihat secara langsung. Berdasarkan hal tersebut alizarin red S dapat digunakan untuk memberikan informasi yang tepat tentang mekanisme pertumbuhan tulang. Di dalam hasil penelitian ini terlihat bahwa gangguan pembentukan tulang ditandai dengan tidak terbentuknya warna merah pada tulang-tulang yang menyusun rangka janin mencit.

Mekanisme terjadinya gangguan pembentukan tulang yang diakibatkan oleh pemaparan Pb dapat dijelaskan sebagai berikut : tulang mengandung bahan organik maupun anorganik. Bahan organik terutama berupa protein yang terdiri dari protein kolagen tipe I, tipe V, dan protein non kolagen yang terdiri dari protein plasma, proteoglikan (CS – PG I, CS – PG II, CS – PG III, protein tulang SPAL, osteokalsin, osteopontin, dan sialoprotein. Kolagen tipe I merupakan protein utama yang tersusun dari 90 – 95 % bahan organik. Kolagen tipe V juga terdapat dalam jumlah yang kecil sebagaimana halnya anggota protein non kolagen yang sebagian diantaranya relatif spesifik bagi tulang. Protein kolagen inilah yang menyebabkan tulang mempunyai kekuatan regang yang kuat. Substansi dasar tulang terdiri atas cairan ekstraseluler ditambah dengan proteoglikan, khususnya kondroitin sulfat dan asam hialuronat yang membantu mengatur pengendapan garam-garam kalsium. Komponen

mineral atau anorganik terutama berupa kristalin hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) bersama dengan natrium, magnesium, karbonat dan fluorida, kurang lebih 99 % kalsium tubuh terdapat dalam tulang. Hidroksiapatit memberikan kekuatan dan kelenturan tulang yang diperlukan untuk memenuhi peranan fisiologiknya.

Tahap awal produksi tulang adalah sekresi molekul-molekul kolagen (yang disebut sebagai kolagen monomer) dan substansi dasar (terutama proteoglikan) oleh osteoblas. Kolagen monomer dengan cepat berpolimerisasi untuk membentuk serat-serat kolagen, dan jaringan akhir yang terbentuk adalah osteoid, yang merupakan bahan seperti tulang rawan namun berbeda dengan tulang rawan karena garam kalsium akan segera mengendap di dalamnya. Sewaktu osteoid terbentuk, beberapa osteoblas terperangkap dalam osteoid dan selanjutnya disebut sebagai osteosit.

Dalam waktu beberapa hari sesudah osteoid terbentuk, garam-garam kalsium mulai mengendap pada permukaan serat-serat kolagen. Pengendapan mula-mula tampak pada interval di sepanjang setiap serat kolagen, membentuk sarang-sarang kecil yang dengan cepat memperbanyak diri dan tumbuh dalam beberapa hari dan beberapa minggu sehingga membentuk hasil akhir, yakni kristal hidroksiapatit.

Garam kalsium yang pertama diendapkan bukan kristal hidroksiapatit tetapi senyawa amorf (bukan kristal), yang mungkin merupakan campuran beberapa garam seperti $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

$3H_2C$ dan lain-lain. Selanjutnya melalui proses substitusi dan penambahan atom-atom, atau melalui proses reabsorpsi dan pengendapan kembali, garam-garam ini diubah menjadi kristal hidroksiapatit dalam waktu beberapa minggu atau beberapa bulan. Namun beberapa persen tetap dalam bentuk amorf. Keadaan ini penting sebab dengan demikian seluruh garam ini dapat dengan cepat diabsorpsi sewaktu diperlukan tambahan kalsium dalam cairan ekstraseluler.

Masih belum diketahui apa yang menyebabkan garam-garam kalsium diendapkan dalam osteoid. Salah satu teori menyatakan bahwa pada saat pembentukan, serat-serat kolagen secara khusus tersusun dahulu untuk menyebabkan pengendapan garam kalsium. Osteoblas diduga juga menyekresikan suatu bahan ke dalam osteoid guna menetralkan zat penghambat (yang diyakini adalah pirofosfat) yang normalnya mencegah proses kristalisasi hidroksiapatit. Sekali pirofosfat telah dinetralisasi, afinitas asli dari serat kolagen terhadap garam kalsium diduga menyebabkan pengendapan. Teori ini didukung oleh kenyataan bahwa selain tulang, serat-serat kolagen yang didapat dari jaringan tubuh lain juga menyebabkan timbulnya pengendapan hidroksiapatit plasma (Guyton, 1997 dan Keeley, 1997).

