

TESIS

ANALISIS PERUBAHAN RESPONS IMUN MUKOSA MULUT TIKUS PUTIH JENIS WINSTAR AKIBAT PEMBERIAN PLUMBUM ASETAT PER ORAL

(PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS)



DIAH SAVITRI ERNAWATI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2000

**ANALISIS PERUBAHAN RESPONS IMUN MUKOSA MULUT
TIKUS PUTIH JENIS WINSTAR AKIBAT PEMBERIAN
PLUMBUM ASETAT PER ORAL
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS)**



TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Immunologi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

**DIAH SAVITRI ERNAWATI
NIM. 099712639 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2000

Tanggal 15 Agustus 2000

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 15 AGUSTUS 2000**

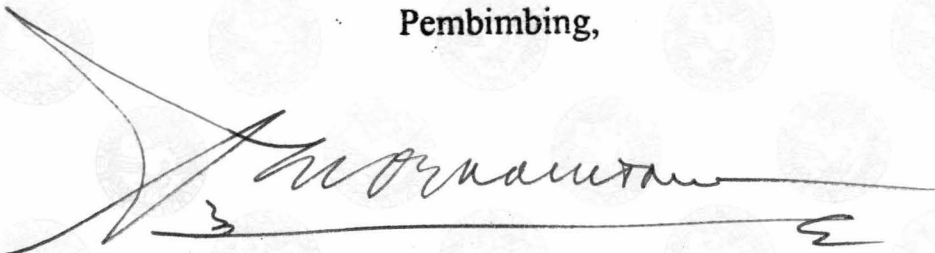
Oleh :

Pembimbing Ketua,



Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK

Pembimbing,



Prof. Soegeng Soekamto M., dr., M.S, Sp.PA, MIAP., Ph.D.

Mengetahui :

**Ketua Program Studi Immunologi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga,**



Dr. Fedik A. Rantam, drh.

Telah diuji pada :
Tanggal 15 Agustus 2000
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Fedik A. Rantam, drh.

Anggota : 1. Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK.

2. Prof. Soegeng Soekamto M., dr., M.S, Sp.PA, MIAP, Ph.D.

3. Dr. Boedihardjo, drg., M.Sc.

4. H. Kuntoro, dr. MPH., Dr.PH.

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukhur Alhamdulillah di panjatkan ke hadirat Allah Subhanallah Wa Taa'ala, atas selesainya tesis ini. Terima kasih yang tulus kepada semua pihak, baik lembaga maupun perorangan yang telah membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini, khususnya ucapan terima kasih ditujukan kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Airlangga, dan Direktur Program Pascasarjana yang telah menerima dan memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program magister di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
2. Almarhum Prof. Dr. Noor Rahman, dr selaku mantan Ketua Program Studi Imunologi yang telah banyak membantu dalam pengarahan, tambahan wawasan keilmuan serta mengatasi segala hambatan yang timbul selama menempuh pendidikan ini.
3. Prof. Atasiati Idajadi, dr, DSMK, selaku pembimbing ketua yang telah banyak membantu saya dalam pengarahan dan wawasan keilmuan serta mengatasi segala hambatan yang timbul selama pelaksanaan penelitian ini.
4. Prof. Soegeng Soekamto M., dr. MS, Sp.PA, Ph.D., selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan pengarahan dan tambahan wawasan ilmu, khususnya Imunohistokimia. Juga atas waktu yang telah diberikan untuk membimbing, mengoreksi serta

memberikan saran dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis ini.

5. Dr. drh. Fedik Abdul Rantam, selaku Ketua Program Studi Immunologi yang telah memberikan saran dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis ini.
6. Dr. Boedihardjo, drg., M. Sc., Sp. Perio selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya dan selaku penguji yang turut banyak memberikan pengarahan dan koreksi dalam pelaksanaan dan penulisan tesis ini.
7. Kuntoro, dr, MPH, DR.PH selaku penguji dan sebagai konsultan statistik yang memberikan waktu untuk diskusi dan masukan yang berharga untuk penulisan tesis ini.
8. Isidora Karsini S., drg., MS., Sp.PM selaku Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Unair yang telah memberikan ijin dan kesempatan untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
9. Dra. Tania A. Harijadi , Ms. Theresia Indah Budhy S., drg, M. Kes: Drs. Yosep Papagaya, M. Kes: Dra. Manik, M. Kes, Dra. Lava dan Drs. Supeni, M. Kes terima kasih atas kebaikan dan bantuan serta saran yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian.

10. Ayahanda Almarhum dan Ibu atas kasih sayang yang diberikan selama ini, yang telah membesarkan dan mendorong saya dalam mencapai cita-cita serta berdo'a kepada bapak dan ibu mertua.
11. Suami saya tercinta, W. Budi Nugroho, Ir dan anak-anak tersayang Dita, Dimas, Ivan yang setia mendampingi saya dan sangat penuh pengertian dan pengorbanan atas segala kesibukan dalam mengikuti pendidikan ini juga tak pernah lupa untuk selalu berdo'a kepadanya.
12. Kepada semua pihak dan handai taulan serta kawan dan sejawat yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah ikut membantu dan memberikan dorongan dan do'a untuk segera menyelesaikan tesis ini.

Untuk semua itu, saya hanya bisa mengucapkan terima kasih dan meminta maaf atas sikap dan perkataan yang tidak pada tempatnya. Semoga Allah Subhanallah Waa Ta'ala melimpahkan rahmat dan karunianya kepada kita semua, serta amal ibadah mereka mendapatkan imbalan yang sesuai Amin.

Akhirnya saya persembahkan tesis ini kepada almamaterku Universitas Airlangga Surabaya, khususnya Fakultas Kedokteran Gigi Laboratorium Ilmu Penyakit Mulut Program Pascasarjana yang telah memberikan asuhan selama ini.

RINGKASAN

Penelitian mengenai pengaruh pemberian larutan plumbum asetat terhadap perubahan respon imun mukosa mulut tikus putih jantan strain winstar ini bertujuan untuk membuktikan perubahan respon imun mukosa mulut yang diindikasikan dengan variable makrofag, limfosit, dan imunoglobulin A.

Perubahan yang terjadi diharapkan dapat mengungkap imunopatogenesis yang terjadi di mukosa mulut sebagai akibat paparan Pb. Mekanisme yang terjadi diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah bagi upaya pencegahan paparan plumbum lebih lanjut untuk menghindari kerusakan fungsi tubuh karena keracunan Pb yang sudah parah dan irreversible.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Pendekatan yang digunakan berkonsep imunopatobiologi.

Operasionalisasi penelitian menggunakan 5 kelompok, kelompok pertama diberi larutan plumbum dengan konsentrasi 50 mg/kg BB perhari, kelompok kedua diberi larutan Pb dengan konsentrasi 100 mg/kg BB, kelompok ketiga diberi 200 mg/kg BB, kelompok keempat diberi 400 mg/kg BB perhari dan kelompok kontrol diberi aquadest. Larutan plumbum diberikan selama 8 minggu.

Empirifikasi data diperoleh dari perhitungan imunoglobulin A, makrofag dan limfosit pada sediaan histologik mukosa gingiva. Data yang diperoleh dilakukan analisis varians (Anova). Univariat dan multivariat kemudian untuk

mendapatkan perbedaan perlakuan antar kelompok dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pemberian larutan plumbum (Pb) pada ke 5 kelompok berbeda nyata (Wilk's Lambda $p = 0,000$ dan $p < 0,05$).