Jika di dalam hasil penelitian tulang yang terbentuk tidak berwarna merah atau tidak terwarnai oleh Alizarin Red S, hal ini karena Ca yang ada di dalam tulang digantikan kedudukannya oleh Pb. Kedua ion tersebut baik Ca maupun Pb mempunyai valensi yang sama yaitu 2^+ . Di samping

itu Alizarin Red S tidak bisa mengikat Pb, karena Alizarin Red S hanya mempunyai afinitas yang tinggi terhadap Ca. Menurut Lu (1995) penimbunan Pb di dalam tulang terjadi dengan cara penyerapan silang antara Pb dalam cairan interstisial dan kristal hidroksiapatit dalam mineral tulang, karena ukuran dan muatan yang sama Ca digantikan oleh Pb. Guyton (1997) menyatakan bahwa logam berat misalnya Pb mempunyai kemampuan untuk berkonjugasi dengan kristal tulang, meskipun Pb secara normal merupakan bahan asing terhadap tulang.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang efek toksik timah hitam terhadap morfologi janin mencit dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Pemaparan Pb menurunkan jumlah implantasi, jumlah janin hidup, jumlah janin mati, jumlah resorpsi, berat badan baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu.
2. Pemaparan Pb menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis pada organ hati dan ginjal baik ditinjau dari variasi dosis maupun variasi waktu.
3. Pemaparan Pb menurunkan panjang janin dan jumlah sel Purkinje baik ditinjau dari variasi dosis, variasi waktu maupun interaksi antara variasi dosis dan variasi waktu.
4. Pemaparan Pb dengan variasi dosis tertentu dapat menyebabkan terjadinya kelainan tulang pada janin mencit.

7.2 Saran

Mengingat pemaparan Pb menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan dan kelainan histopatologis terhadap janin kiranya perlu disarankan kepada masyarakat agar lebih berhati-hati dalam

mengonsumsi makanan dan minuman yang mengandung Pb. Himbauan disampaikan pula kepada para industrialis agar dalam aktifitasnya lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb.

DAFTAR PUSTAKA

- Amsyari, F, 1995. Dasar-dasar dan Metode Perencanaan Lingkungan dalam Pembangunan Nasional. Widya Medika, Jakarta.
- Amsyari, F, 1996. Membangun Lingkungan Sehat. Airlangga University Press, Surabaya.
- Anonymous, 1996. Bahan-bahan Berbahaya dan Dampaknya Terhadap Kesehatan Manusia. Jilid I. Sub Proyek Analisis Dampak Kesehatan Lingkungan. Proyek Kesehatan Lingkungan Bantuan UNDP INS/91/019. Depkes RI.
- Annest JL, JL. Pirkle, D. Makuc, JW. Neese, DD. Bayse and MG. Kovar, 1983, N. Engl. J. Med. 308: 1373.
- Anonymous, 1999. Pedoman Penulisan Usulan Penelitian Tesis Desertasi. Program Pasca Sarjana, Surabaya.
- Batuman, V, E. Landy, JK Maesaka, and RP Weeden, 1983. N. Eng. J. Med. 309:17.
- Bonde JP, 1993. Occupational medical research of male reproductive capacity. Ugeskr-Laeger. Apr 5; 155 (14) : 1029-37.
- Bryce Smith D., 1971. Lead Pollution - a growing hazard to public health. Chem. In Britain. 7 : 54-56.
- Buat Menard P. and RA Duce, 1987. "Metal transfer across the air sea interfacia : Myths dan Mysteries". In Lead, Mercury, Cadmium, and Arsenic in the Environment, Hutchinson and Meema (Ed). John and sons.
- Buerger T.T, 1984. Effects of lead in the heme biosynthetic pathway". Auburn Veterinarian, 39(3): 72-73.
- Byers RK and EE Lord, 1953. Late effects of lead poisoning on mental development. American J. of Disease of Children 66:471-494.
- Clarkson TW, 1987. Metal toxicity in the central nervous system. Environ. Health Perspect. 75: 59-64.