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa plumbum menurunkan respon imun di mukosa mulut tikus, yang diindikasikan oleh variabel IgA, makrofag dan limfosit. Penurunan ini sudah terjadi mulai dosis 50mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB.

Dalam upaya untuk mengungkap mekanisme pengaruh plumbum di mukosa mulut tikus disarankan untuk meneliti lebih lanjut perubahan komponen sistem imunologik mukosa mulut yang lain. Juga disarankan untuk meneliti secretory IgA yang dihasilkan sebagai akibat paparan larutan plumbum.

ABSTRACT

The purpose of this research concerning the effect of acetat plumbum solution on change in immune respons of the male white mouse' s oral mucosa of winstar strain is to prove any change in immune respons of oral mucosa indicated by macrofag, lymphocyte, and immunoglobulin A

Such change supposedly can reveal immunopathogenesis occuring in oral mucosa as result of Pb exposure. The underlying mechanism should become a scientific base to prevent further plumbum exposure to avoid any irreversible Pb toxicity.

This isolasi an experimental research using post test only control group design it employs an immunopathobiologybased approach. This research operetes 5 group. Group I isolasi administered a plumbum solution with concentration 50 mg/kg BW each day ; Group II isolasi administered Pb solution with concentration 100mg/kgBW ; Group III isolasi administered 200mg/kgBW ; Group IV isolasi administered 400mg/kgBW and control group isolasi administered an aquadest. The Plumbum solution administered for 8 weeks.

Data empirification isolasi derived from calculation of immunoglobulin A, macrofag and lymphocyte in gingiva mucosa histologic preparation. The data obtained are subject to variance analysis (Anova). The univariate and multivariate analyses are applied to find out the treatment differences among the group using the least significant differential test.

The result show that effect of Plumbum solution administered to the five group differs significantly (Wilk's lambda = 0,000 and $p < 0,05$). From this

research it can be concluded that plumbum reduced immune respons in mouse's oral mucosa indicated by Ig A, macrofag, and lymphocyte. This reduction has occurred at dose 50 mg/kgBW, 100mg/kgBW, 200 mg/kgBW and 400 mg/kgBW.

In effort to reveal the undrlying mechanism of plumbum effect in mouse's oral mucosa the further research needs to other oral mucosa immunologic system. It isolation also necessary to investigate secretory IgA as result of plumbum solution exposure.

Key Words: - Plumbum Acetate
- Mucosal Immune Respons
- Oral Mucosa.
- Immunoglobulin A, macrofag, lymphocyte

DAFTAR ISI

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	7

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karakteristik Plumbum	8
2.2. Penyerapan Plumbum dan Pengaruh pada kesehatan...	10
2.3. Pengaruh Plumbum pada sistim imunologik.....	14
2.4. Keracunan Plumbum pada Gingiva.....	15
2.4.1 Mikrosirkulasi Gingiva.....	15
2.4.2 Garis Timah Hitam (<i>Lead Line</i>).....	17
2.5 Respons Imun.....	18
2.6. Sistim Imunologik pada Mukosa Mulut.....	22
2.7 Secretory Immunoglobulin A.....	23
2.8 Mukosa Rongga Mulut.....	24
2.8.1 Gingiva.....	26
2.8.1.1 Anatomi dan Histologi Gingiva.....	26
2.8.1.2 Epitel Gingiva	26

2.8.1.3 Jaringan Ikat gingiva	28
2.8.1.4 Vaskularisasi Gingiva	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1. Kerangka Konseptual	31
3.2. Hipotesis Penelitian	34
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	35
4.2. Populasi dan Besar Sample	37
4.3 Unit analisis	38
4.4. Variabel Penelitian	38
4.4.1 Variabel bebas	38
4.4.2 Definisi operasi variabel	38
4.5. Bahan dan Alat Penelitian	39
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	40
4.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	41
4.7. 1 Hewan Coba	41
4.7.2 Prosedur Persiapan dan Pengumpulan Data	42
4.8 Analisis Data	42
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS	
5.1 Hasil Penelitian	44
5.2 Analisis Hasil Penelitian	46

BAB 6 PEMBAHASAN	52
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	62
7.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	63
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 Data Pengamatan hasil Penelitian.....	44
5.2 Rerata Jumlah IgA mukosa mulut tikus Akibat pemberian Pb asetat dengan variasi dosis.....	45
5.3 Rerata jumlah makrofag mukosa mulut tikus Akibat pemberian Pb asetat dengan variasi dosis.....	45
5.4 Rerata jumlah limfosit mukosa mulut tikus akibat Pemberian Pb asetat dengan variasi dosis.....	46
5.5 Hasil Analisis Anova Univariat pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah Ig A mukosa mulut tikus.....	47
5.6 Hasil uji BNT tentang pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah Ig A mukosa mulut tikus.....	48
5.7 Hasil Analisis Anova Univariat pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah Makrofag mukosa mulut tikus.....	48
5.8 Hasil uji BNT tentang pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah makrofag mukosa mulut tikus.....	49
5.9 Hasil Analisis Anova Univariat pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus.....	49
5.10 Hasil uji BNT tentang pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus.....	50
5.11 Hasil Analisis Anova Multivariat pemberian variasi dosis Pb asetat Terhadap jumlah IgA, Makrofag dan limfosit mukosa mulut tikus.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar :

2.1. Skema sistem Imun Adaptif	21
2.2. Diagram komponen lapisan epitel rongga mulut	25
2.3. Diagram Histologik Mukosa Gingiva	30
3.1. Kerangka Konseptual Penelitian	33
4.1. Skema Rancangan Penelitian	36
4.7. Tahapan Penelitian	43
5.1. Perbedaan Jumlah IgA , Makrofag dan Limfosit	51

Daftar Lampiran

Lampiran

- 1 Data berat badan tikus selama perlakuan
- 2 Data hasil perhitungan variable limfosit, makrofag dan Ig A
- 3 Preparasi sediaan histology
- 4 Proses pewarnaan imunohistokomia
- 4a Proses pewarnaan Hematoksilin eosin
- 5 Analisa statistik : Anova
- 6 Analisa statistik : BNT
- 7 Analisa statistik multivariate
- 8 Teknik penghitungan sel secara mikroskopik dengan menggunakan grateculae
- 9 Gambaran histology gingiva yang mengandung Ig A
- 10 Gambaran histology gingiva yang mengandung makrofag
- 11 Gambaran histology gingiva yang mengandung limfosit

BAB 1

PENDAHULUAN

1 span



Bab 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Pencemaran logam berat paling banyak berasal dari limbah industri, sebab senyawa logam berat sangat banyak dimanfaatkan oleh berbagai industri. Dengan demikian makin banyak limbah industri yang mengandung logam berat akan memberikan beban yang semakin berat dan berbahaya pada lingkungan .

Plumbum (Pb) dikenal pula dengan timbal atau timah hitam, merupakan salah satu unsur logam berat yang merupakan sumber pencemaran .Menurut WHO (1989) Pb merupakan satu diantara logam berat yang sangat penting untuk diteliti, karena sifatnya yang mempunyai kecenderungan untuk terakumulasi dalam tubuh manusia .

Sebagian besar sumber pencemaran Pb banyak terdapat di udara, air, tanah, debu,makanan serta minuman sehingga dalam kehidupan manusia sulit untuk dihindari (Kessel,1997). Keracunan Pb tidak terbatas pada industri saja tetapi keracunan tersebut dapat timbul karena larutnya Pb sebagai pembungkus makanan serta minuman. Dari makanan dan minuman manusia mengkonsumsi Pb rata-rata 200-300 μg perhari (WHO,1977)

Adanya kontaminasi air minum yang dihasilkan dari pemakaian pipa air minum yang berlapis Pb , sumber air minum yang tercemar limbah industri, menyebabk[→]kenaikan konsentrasi Pbmenjadi 2000-3000 $\mu\text{g}/\text{l}$ (Goyer,1985), penggunaan peralatan makan kerami berglasur[→]sertapemakaian tabung pasta gigi yang berlapis Pb ini juga merupakan sumber pencemaran (Kendall,1987).

Penurunan pada sistem imunologik mukosa mulut sebagai daerah yang mengalami kontak pertama kadang – kadang sulit untuk diketahui dan dideteksi , karena gejala awal keracunan Pb tidak spesifik. Gangguan pada fungsi kesehatan tubuh yang timbul sering hanya dilakukan pengobatan yang bersifat suportif. Disisi lain penyerapan Pb yang terus menerus akan menyebabkan terakumulasi di dalam tubuh, yaitu dalam darah, tulang dan jaringan lunak. Ekskresi Pb sangat sedikit (ATSDR,1995) sehingga terakumulasi melebihi ambang batas dan menimbulkan efek toksik pada berbagai organ dan sistem tubuh (Lockitch,1993). Akumulasi Pb menimbulkan pengaruh biologik berupa gangguan pada fungsi normal sel. Penurunan yang terjadi pada fungsi sistem dan organ tubuh dapat bersifat irreversible (ATSDR,1995).

Dosis Pb sebesar 3500 μg perhari menyebabkan keracunan pada manusia dalam waktu beberapa bulan . Dosis yang lebih rendah , yaitu 2500 μg mengakibatkan timbulnya keracunan dalam waktu 4 tahun, sedangkan dosis 600 $\mu\text{g}/\text{hari}$ merupakan dosis seimbang (Ganiswara,1995). Telah diketahui bahwa Pb dapat menghambat aktivitas enzim , mengganggu metabolisme kalsium seluler, mempengaruhi sintesa protein di ginjal , otak , maupun tulang serta memperlambat rangsangan syaraf. Pada sistem hemopoitik, Pb mengakibatkan hambatan pada sintesa hemoglobin (Lockitch,1993 ; Lu, 1995) dan menaikkan tekanan darah (Kamerad , 1992; Preuss,1994).

Hasil pemeriksaan laboratorium pada penduduk yang bermukim di daerah sekitar pabrik aki didapatkan kadar Pb dalam darah yang cukup tinggi dan

secara klinis ditemukan bercak hitam pada jaringan lunak rongga mulutnya (Isidora, dkk 1993).

Pemeriksaan histopatologik pada ternak menunjukkan adanya degenerasi pada otot jantung , infiltrasi sel mononuklear dan pembesaran otot purkinje (Evis et al, 1995 ; Deys, 1993). Pada sistem syaraf pusat , keracunan Pb menyebabkan gangguan fungsi otak, halusinasi , menurunnya kecerdasan dan kebutaan karena atrofi syaraf penglihatan (WHO, 1977 ; Goyer, 1995). Paparan Pb pada ginjal menyebabkan degenerasi jaringan interstisial dan atrofi pada sel tubuler. Pada sistem pernafasan Pb menimbulkan kerusakan sel alveolar dan makrofag paru.

Pada beberapa penelitian telah dibuktikan bahwa akibat paparan plumbum dapat mempengaruhi sistem imunologik humoral dan seluler pada manusia (Dean,1986; Trust,1990; Tian,1995; Grassman,1996). Sedang Goyer (1986; Trust,1990) Plumbum mempunyai kemampuan sebagai penekan sistem imun (imunosupressor). Hasil penelitian Amsyari (1999) membuktikan bahwa air PDAM yang diproduksi dari kali Surabaya banyak mengandung unsur logam berat antara lain Pb,Hg,dan Cd yang dapat mengakibatkan turunnya kekebalan dan gangguan pada organ tubuh. Sedang hasil penelitian Grassman (1996) telah membuktikan bahwa akibat paparan Pb organik terhadap respon imun humoral pada sistem imunologik sistemik menunjukkan adanya hambatan pada perkembangan sel plasma dan limfosit yang diisolasi dari tikus secara in vitro.

Sedangkan Tomzock (1991) akibat paparan Pb mengakibatkan kerusakan pada ultra struktur enterocyt. Peneliti lain seperti sudibjo (1993) telah

membuktikan juga bahwa akibat pemberian Pb secara per oral mengakibatkan Pb terdeposisi pada mukosa gingival tikus yang kadarnya lebih tinggi dari organ lain kecuali ginjal. Pb asetat yang terdeposisi di gingiva ini memberikan gambaran klinis berupa garis timah hitam (*Lead line*) yang banyak terlihat pada daerah marginal gingiva dan interdental papil, gambaran ini merupakan gejala khusus dari keracunan Pb asetat.

Sistem imun mukosa secara kuantitatif merupakan bagian yang sangat penting dari sistem imun dalam tubuh, oleh karena luas permukaan mukosa pada tubuh manusia yang melapisi gastro intestinal, traktus respiratorius, traktus urogenital sangat luas dan dilapisi oleh sel epitel.

Oleh karena itu untuk mengetahui dampak negatif Pb asetat terhadap mukosa mulut perlu diadakan suatu penelitian yang terencana dan bertahap. Percobaan dapat dilakukan dengan menggunakan hewan uji dimana pada penelitian dengan menggunakan hewan uji dapat dipakai sebagai dasar ekstrapalsi untuk memperkirakan adanya pengaruh Pb pada mukosa mulut manusia.

Hewan percobaan yang cukup ideal untuk penelitian adalah tikus putih strain winstar, karena tikus putih mudah didapat, harganya relatif murah, pemeliharaannya tidak terlalu sulit, biaya perawatan relatif lebih murah dan pemeriksaannya juga relatif mudah sehingga dapat digunakan untuk mewakili mamalia. Sedangkan pemilihan hewan jantan adalah dengan pertimbangan bahwa tikus jantan tidak terpengaruh oleh siklus menstruasi.

Senyawa Pb yang digunakan pada penelitian adalah Plumbum Asetat (timbal asetat) sebab senyawa ini bersifat patologis. Dapat diperoleh dalam bentuk kristal sehingga tidak dapat rusak dan mudah larut dalam air, oleh sebab itu maka pemberian melalui per oral lebih mudah dilakukan .