- Cornell. DW dan Miller GJ, 1995. Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran. UI Press, Jakarta.
- Darmono, 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. UI Press, Jakarta.
- Djajakusuma H, 1992. Pengamatan Efek Teratogenik Sinar X pada Fetus Mencit. Thesis Pasca Sarjana UNAIR. Surabaya.
- Edens et el, 1976. Effect of dietary lead on Reproductive performance in Japanese quail *Coturnix japonica*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 38:307-314.
- Egan H, 1972. Conference on lead in the Environment, london.
- Fardiaz S, 2000. Polusi Air dan Udara. Kanisius, Yogyakarta.
- Fuentes M, 1996. Placental effects of lead in mice placenta. Jul-Aug; 17(5-6):371-6.
- Gad SC and Chengelis CP, 1992. Animal Models In Toxicology. Marcell Dekker, New York.
- Goering PL, Mistry P, and Fowler BA, 1987. Mechanism of metal toxicity. In : Handbook of Toxicology. Eds. Tj. Haley and WO Berndt. New York. Hemisphere.
- Goyer RA, 1986. Toxic effects of metals. In : Casareth and Doull's Toxicology. Eds. CD. Klassen, M.O. Amdur, and J Doull. New York. Macmillan.
- Goyer RA, 1995. Nutritional and Metal Toxicity. Am. J. Clin. Nutr. Mar; 61(3 suppl.) 646-650.
- Hayer BF, JP Harwood and RW Thatcher. 1981. In Trace element metabolism in man and animals (TEMA-4). Howell, J. Mc. C., JM. Gawthorne and CL White (ed.). Australian Academy of Science, Canberra. p-407.
- IARC, 1980. Monograph on the Evaluation of the Cardinogenic Risks of Chemicals to Humans Some Metals and Metallic compound. Vol 23. Lyon, France : International Agency for Research on Cancer.

- Jasin M, 1984. *Sistematik Hewan (Invertebrata dan Vertebrata)*. Sinar Wijaya, Surabaya.
- Jaworski JK, 1987. *The Effects of Lead in the Canadian Environment*. Ottawa - Canada : National Research Council. Canada.
- Kendall RJ, 1983. *Toxic. Substances in the Environment*. 2nd edition, Publishing Company Dubuque Iowa.
- Khoeman JH, 1987. *Pengantar Umum Toksikologi*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Klein et al, 1994. Lead Poisoning in Pregnancy. *Press-Med*. Mar 26; 23(12): 576-80.
- Longman J, 1985. *Medical Embryology* 3rd ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Lee JD, 1994. *Concise Inorganic Chemistry* 4th ed. Chapman and Hill, London.
- Leeson, 1995. *Buku Ajar Histologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGL Jakarta.
- Linder MC, 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. UI Press, Jakarta.
- Lockitch G, 1993. Perspective on lead toxicity *Clinical Biochem*. 26(5); 371-81.
- Lu FC, 1995. *Toksikologi Dasar. Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. UI Press, Jakarta.
- Mahaffey KR, JF Rosen, RW Chesney, JT Peeler, CM Smith and HF Deluca, 1982. *Am. J. Clin. Nutr.* 35:1327.
- Mantovani A, 1993. Prenatal risk deriving from environmental chemicals. *Ann-1st- Super- Sanita*; 29(1): 47-55
- Masjkur, 1994. *Pemantauan Biologk Pencemaran Lingkungan*. PKB. Hal. 120-124.
- Mc Elroy AD, Chiusy, Nebgen JW, Aleti A, and Vandegrift E, 1975. Water polluton from non point sources. *Water Res.* 9, 675.

- Mc Murry et al, 1995. Sensitivity of Selected Immunological, Haematological and Reproductive Parameters in the Cotton Rat (*Sigmodon hispidus*) to Subchronic Disease.
- Mills AL, 1971. Lead in the environment. *Chemistry in Britain* 7: 160-163.
- Monie IW, 1996. Influence of the Environment on the Unborn. In Bresler, Jack B., ed., *Human Ecology*. Ontario : Addison Wesley Lint. P. 303-311
- Mueller JA, Anderson AR, Jeris JS, 1976. Contaminants entering the New York Bight sources, mass loads, significance. *Am. Soc. Limnol. Oceanogr. Spec. Symp.* 2, 162.
- Needleman HL, C Gunnoe, A Leviton, R Read, H Pressie, C Maher and P Barret, 1979. Defisit on psichologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels, *New England J. of Medicine*, 300:689-695.
- Needleman HL, A Schell, D Bellinger, A Leviton and EN Allved, 1980, The Longterm effects of exposure to low doses of lead on childhood: An 11 year follow up report, *New England J of Medicine* 322:83-88.
- Noback CR dan Demarest RJ, 1995. *Anatomi Susunan Saraf Manusia Prinsip-Prinsip Dasar Neurobiologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta.
- Ottaway JH, 1980. *The Biochemistry of Pollution*. The Institute of Biologys Studies in Biology no. 123. Edward Arnold, London.
- O'Rahilly R and Fabiola, M, 1992. *Human Embryology*. A John Willey & Sons, Inc., Publication, New York.
- Pacyna, JM, 1983. "Trace element emission from anthropogenic sources in Europe, Technical report 10/1982", The Norwegian Institute of Air Research, Villstrom, Norway.
- Palar. H, 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Partodihardjo S, 1980. *Ilmu Kedokteran Hewan*. Penerbit Mutiara. Jakarta.