Dosis Pb asetat yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian sejenis yang pernah dilakukan oleh Zhao Fa Zhu dan Jones MM (1988) mereka melakukan penelitian terhadap tikus yang diberi Pb asetat dengan interval dosis 87,1 mg/kgBB - 210,3 mg/kg BB. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa Pb asetat menyebabkan penyusutan pada hati, ginjal, limfa, tulang dan otak. Hasil penelitian ini juga ditunjang oleh penelitian lain seperti Grassman (1996). Dan penelitiannya terhadap Japanese Quail yang diberi Pb asetat dengan interval dosis 100 mg/kg BB – 400 mg/kg BB diperoleh hasil bahwa Pb asetat dapat menekan jumlah total antibodi sekunder (respon IgG), sedang Mustaina, S (1997) melakukan penelitian terhadap mencit jantan bahwa pemberian Pb asetat menyebabkan penurunan sistim ketahanan mukosa usus, dengan dosis sebesar 100 mg/kg BB.

Untuk mengetahui pengaruh Pb asetat terhadap respon imun mukosa mulut tikus ini diperlukan waktu penelitian selama 60 hari sebab menurut Hafez (1975) dan Lu FC (1995), untuk melihat pengaruh (efek subkronis) dari Pb asetat dengan menggunakan hewan coba tikus akan memerlukan waktu 2-3 bulan (penelitian jangka pendek), sedangkan untuk melihat efek kronisnya akan memerlukan waktu sekitar 10 bulan (penelitian jangka panjang).

Dari hasil penelitian ini nantinya diharapkan dapat dipakai sebagai bahan acuan untuk memperkirakan pengaruh Pb asetat pada mukosa mulut manusia. Disamping itu agar dapat dipakai sebagai bahan informasi kepada masyarakat atau para industrialisir agar lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb, karena efek toksik akan berpengaruh terhadap organ tubuh manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka rumusan masalah dapat diajukan sebagai berikut :

- Apakah pemberian Pb asetat dengan variasi berbagai dosis berpengaruh terhadap perubahan respon imun mukosa mulut tikus ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian Pb Asetat terhadap perubahan respons imun di mukosa mulut tikus

1.3.2 Tujuan Khusus

- Untuk membuktikan pengaruh pemberian Pb asetat dengan berbagai variasi dosis terhadap perubahan respons imun di mukosa mulut tikus.
- Untuk membuktikan sejauh manakah korelasi berbagai dosisi Pb Asetat terhadap perubahan respons imun di mukosa mulut tikus.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar ilmiah untuk :

1. Mengungkap mekanisme terjadinya imunopatogenesis pada sistim ketahanan imunologik mukosa mulut tikus sebagai akibat paparan Pb Asetat.
2. Mengetahui dosis dan waktu paparan, yang akan memberikan dampak negatif terhadap mukosa mulut tikus.
3. Sebagai upaya pencegahan terjadinya penyerapan Pb Asetat lebih lanjut untuk menghindari timbulnya berbagai gangguan fungsi tubuh yang lebih parah.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Bab 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Plumbum (Timbal atau Timah Hitam)

Plumbum (Pb) dikenal dengan nama Timbal atau Timah Hitam (*lead*), merupakan salah satu unsur logam berat yang telah dimanfaatkan sejak zaman dahulu. Plumbum warnanya biru atau perak abu-abu, sifatnya lunak, sehingga mudah diubah bentuknya sesuai dengan kebutuhan. Kerapatannya tinggi, merupakan penghantar panas dan listrik yang buruk (Seiller dan Sigel, 1988; Palar, 1994). Logam berat ini mempunyai nomor atom 82. Berat atomnya 207,19 berat jenis 11,34. Titik didihnya pada tekanan atmosfer adalah 1.740 C. Pb mempunyai 4 isotop, yaitu Pb^{204} , Pb^{206} , Pb^{207} dan Pb^{208} dan hampir tidak pernah ditemukan dalam bentuk logam murni (WHO, 1977).

Lebih dari 95% Plumbum berada dalam bentuk senyawa anorganik dan umumnya dalam bentuk garam nitrat [$Pb (NO_3)_2$] Klorat, Asetat, Karbonat ($2PbCO_3$) dan Pb organik dalam bentuk stabil seperti Tetraethyl [$(C_2H_5)_4 Pb$] dan Tetramethyl [$(CH_3)_4 Pb$] (WHO, 1977; Palar, 1994). Senyawa Pb yang stabil dipakai secara luas sebagai zat tambahan bahan bakar. Persenyawaan Pb dengan stibium digunakan untuk kabel telepon, campuran dengan arsen, stanum dan bismut digunakan untuk kabel listrik. Campuran Pb dengan nikel digunakan untuk bahan peledak , juga digunakan sebagai glasur untuk mengkilapkan keramik dan bahan tahan api, sedang untuk cat, plumbum

digunakan bersama dengan molibdenum dan klor (Pallar,1994). Plumbum juga ditemukan sebagai pengawet m,inuman beralkohol yang diproduksi secara ilegal (Ganiswara,1995).Dengan kerapatan yang tinggi Pb sangat baik untuk digunakan sebagai lapisan penahan terhadap radiasi sinar X (Britannica,1997).

Di alam, Pb ditemukan pada batu dan lapisa kerak bumi dengan konsentrasi 13 mg/kg; plumbum pada endapan laut merupakan konsentrasi Pb yang terbesar di alam,yaitu 100-200mg/kg; pada air tanah 1-60 ug/l; pada tanah dan udara di atmosfer yang jauh dari kegiatan manusia konsentrasi Pb sangat kecil. Plumbum yang berasal dari pabrik umumnya berasal dari kegiatan penambangan, peleburan dan pemurnian.

Manusia terpapar plumbum (Pb) dari kegiatan dan lingkungannya sendiri, sebagai akibat pemakaian plumbum dalam berbagai bidang. Pemaparan dapat berasal dari :

1. Cat dan debu yang mengandung Pb, merupakan penyebab utama kasus keracunan Pb pada anak . Gesekan yang terjadi pada saat membuka dan menutup pintu atau jendela menyebabkan lepasnya debu cat yang sangat kecil yang dapat terhirup oleh manusia. Demikian juga cat pada mobil, jembatan, mainan anak dan perabot rumah tangga.
2. Tanah, umunya tercemar Pb yang berasal dari pemakaian bahan bakar dan emisi dari kegiatan industri.
3. Air minum, pencemaran pada air minum berasal dari pengelasan pipa saluran, bagian pompa air , tempat penampungan air maupun peralatan

yang digunakan untuk memasak air. Pencemaran juga berasal dari kontaminasi sumber air.

4. Makanan, makanan tercemar Pb yang berasal dari tanah maupun dari wadah yang digunakan untuk menyimpan dan menyajikannya.
5. Udara, pencemaran udara berasal dari bahan bakar dan pengelolaan bahan buangan mengandung Pb yang tidak sempurna.
6. Penyebab lain seperti lukisan, hasil kerajinan tangan, crayon, amunisi, bahan plastik ndan instalasi listrik.

Plumbum asetat merupakan persenyawaan Pb yang umum dipergunakan manusia. Senyawa ini berwarna coklat atau abu-abu muda, rasanya manis dan mempunyai bau asetat yang ringan dan umumnya berupa Pb asetat trihidrat (ATSDR,1995). Sifatnya larut dalam air , dalam alkohol sifatnya sedikit terlarut dan sangat larut pada gliserol. Jika dipanaskan , Pb asetat menghasilkan asap timbal yang bersifat toksik. Pb asetat seringkali digunakan dalam preparasi garam Pb . Pemakaiannya antara lain adalah untuk penguat pada pewarnaan kain, pelapisan logam,pengering cat, pernis dan tinta juga sebagai pewarna pada cat rambut. Pb asetat juga dipergunakan untuk pelapisan bahan yang bersifat tahan air dan insektisida (ATSDR,1995).