- Peterson PJ and BJ Alloway, 1979. "Cadmium on soils and vegetation". In *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*, Webb (ed). Holland Elsevier Biomedical Press.
- Petit TL and DP Alfano, 1983. "Neurobiological and behavioral effects of lead". Dalam : *Neurobiology of Trace Elements: Neurotoxicology and Neuropharmacology*, Vol. 2 : Dreosti and Smith (Ed) Humana Press, Clifton New York, p. 97-139.
- Rabinowitz ME, Wetherill GW, Kopple JD, 1973. *Lead Metabolism in the Normal Human*. Stable Isotop Studies Science, p. 725-728.
- Rasile et al., 1995. Cross Generation Lead Ingestion, behavioral and Physiological Effect in Mice. *Research Bulletin*, p. 5.
- Ressang A.A., 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Denpasar Bali Castle Disease Investigation Unit.
- Robbins, 1994. *Buku Ajar Patologi I Edisi 4*. Penerbit Buku Kedokteran EGL Jakarta.
- Robbins, 1999. *Buku Saku Dasar Patologi Penyakit*. Edisi 5. Penerbit Buku Kedokteran EGL Jakarta.
- Rough, 1968. *The Mouse : Its Reproduction and Development*.
- Sanderson RT, 1971. *Inorganic Chemistry*. Affiliated East West Press. PVT. LTD, New Delhi.
- Schardein JL, Schwartz BB, and Kenel MF, 1985. Species sensitivities and prediction of teratogenic potential. *Environ. Health Persp.* 61: 55-62.
- Schaumburg I, 1993. Significance of occupational factors for women's fertility and menstrual cycles. *Ugeskr-Laeger-Apr.* 5; 155(14):1024-9.
- Setokoesoemo BR, 1986. *Masalah Pengaruh Lingkungan pada Perkembangan Embrio*. Pidato Pengukuhan Peresmian Penerimaan Jabatan Guru Besar Mata Pelajaran Anatomi dan Histologi. Fakultas Kedokteran. Unair, Surabaya.
- Siswanto A, 1994. *Toksikologi Industri*. Balai Hiperkes dan Keselamatan Kerja Jatim. Depnaker.

- Slamet JS, 1996. Kesehatan Lingkungan. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Smith JB, 1988. Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. UI Press, Jakarta.
- Sobotka JM and Rahwan RG, 1995. Teratogenesis induced by short and long term exposure of *Xenopus laevis* progeny to lead. J. Toxicol. Environ. Health. Apr; 44(4): 469-84.
- Sokol RZ, Maddinmg CE, Swerloff RS, 1985. Lead toxicity and the hypothalamic pituitary testicularaxis. Biology of Reproduction 33:722-728.
- Stoker HS, Seager SL, 1972. Environmental Chemistry : Air and Water Pollution. Scott, Foresman and Co, London.
- Sudarmaji, 1999. Pengaruh Logam Berat Pb dalam Kupang Terhadap Kesehatan Nelayan di Pantai Kenjeran Surabaya. Lemlit. Unair Surabaya.
- Sulaksono E, 1988. Peranan, Pengelolaan dan Pengembangbiakan Hewan Percobaan. Pusat Penelitian Penyakit Menular. Badan Penelitian dan Pengembangan kesehatan. Depkes RI, Jakarta.
- Supriyanto I dan A Lubis, 1988. "Kandungan logam berat dalam sumber air minum di DKI Jakarta", Bull. Penel. Kesehatan. 16(2): 20-25.
- Timbrell TH, 1983. Catalog of Teratogenic Agents, 4th ed. Baltimore : Johns Hopkins University Press.
- Thurau K, Beyland JW, and Mason J, 1979. Patophysiology of Acute Renal Failure. Dikutip oleh D Black and NF Jones. Ed. Renal Disease. Blackwell Scientific Publication, London, p.64-88
- Underwood EJ, 1977. Trace elements in human and animals nutrition (edisi ke-4). Academic, New York.
- Underwood JCE, 1999. Patologi Umur dan Sistemik. Penerbit Buku Kedokteran EGL Jakarta.
- Wardhana WA, 1996. Radioekologi. Andi, Yogyakarta.

- Wilson JG, 1965. Methods administering agents and detecting malformations in experimental animal. In : Teratology : Principles and Techniques. Eds. JG Wilson and J Warkany. Chicago. university of Chicago Press.
- Winder C, 1993. Lead, reproduction and development. Neurotoxicology. Summe Fall; 14(2-3), 303-17.
- Wittman GTW, 1979. "Toxic Metals". Dalam V. Forstner and GTW Wittman, (Eds), Metal Pollution in the Aquatic Environment-Springer-Verlag, Berlin, hal. 3.
- WHO, 1977. Lead. Environmental Health Criteria 3. Genewa.
- WHO, 1980. Recommended Health-Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals. Technical Report Series. 647-World Health Organization, p. 37-76.
- WHO, 1989. Lead Environmental Aspect. Environmental Health Criteria 85. World Health Organization, Genewa, p. 14-38, 64-79.
- Yatim W, 1990. Reproduksi dan Embriologi. Tarsito, Bandung.
- Zhang et al, 1997. The evaluation of developmental toxicity of chemicals exposed occupatioall using whole embryo culture. Int-J-Dev-Biol. Apr; 41(2):275-82.
- Zainuddin M, 1995. Metodologi Penelitian. Unair, Surabaya.

LAMPIRAN 1

**METODE PEWARNAAN UNTUK PENGAMATAN
KELAINAN TULANG**

1. Janin difiksasi dalam alkohol 96 % selama 1 minggu.
2. Kemudian janin direndam dalam larutan KOH 1 % selama 1-2 hari sampai otot terlihat transparan.
3. Janin dipindahkan kedalam larutan 0,005 % alizarin red S dalam larutan KOH 1 % dan dibiarkan sampai tulang-tulang berwarna merah.
4. Janin direndam dalam KOH 1 % kemudian dijernihkan dalam larutan campuran KOH 1 % dan gliserin secara berturut-turut.
 - a. KOH : Gliserin 3 : 1 selama 1 hari
 - b. KOH : Gliserin 1 : 1 selama 1 hari
 - c. KOH : Gliserin 1 : 3 selama 1 hari
5. Janin disimpan dalam gliserin 100 %

LAMPIRAN 2

**METODE PEMBUATAN PREPARAT HISPATOLOGIS
UNTUK PENGAMATAN KELAINAN HEPAR DAN GINJAL**

1. Hepar yang telah diambil dari fetus mencit difiksasi dengan larutan formalin 10 % selama 24 jam, kemudian dipotong sesuai dengan irisan yang diinginkan, lalu masukkan kembali kedalam fiksasi dalam jangka satu jam.
2. Setelah itu bahan dicuci dengan air mengalir selama 1 jam dilanjutkan dengan alkohol 50 % (2 kali), lalu dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat mulai alkohol 70 %, 80 %, 95 % dan absolut, masing-masing selama 1,5 jam dengan jalan merendam. Bahan kemudian dipindahkan kedalam campuran alkohol absolut dengan xylol dengan perbandingan 1 : 1 selama 30 menit, kemudian dipindahkan kedalam parafin murni I, II, III, masing-masing selama 1 jam, didalam oven dengan suhu 60⁰C (di atas titik cair parafin) kemudian ditempatkan pada gelas obyek yang telah diolesi perekat dengan albumin.
3. Setelah kering dalam temperatur kamar, preparat kemudian diletakkan dalam campuran xylol-alkohol absolut dengan perbandingan 3:1; 1:1; 1:3 masing-masing selama 2 menit. Kemudian preparat dimasukkan kedalam alkohol menurun mulai dari 95%, 80%, 70%, 50% masing-masing selama 1 menit, kemudian dilakukan

pengecatan dengan larutan hematoksilin selama 3 menit, lalu dicuci dengan air mengalir selama 10 menit dan aquadest 10 menit. Preparat lalu dipindahkan kedalam alkohol bertingkat mulai dari alkohol 30%, 50%, 70%, yang masing-masing selama 1 menit kemudian dilakukan pengecatan pembanding (counter stain) dengan 0,5% eosin dalam alkohol 70% selama 20 menit.

4. Preparat lalu dimasukkan kedalam alkohol 70%, 80%, 95% dan absolut masing-masing selama satu menit. Preparat kemudian dimasukkan kedalam campuran xylol-alkohol dengan perbandingan 1:3, 1:1 dan 3:1 masing-masing selama 2 menit.
5. Setelah itu preparat dimasukkan kedalam xylol murni selama 5 menit dilakukan 2 kali dan preparat diangkat dari xylol lalu dibersihkan dan ditutup dengan gelas penutup menggunakan bahan perekat canada balsem atau entelan. Langkah yang paling akhir diberi label dan dikeringkan dalam suhu kamar. Setelah 24 jam kemudian siap untuk diamati.