2.2. Penyerapan Pb dan pengaruhnya pada kesehatan

Pb anorganik diabsorbsi kedalam tubuh melalui saluran pernafasan dan saluran pencernaan, sedangkan Pb organik dapat masuk kedalam tubuh melalui kontak kulit (Hernberg, 1987). Setelah diabsorbsi saluran pernafasan

atau saluran pencernaan, masuk kedalam darah terikat dengan sel darah merah, dan kemudian didistribusikan secara luas keseluruh jaringan, termasuk tulang, hati, serta ginjal. (Katzung, 1987; Kamerad, 1992; Hac et al 1996).

Masuknya Pb melalui saluran pencernaan akan terserap oleh mukosa saluran cerna. Penyerapan ini sangat dipengaruhi oleh faktor usia, ukuran partikel, nutrisi dan diet. (Hamir et al, 1988). Rerata masuknya Pb melalui makanan adalah 30 μ g perhari (Goyer, 1986; Siswanto, 1994). Hernberg (1987) : Persentase Pb yang terhirup melalui saluran pernafasan dan masuk ke dalam aliran darah sebesar 30%-40% dengan jumlah yang sangat dipengaruhi oleh ukuran partikel Pb, daya kelarutan, volume pernafasan, variasi fisiologis individu dan kondisi patologis tertentu.

Absorpsi Pb melalui saluran pernafasan paling sering diderita oleh para pekerja pabrik, sedangkan absorpsi melalui saluran pencernaan biasanya diderita oleh pekerja industri (Katzung, 1987).

Angka absorpsi Pb baik melalui paru-paru atau saluran pencernaan makanan tergantung pada daya kelarutan Pb dalam cairan tubuh (Raffle, 1987). Pb asetat dapat diabsorpsi oleh paru-paru maupun oleh saluran pencernaan makanan (Barltop, 1981).

Setelah diabsorpsi oleh tubuh, Pb akan diabsorpsi kedalam jaringan atau organ-organ. Organ atau jaringan tersebut merupakan kumpulan kompartmen yang satu sama lain terpisah. Masing-masing kompartmen akan memperoleh sebagian dari Pb yang telah diabsorpsi (Gibaldi, 1988).

Kurang lebih 95% dari Pb yang terdapat dalam darah akan diikat oleh eritrosit, sehingga jumlah Pb yang diserap akan berpengaruh terhadap konsentrasi dalam darah. Berbagai penelitian menunjukkan konsentrasi dalam darah normal adalah maksimal $40\mu\text{g}/100\text{ml}$, dan masih dapat ditoleransi sampai dengan konsentrasi $80\mu\text{g}/100\text{ml}$ darah, diatas nilai tersebut maka absorpsi yang terjadi sudah berlebihan bahkan berbahaya (Siswanto, 1994).

Menurut Katzung (1987) : keracunan Pb dibagi menjadi keracunan Pb anorganik yang bersifat akut maupun kronis dan berpengaruh buruk pada berbagai organ tubuh. Keracunan disebabkan masuknya senyawa Pb dalam jumlah yang cukup besar dan menimbulkan interaksi langsung dengan jaringan. Interaksi dapat berupa mengeringnya jaringan, kerusakan pada lapisan mukosa dan konvulsi (Hoekman, 1996). Keadaan ini dapat menyebabkan syok yang disebabkan karena kehilangan cairan melalui saluran pencernaan. Anemia dan hemoglobinuria terjadi karena hemolisis darah. Juga dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan kematian (Ganiswara,1995). Keracunan akut ditandai dengan adanya rasa haus, rasa metalik di mulut, mual, nyeri lambung, muntah-muntah, feces berwarna kegelapan, diare, konstipasi dan syok (Goodman,et al,1985).

Keracunan kronik Pb disebabkan karena peningkatan konsentrasi plumbum dalam tubuh secara bertahap. Keracunan tidak menimbulkan gejala yang mendadak, tetapi berupa gangguan pada berbagai sistem tubuh. Gejala umumnya adalah kekakuan, kehilangan keseimbangan, ataxia, vertigo,



irritabilitas, insomnia, tremor, nyeri kepala dan gejala radang usus (Katzung, 1987). Naiknya konsentrasi Pb dalam tubuh menimbulkan gejala *hyperexcibility seperti confusi, delerium dan confulsi* dan dapat menimbulkan koma bahkan kematian. Pada sistem hemopoitik keracunan akut menimbulkan gangguan pembentukan heme melalui penghambatan pembentukan lima jenis enzimnya, yaitu asam *d-aminolevulinat dehidratase* (Alad), *Haem Sintetase* (Hs), *asam d-aminolevulinat sintetase* (Alas), *Uroporfinogen dekarboksilase* (Urod) dan *koproporfinogen oksidase* (Coprod). Penghambatan ini jelas tampak pada kadar Pb darah sekitar 20-25 ug/dl (LU,1995). Pada kadar Pb darah 50 ug/dl menunjukkan gejala anemia klinik dengan eritrosit yang rapuh dan berumur pendek (Dean,1986; Siswanto,1994; Lu,1995).

Dosis rendah paparan Pb yang diberikan berupa larutan plumbum asetat sebesar 1% berhubungan dengan naiknya tekanan darah sistolik dibuktikan oleh Lal,et al (1991) dan Preuss(1994). Pengujian histopatologik pada ternak yang diberi Pb asetat dengan dosis 50 mg/kg Bb secara oral sampai terjadi gejala klinis keracunan Pb menunjukkan adanya degenerasi otot jantung, infiltrasi sel mononuklear dan pembesaran otot purkinye (Deys,1993).

Pada sistem reproduksi wanita , paparan Pb berhubungan dengan peningkatan terjadinya keguguran dan kelahiran mati. Konsentrasi Pb darah sebesar 0.48-0.96 u mol/l menyebabkan kelainan pada anak yang dilahirkan (Lockitch,1993). Pada sistem reproduksi jantan , konsentrasi Pb darah

sebesar 40ug/dl menyebabkan hambatan pada fungsi testis, menghambat spermatogenesis dan menurunkan kadar testosteron. Pada sistem syaraf, Pb diketahui menyebabkan gangguan fungsi otak, halusinasi, menurunnya kecerdasan dan kebutaan karena atrofi syaraf penglihatan (Siswanto,1994).

Dalam pemeriksaan secara oral akan ditemukan tanda-tanda hipersalivasi, rasa logam, pembengkakan kelenjar liur, ditemukan garis timah hitam (Bhaskar, 1982; Jones, 1993 ; Sonis, 1994;) dan warna gingiva akan tampak keputihan dibanding daerah sekitarnya.

2.3. Pengaruh Plumbum pada Sistem Imunologik

Beberapa penelitian membuktikan bahwa paparan Pb juga mempengaruhi sistim imunologik humoral pada manusia (Dean, 1986; Trust, 1990; Grassman, 1996) dan seluler (Dean,1986;Tian,1995) . Plumbum mempunyai kemampuan sebagai penekan sistem ketahanan imunologik (imunopresor) (Goyer,1995;Trust,1990).