LAMPIRAN 3

**METODE PEMBUATAN PREPARAT HISTOLOGIS
UNTUK PENGAMATAN KELAINAN OTAK**

Otak yang akan dibuat sediaan histologis dicuci dengan NaCl fisiologis.

Cara pembuatan sediaan histologis dilakukan melalui beberapa tahap kerja sebagai berikut :

1. Fiksasi dilakukan dengan menguraikan formalin 10%

2. Dehidrasi

Merendam otak kedalam alkohol 70% diganti beberapa kali sampai warna larutan fiksasi hilang, alkohol 85% selama 2 jam, alkohol 95% selama 2 jam, alkohol 100% selama 1 jam.

3. Clearing

Memasukkan otak kedalam campuran alkohol 100% dan xylol dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit, kemudian otak direndam dalam xylol selama 30 menit tiga kali.

4. Infiltrasi

Mula-mula otak dimasukkan kedalam campuran parafin cair dan xylol dengan perbandingan 1:1 pada suhu 65⁰ C selama 30 menit. Kemudian jaringan otak dimasukkan kedalam parafin murni (dalam bentuk cairan) dengan suhu 65⁰C tiga kali masing-masing selama 30 menit.

5. Embedding

Pencetakan otak dengan parafin cair panas yang dituangkan kedalam cetakan besi berbentuk kubus. Otak dimasukkan kedalamnya dengan posisi yang diatur sebaik mungkin, dianginkan sehingga parafin menjadi beku.

6. Trimming

Dikrepis menjadi cetakan yang rapi untuk mempermudah proses pemotongan dengan mikrotom

7. Pemotongan

Memotong cetakan parafin dengan mikrotom dengan tebal sayatan sekitar 8 mikrotom.

8. Mounting

Meletakkan sayatan hasil pemotongan pada kaca sediaan dengan menggunakan perekat campuran asam cuka : albumin : aquadestila = 1:1:5.

9. Deparafinasi

Mula-mula dimasukkan kedalam larutan xylol 1 menit, dua kali agar sisa parafin larut, kemudian dimasukkan kedalam alkohol berurutan dari alkohol 100% satu menit, dua kali, alkohol 95% satu menit, dua kali, alkohol 85% satu menit, alkohol 70% satu menit, alkohol 50% satu menit.

10. Hidrasi

Cuci dengan aquadesiitilata selama 10 menit.

11. Pewarnaan

Sediaan dimasukkan kedalam hematoxilyn selama lima menit, setelah itu dicuci dengan air ledeng selama 5-10 menit, masukkan dalam eosin 1% selama satu menit, kemudian cuci dengan air ledeng selama beberapa detik

12. Dehidrasi

Merendam kembali sediaan secara berurutan, masing-masing kedalam larutan alkohol 70% beberapa detik, alkohol 85% selama beberapa detik, alkohol 95% selama satu menit, dua kali, alkohol 100% satu menit, dua kali.

13. Clearing

Kemudian direndam dalam larutan xylol, satu menit, dua kali sambil dibersihkan

14. Mounting

Merupakan satu proses melekatkan kaca penutup jaringan otak (cover glass) diatas kaca sediaan. Mula-mula perekat balsam kanada diteetskan secukupnya diatas jaringan otak yang terdapat paad kaca sediaan. Kemudian dengan posisi miring dan hati-hati kaca penutup jaringan ditempelkan diatasnya dan dijaga agar tidak ada gelembung udara masuk disela-sela antara dua kaca tersebut. Sisa-sisa perekat yang berasal dari sediaan dibersihkan agar cepat kering dan sediaan dianginkan selama 24 -48 jam.

15. Labelling

Masing-masing sediaan diberi label sesuai dengan nomor urut sampel.

Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis.

Lampiran 4. Data Penelitian

Tabel 1. JUMLAH IMPLANTASI

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	10	10	10	8	9	7
	2	14	12	10	7	7	8
	3	10	12	10	8	8	8
	4	10	13	11	10	10	9
	5	9	11	10	9	6	9
	6	12	11	9	9	9	9
W2	1	13	10	9	7	7	10
	2	12	13	10	7	7	7
	3	12	10	9	8	9	8
	4	10	12	11	9	11	8
	5	11	11	10	10	7	8
	6	14	11	9	9	9	10
W3	1	11	9	10	8	8	10
	2	13	12	11	9	9	11
	3	10	10	8	7	9	10
	4	11	11	8	9	10	10
	5	11	13	9	9	8	8
	6	14	12	10	7	12	11

Tabel 2. JUMLAH JANIN HIDUP

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	10	10	8	4	4	2
	2	14	12	9	3	2	3
	3	10	12	9	5	3	2
	4	10	13	11	5	4	3
	5	9	10	8	4	4	3
	6	12	11	8	6	5	2
W2	1	13	9	5	3	2	3
	2	12	13	5	3	2	2
	3	12	10	8	4	3	1
	4	10	11	9	4	4	1
	5	11	10	7	5	3	2
	6	14	10	5	4	4	1
W3	1	11	5	6	3	2	0
	2	13	10	7	3	3	1
	3	10	8	5	2	2	1
	4	11	8	5	3	3	1
	5	11	9	6	3	2	2
	6	14	8	6	2	1	1

Tabel 3. JUMLAH JANIN MATI

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	1	2	4	2
	2	0	0	0	3	3	3
	3	0	0	0	2	4	3
	4	0	0	0	3	3	2
	5	0	1	2	4	4	4
	6	0	0	1	3	1	6
W2	1	0	1	2	3	3	6
	2	0	0	4	3	4	5
	3	0	0	0	2	4	3
	4	0	1	2	4	3	4
	5	0	0	1	3	3	6
	6	0	0	3	3	3	2
W3	1	0	3	2	3	3	0
	2	0	2	4	4	3	4
	3	0	1	2	4	4	3
	4	0	1	2	4	2	7
	5	0	2	1	4	4	2
	6	0	3	2	4	5	6

Tabel 4. JUMLAH RESORPSI

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	1	2	1	3
	2	0	0	1	1	2	2
	3	0	0	1	1	1	3
	4	0	0	0	2	3	4
	5	0	0	0	1	1	2
	6	0	0	0	1	3	1
W2	1	0	0	2	1	2	2
	2	0	0	1	1	1	2
	3	0	0	1	2	2	3
	4	0	0	0	1	4	1
	5	0	1	2	2	1	4
	6	0	1	1	2	2	8
W3	1	0	1	2	2	3	10
	2	0	0	0	2	3	6
	3	0	1	1	1	3	6
	4	0	2	1	2	5	2
	5	0	2	2	2	2	4
	6	0	1	2	4	6	4

Tabel 5. RATA-RATA BERAT BADAN JANIN

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	1,32	1,21	0,86	0,70	0,59	0,48
	2	1,34	1,25	0,89	0,75	0,58	0,49
	3	1,31	1,29	0,90	0,80	0,56	0,53
	4	1,40	1,22	0,94	0,74	0,56	0,49
	5	1,42	1,22	0,92	0,74	0,55	0,52
	6	1,37	1,23	0,97	0,73	0,54	0,51
W2	1	1,33	1,20	0,88	0,69	0,54	0,51
	2	1,31	1,20	0,89	0,65	0,54	0,47
	3	1,38	1,18	0,90	0,70	0,53	0,52
	4	1,35	1,14	0,91	0,73	0,52	0,48
	5	1,37	1,23	0,87	0,72	0,51	0,50
	6	1,35	1,25	0,86	0,62	0,55	0,39
W3	1	1,41	1,15	0,81	0,71	0,50	0,30
	2	1,39	1,17	0,82	0,68	0,49	0,33
	3	1,38	1,17	0,83	0,63	0,53	0,31
	4	1,35	1,16	0,83	0,70	0,51	0,31
	5	1,34	1,20	0,84	0,71	0,51	0,32
	6	1,40	1,18	0,85	0,66	0,52	0,34

Tabel 6. RATA-RATA PANJANG JANIN MENCIT

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	3,00	2,90	2,50	2,40	2,10	1,90
	2	3,10	2,90	2,60	2,10	2,00	1,90
	3	3,10	2,80	2,40	2,30	1,90	1,80
	4	3,20	2,70	2,60	2,30	1,80	1,70
	5	3,30	2,50	2,60	2,20	1,80	1,90
	6	3,20	2,60	2,50	2,20	1,70	1,80
W2	1	2,90	2,60	2,50	2,10	1,70	1,50
	2	2,80	2,60	2,50	2,30	1,60	1,50
	3	3,20	2,80	2,50	2,20	1,60	1,70
	4	3,10	2,70	2,40	2,10	1,50	1,60
	5	3,30	2,50	2,70	2,10	1,50	1,60
	6	3,20	2,40	2,40	2,20	1,60	1,50
W3	1	3,10	2,50	2,40	2,10	1,50	1,10
	2	3,10	2,50	2,40	2,20	1,50	1,20
	3	3,20	2,40	2,50	2,10	1,40	1,00
	4	3,30	2,30	2,40	2,00	1,40	1,30
	5	2,70	2,70	2,50	2,20	1,60	1,20
	6	2,90	2,80	2,30	2,10	1,70	1,10