Hal ini ditunjukkan pada pekerja yang terpapar plumbum terjadi peningkatan jumlah pnderita flu dan demam. (WHO,1989). Juga terjadi penurunan konsentrasi slgA pada konsentrasi Pb darah 52ug/100g darah atau lebih tinggi (Goyer,1986).

Pada hewan percobaan paparan Pb menurunkan titer antibodi , hal ini menunjukkan penurunan daya tahan tubuh terhadap agen infeksi . (Dean , 1986) . Pada tikus .yang dipaparkan Pb sebelum dan sesudah kelahiran

menunjukkan penurunan jumlah Ig M plaque Forming Cells terhadap eritrosit domba.

Pemberian Plumbum secara per oral menurunkan titer antibodi yang spesifik pada kelinci yang diimunisasi dengan vaksin tikus pseudorabies.

Plumbum tetraetil juga menurunkan titer antibodi spesifik pada tikus dan mereduksi IgM dan IgG *Plaque forming cells* terhadap eritrosit domba (Goyer, 1986)

Pengaruh paparan Pb organik terhadap respon imun humoral pada sistem imunologik sistemik yang diteliti lebih lanjut menunjukkan adanya hambatan perkembangan sel plasma dan limfosit yang diisolasi dari tikus secara in vitro (Grassman, 1996).

Mekanisme pengaruh Plumbum pada sel limfoid sifatnya kompleks. Pb identik dengan logam lainnya, adalah agen alkil sulfhidril dengan afinitas tinggi terhadap gugus sulfhidril seluler. Dengan demikian pengaruh *imunomodulator* Plumbum pada sistim imun berhubungan dengan persenyawaan thiol seluler. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa thiol membran dan thiol seluler sangat diperlukan untuk aktivasi, proliferasi dan differensiasi limfosit (Dean, 1986).

2.4. Keracunan Plumbum pada Gingiva

2.4.1. Mikrosirkulasi Gingiva

Mikrosirkulasi gingiva banyak ditemukan anastomose antara cabang arteri interseptal, periodontal, periosteal). Selanjutnya mensuplai gingiva dan

membrana periodontal (Roth, 1981). Menurut Lindhe (1989) etiologi penyakit periodontal dapat digolongkan jadi 2 faktor yaitu faktor lokal & faktor sistemik. Faktor lokal seperti plak dan kalkulus merupakan faktor yang terdapat pada lingkungan periodontitis. Sementara faktor sistemik berasal dari kondisi umum penderita. . Faktor sistemik tersebut berasal dari adanya Pb dalam gingiva (Jones, 1991; Burket, 1994;). Mereka menegaskan pengendapan Pb dalam gingiva akan menyebabkan timbulnya penyakit periodontal.

Menurut Roth (1989) penyebab gingivitis dan penyakit periodontal adalah faktor ekstrinsik yaitu suatu faktor yang menyebabkan peningkatan jumlah bakteri subgingiva yang virulen, terdiri dari tingkat kebersihan mulut yang jelek, komposisi dan konsentrasi makanan, impaksi makanan dan kalkulus. Faktor kedua yaitu faktor intrinsik yang akan menurunkan kemampuan pertahanan jaringan untuk melawan mikroflora subgingiva, dan jika jaringan tersebut mengalami inflamasi atau kerusakan, maka jaringan tersebut akan mengalami tiga perubahan yaitu perubahan permeabilitas, perubahan hemodinamika darah dan perubahan seluler. Perubahan tersebut akan mempengaruhi mikrosirkulasi dari jaringan sekitarnya.

Pb pada kasus keracunan peredarannya mengikuti aliran darah. Dengan adanya predisposisi inflamasi gingiva, permeabilitas kapiler makin meningkat dan terjadilah peningkatan deposisi Pb di gingiva (Lindhe, 1989). Trevino (1987): vaskularisasi jaringan merupakan faktor utama yang menentukan besarnya derajat daya ikat deposisi Pb dalam jaringan.

2.4.2. Garis Timah Hitam (“Lead Line”)

Ada beberapa istilah yang diberikan untuk menyebut keracunan Pb yaitu *Plumbisme*, atau *Saturnisme* (Langley, 1984). Garis timah hitam oleh Lindhe (1989) dinamakan “*Halosaturinus*”, Burket (1994) menyebut “*Burtonium Line*”.

Menurut Lindhe (1989) : garis timah hitam terbentuk oleh endapan sulfida timah hitam yang tidak larut dalam sel endotel dari pembuluh darah kapiler ginggiva. Musser & Wahl (1961): garis timah hitam terbentuk dari pengendapan granula timah hitam pada jaringan ikat sub epitel, terletak tidak pada permukaan ginggiva, dan tidak hilangnya dengan berkumur. Gonzolen et al (1964) : garis timah hitam terbentuk oleh timbunan timah sulfida dalam granula-granula kecil disekeliling daerah mikrosirkulasi di ujung-ujung papilla ginggiva. Bhaskar (1981) : gambaran keracunan timah hitam ditandai dengan granular pigmen yang di deposisi pada daerah perivaskuler submukosa dan membran basalis. Timah hitam dalam lapisan subbasalis terdiri dari timah hitam sulfida (PbS). Spouge (1983) : terjadinya warna hitam pada garis timah hitam disebabkan deposisi sulfida timah hitam (PbS) pada ginggiva, sebagai hasil bertemunya hidrogen sulfida (H₂S) yang diproduksi bakteri anaerob yang berada di sulkus ginggiva. Lokasi garis timah hitam berada di daerah palatinal & bukal pada tepi ginggiva dan interdental papil dan tidak terdapat pada rahang yang tidak bergigi.

2.5. Respons Imun

Respons imun adalah suatu rangkaian dari proses yang kompleks yang ditimbulkan oleh masuknya imunogen dengan tujuan untuk menghilangkan imunogen tersebut (Goodman,1994). Respons imun ini terjadi terutama oleh interaksi tiga sel yaitu makrofag, limfosit T dan limfosit B. Interaksi ketiga sel tersebut dapat terjadi secara langsung atau melalui limfokin. Respons imun ini akan membentuk ketahanan tubuh yang sangat diperlukan untuk mempertahankan kondisi homeostasis.

Sifat khas dari respons imun adalah spesifik, memory dan amplifikasi (Taylor,1991). Spesifik artinya mempunyai sifat bereaksi dengan imunogen tertentu, memory artinya mampu mengingat imunogen yang pernah bersentuhan dan amplifikasi artinya mampu memperkuat respons imun.

Di dalam tubuh dikenal dua ketahanan tubuh yaitu ketahanan tubuh natural (*Natural/Innate immunity*) dan ketahanan tubuh adaptif (*Adaptif/ acquired immunity*) (Roitt,1996).. Ketahanan tubuh innate atau non spesifik bersifat alami, merupakan ketahanan tubuh yang pertama muncul pada infeksi mikroba ataupun makromolekul dan tidak membedakan jenis penyebab terjadinya infeksi. Ketahanan tubuh adaptif atau spesifik adalah mekanisme pertahanan tubuh yang dipicu oleh adanya paparan suatu zat asing tertentu. Ketahanan tubuh ini lebih efektif dan lebih terfokus pada suatu antigen tertentu (Abbas,1994).