Tabel 7. PENGAMATAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS DEG. BENGGAK KERUH JANIN MENCIT ORGAN PADA ORGAN HATI

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	1	2	2	3
	2	0	0	1	2	2	3
	3	0	0	1	2	2	3
	4	0	0	1	2	2	3
W2	1	0	1	2	3	3	3
	2	0	1	2	3	3	3
	3	0	1	2	3	3	3
	4	0	1	2	3	3	3
W3	1	0	2	3	3	3	3
	2	0	2	3	3	3	3
	3	0	2	3	3	3	3
	4	0	2	3	3	3	3

Tabel 8. PENGAMATAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS NEKROSIS JANIN MENCIT ORGAN PADA ORGAN HATI

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	1	2	2	3
	2	0	0	1	2	2	3
	3	0	0	1	2	2	3
	4	0	0	1	2	2	3
W2	1	0	1	2	3	3	3
	2	0	1	2	3	3	3
	3	0	1	2	3	3	3
	4	0	1	2	3	3	3
W3	1	0	2	3	3	3	3
	2	0	2	3	3	3	3
	3	0	2	3	3	3	3
	4	0	2	3	3	3	3

Tabel 9. PENGAMATAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS DEG. BENGGAK KERUH PADA ORGAN GINJAL

(W)	ULANGAN	DOSIS					
WAKTU		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	1	2	1	1
	2	0	0	1	1	1	1
	3	0	0	1	1	2	2
	4	0	0	1	1	1	2
W2	1	0	1	1	2	1	2
	2	0	1	1	1	2	2
	3	0	1	1	1	2	1
	4	0	1	2	2	2	2
W3	1	0	1	1	2	2	2
	2	0	2	2	2	1	2
	3	0	1	1	2	2	2
	4	0	1	1	1	2	2

Tabel 10. PENGAMATAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS NEKROSIS PADA ORGAN GINJAL

(W)	ULANGAN	DOSIS					
WAKTU		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0	0	0	1	1	1
	2	0	0	0	1	1	1
	3	0	0	1	1	1	2
	4	0	0	1	1	1	2
W2	1	0	1	1	2	1	1
	2	0	0	1	1	2	2
	3	0	1	1	1	1	1
	4	0	0	1	1	2	1
W3	1	0	1	1	2	2	2
	2	0	1	2	1	1	2
	3	0	1	2	2	1	2
	4	0	1	1	1	2	2

Tabel 11. PERSENTASE KELAINAN RANGKA

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	0%	0%	0%	0%	0%	100%
	2	0%	0%	0%	0%	0%	100%
	3	0%	0%	0%	0%	0%	100%
	4	0%	0%	0%	0%	0%	0%
W2	1	0%	0%	0%	0%	0%	33.33%
	2	0%	0%	0%	0%	0%	100.00%
	3	0%	0%	0%	0%	0%	100.00%
	4	0%	0%	0%	0%	25%	0.00%
W3	1	0%	0%	0%	0%	33.33%	100.00%
	2	0%	0%	0%	0%	100%	100.00%
	3	0%	0%	0%	0%	0%	100.00%
	4	0%	0%	0%	0%	0%	100.00%

Tabel 12. JUMLAH SEL PURKINYE

(W) WAKTU	ULANGAN	DOSIS					
		D0	D1	D2	D3	D4	D5
W1	1	53	32	29.0	25.0	21.0	13.6
	2	49	32	28.0	24.0	18.4	15.0
	3	52	34	30.0	24.0	17.6	14.6
	4	47	35	31.0	23.0	19.4	14.6
W2	1	51	32	29.0	23.0	19.2	11.6
	2	48	31	26.0	21.0	16.6	12.2
	3	47	31	27.0	19.0	15.2	11.2
	4	49	30	26.0	20.8	15.2	12.6
W3	1	50	31	25.0	20.0	16.0	10.0
	2	50	30	27.0	19.0	14.2	10.0
	3	48	30	26.0	16.6	14.2	11.2
	4	46	32	26.0	16.2	14.6	11.2