Ketahanan tubuh alami bersifat alamiah dengan mekanisme yang stereotipik. Komponen ketahanan tubuh alami ini adalah sebagai berikut :

- a. Pertahanan mekanis terhadap infeksi , yaitu dengan menghambat pengikatan atau penetrasi oleh agen infeksi .Pertahanan tersebut terdapat pada kulit yang utuh (intact), lapisan mucus pada sel epitel mukosa, lapisan pembungkus sel yang membawa mikroba dan pada ludah, keringat, urin dan cairan-cairan tubuh lainh. Pertahanan kimia diwujudkan dalam bentuk pengaturan pH.
- b. Faktor-faktor fisiologis seperti panas tubuh, tekanan oksigen, keseimbangan hormon dan usia.
- c. Proses fagositosis , yaitu proses ingesti partikel-partikel asing oleh sel tubuh untuk di degradasi menjadi partikel yang lebih rendah. Proses ini dilakukan oleh neutrofil dan sel-sel monosit.
- d. Faktor humoral, berupa antibodi dan komplemen. Beberapa faktor non antibodi humoral yang juga melaksanakan respons imun non spesifik adalah kemotaksis, properdin, IFN, b-lisin, laktoferin dan *transferring*, serta laktoperoksidase dan lisosim.
- e. Sel-sel limfositik yang bersifat sitotoksik seperti sel NK, sel sitotoksik terikat antibodi, sel lifokin pembunuh (LAK) dan limfosit yang berinfiltrasi pada tumor.

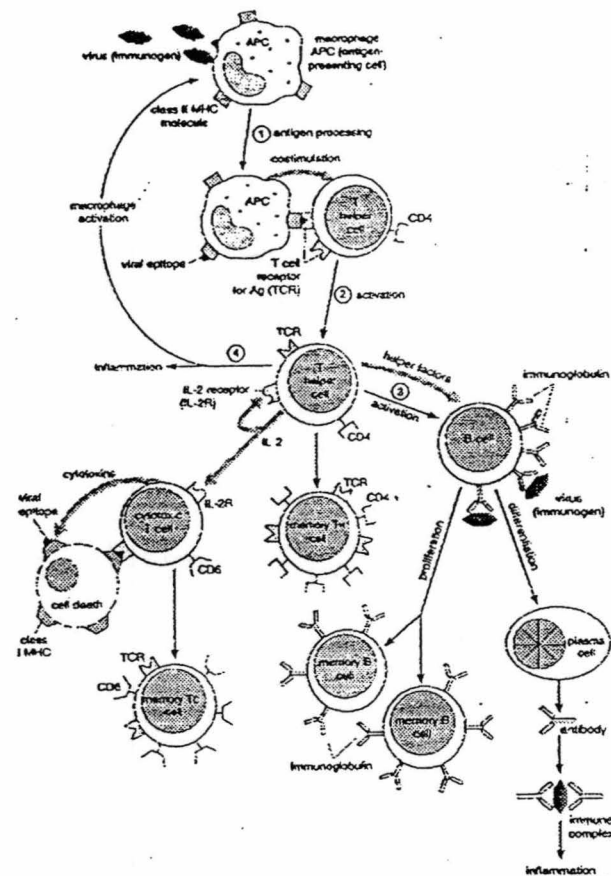
Ketahanan tubuh adaptif atau spesifik merupakan respons dari paparan antigen yang mempunyai kemampuan untuk mnghasilkan respons imun seperti vaksin, mikroba dalam tubuh maupun makromolekul dalam makanan. Ia memperkuat respons imun alami pada tempat masuknya benda

asing sehingga mampu mengeliminir benda asing tersebut dengan lebih baik. Karakteristik respons ini adanya spesifitas, heterogenitas dan memori.

Secara umum , setelah imunogen diproses oleh makrofag, selanjutnya akan ditampilkan pada membran makrofag sehingga dapat dikenal oleh limfosit. Pengaktifan limfosit oleh imunogen menghasilkan proliferasi dan transformasi limfosit yang menghasilkan dua macam respons imun (Bellanti,1993; Chandrasoma dan Taylor,1991) :

1. Respon imun seluler, dimana reaksi yang terjadi adalah intra seluler .Pada umumnya dengan media limfosit atau sel fagosit. Sel T setelah memasuki timus akan memasuki darah dan merupakan 70% dari limfosit yang beredar . Bila terjadi kontak dengan imunogen yang diproses makrofag, sel T akan mengalami proliferasi dan differensiasi . Beberapa sel akan teraktivasi dan berperan dalam respon imun seluler. Sebagian yang lain menjadi sel T memori yang akan diaktifkan bila bergabung dengan antigen dan sisanya menjadi sel T penolong (Helper) dan supresor yang membantu mengatur produksi antibodi oleh sel B. Sel B akan memasuki darah dan merupakan 30% dari limfosit darah. Bila terjadi reaksi dengan antigen maka sel B akan berdiffrensiasi dan berproliferasi menjadi sel memori dan sel plasma. Sel plasma akan matang dan mampu mensintesis berbagai imunoglobulin.

2. Respons imun humoral, dengan menggunakan media molekul dalam darah yang mempunyai kemampuan mengenali dan mengeliminir antigen dan disebut antibodi. Bentuk respons imun yang lebih banyak melibatkan efek limfosit B yang khas melalui transformasi limfosit B menjadi sel plasma yang akan mensekresi imunoglobulin atau antibodi yang memiliki aktivitas spesifik terhadap imunogen.



Gbr . II. 5 Skema sistem imun adaptif (Goodman,1991)

2.6 Sistem Immunologik pada Mukosa Mulut

Perbedaan yang ada antara sistem imunologik di mukosa dengan sistem imunologik sistemik adalah pada :

1. Immunoglobulin khas mukosa adalah Immunoglobulin A (IgA)
2. Komplemen sel T mempunyai kelengkapan sebagai regulator spesifik mukosa (Kemampuan efektor)
3. Sistem lalu lintas sel mukosa yang menyebabkan folikel di mukosa dapat bermigrasi ke jaringan limfoid mukosa difus yang ada dibawahnya . (Stites,1994)

Proses imunitas pada mukosa mulut dianggap merupakan sistem tersendiri yang melengkapi sistem imunitas tubuh. Kesehatan mulut tergantung dari integritas mukosa mulut , dimana fungsi utamanya adalah membrikan pertahanan lokal pada membran mukosa dari penetrasi organisme mikro dan makromolekul yang disebut antigen . Untuk melaksanakan fungsi tersebut mukosa mulut dilindungi oleh mekanisme pertahanan tubuh non spesifik dan spesifik.

Termasuk pertahanan tubuh non spesifik adalah mucin, lisozim, laktoferin dan laktoperoksidase, sedangkan imunitas spesifik meliputi sistem imun sistemik dan sistem imun sekretori (Challacombe & Shirlaw,1994). Fungsi kedua yang tidak kalah penting adalah untuk mencegah masuknya antigen melalui mukosa mulut, sekaligus berarti melindungi sistem imun sistemik dari pengaruh antigen yang merugikan (Stites,1994).

Menurut Lehner (1992) permukaan gigi dipengaruhi oleh mekanisme imun sistemik dan salivari local. Pembagian antara dua mekanisme tersebut berada pada tepi gingival dan daerah saliva. Perbedaan antara daerah saliva dan gingival menunjukkan bahwa daerah saliva dan gingival menunjukkan bahwa daerah saliva sangat tergantung pada sIgA, sedang daerah gingival di kontrol oleh semua komponen imun yang ada dalam darah. Daerah gingival berpengaruh baik pada penyakit periodontal maupun karies. Selanjutnya dikatakan bahwa respon imun spesifik terhadap infeksi terjadi baik secara humoral, maupun seluler.

2.7 Secretory Immunoglobulin A (sIgA)

Respon ketahanan imunologik di mukosa dicirikan oleh sIgA. Jenis imunoglobulin ini ditemukan terbanyak di mukosa karena sel B yang mengekspresikannya berasal dari lamina propria dan peyers patch.

Secretory IgA di mukosal mempunyai bentuk yang khas, yaitu terdiri atas molekul dimmer sedangkan IgA di serum ditemukan dalam bentuk monomer (Challacombe, 1994). IgA mempunyai empat rantai berat, empat rantai ringan, satu komponen sekretoris dan satu rantai penggabung (Joining chain). Rantai alfa pada ujungnya mempunyai kepanjangan yang mengandung sistein sehingga memungkinkan pegikatan oleh sulfid membentuk polimer (pIgA). Polimer IgA menentukan pengikatan dengan pengikatan reseptor pada epitel yang dinamakan secretory component (SC). Secretory component molekul yang penting dalam sistem transportasi IgA. Transportasi tersebut diawali dengan



terjadinya ikatan IgA dengan SC melalui ikatan kovalen di permukaan sel epitel. Selanjutnya diikuti dengan endositosis sIgA ke vesikel. Vesikel yang berisi sIgA bergerak ke apikal dan akhirnya melepaskan imunoglobulin tersebut ke lumen usus. Transportasi ini terjadi di epitel saluran pencernaan, kelenjar liur, mukosa bronkus, kelenjar susu yang sedang laktasi, epitel uterus, liver dan epitel saluran empedu.

Beberapa sifat secretory Ig A adalah sebagai berikut:

1. resisten terhadap degradasi oleh enzim protease
2. kemampuan untuk berikatan dengan SC dan terlibat dalam mekanisme transport mukosa-hepatis
3. tidak mengaktifkan sistem komplemen sehingga tidak mengakibatkan terjadinya proses lisis yang merusak mukosa usus.
4. berperan dalam pertahanan local mukosa sebagai pengikat bagi organisme patogenik.

2.8 Mukosa Rongga Mulut

Mukosa rongga mulut di bagi 2 regio yaitu lapisan epitel dan lamina propria . Secara morfologis gambarnya sama dengan yang terdapat di kulit, Yaitu epidermis dan dermis. Diantara lapisan epitel dan lamina propria dibatasi oleh lamina basalis dan membentuk *Rete pegs* . Lamina propria yang melekat pada rete pegs merupakan jaringan ikat kendor yang disebut papillary layer, sedangkan dibawahnya merupakan jaringan ikat yang lebih padat disebut reticular layer . Di bawah reticular layer terdapat sel-sel lemak, fibroblast, dan

fibrosit , nerve, pembuluh darah, pembuluh limfe, glandula sebacea dan sel-sel pertahanan tubuh. (Dolby,1975)

Membran mukosa yang melapisi permukaan rongga mulut strukturnya bervariasi agar dapat beradaptasi dengan fungsinya pada daerah yang berbeda. Daerah yang ikut berfungsi dalam pengunyahan seperti gingiva dan palatum keras mempunyai struktur yang berbeda bila dibandingkan dasar mulut atau mukosa pipi.

Bhaskar (1992) membagi mukosa mulut menjadi tiga tipe utama,yaitu mukosa kunyah (gusi dan palatum keras), mukosa refleksi (bibir, pipi, mukosa dasar mulut, palatum lunak) dan mukosa khusus (dorsum lidah dan kuncup perasa).

Gambar :

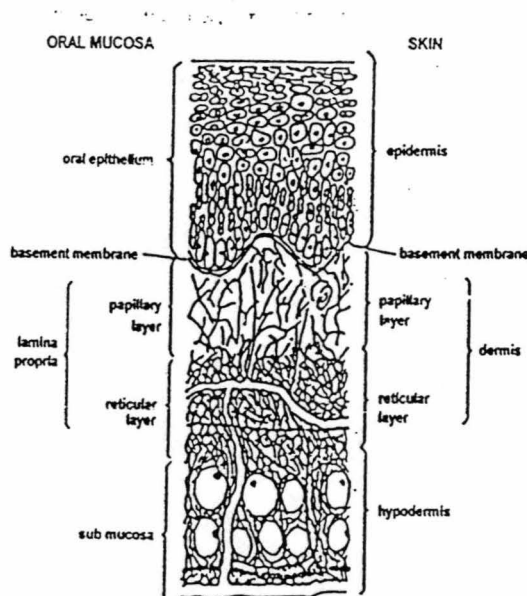


Diagram komponen lapisan epitel rongga mulut

(Sumber Dolby,1975)

2.8.1 Gingiva

2.8.1.1 Anatomi dan Histologi Gingiva

Gingiva merupakan jaringan pengikat fibrosa dan mukosa yang menutupi dan mengelilingi gigi geligi (Ramford and Ash,1989). Gingiva merupakan bagian dari mukosa mulut yang menutupi tulang alveolar bagian koronal dan melingkari gigi. Carranza (1994) mengatakan bahwa gingiva dibagi menjadi :

- a) Gingiva bebas, yaitu bagian gingiva yang mengelilingi gigi, tidak melekat tetapi menempel sangat erat menyerupai kerah baju dan dengan gingiva cekat dibatasi oleh akar gingiva bebas. Lebar gingiva tepi kurang lebih 1 mm membentuk dinding sulkus gingiva, dapat dipisahkan dari permukaan gigi dengan probe tumpul dan dengan tepi koronal berbentuk menyerupai tajamnya pisau.
- b) Gingiva cekat, merupakan kelanjutan gingiva yang melekat erat pada tulang alveolar dan sementum. Karena perlekatannya, gingiva cekat juga disebut dengan gingival semental .
- c) Gingiva Interdental adalah bagian gingiva yang terletak diantara 2 gigi terdiri atas papilla bagian fasial dan papilla bagian lingual.

2.8.1.2 Epitel Gingiva

Ramford dan Ash (1989) membagi epitel gingiva menjadi :

a. Epitel Mastikasi

Epitel mastikasi adalah epitel yang melapisi gingiva cekat dan gingiva bebas sampai puncak gingiva tepi, mempunyai keratin dan parakeratin

yang dapat melindungi gingiva terhadap trauma gingiva baik mekanis maupun enzimatik (Kohmer, 1986). Permukaan epitel mastikasi tampak berkerut disebut *Stipling*. Susunan histologis terdiri epitel skuamus keratin berstratifikasi yaitu lapisan basal, lapisan spinosum, lapisan granulosum dan lapisan stratum korneum. Menurut Ramfjord dan ASH (1989). secara ultra struktur epitel sel memiliki nukleus yang terdiri dari nukleoplasma yang dikelilingi protoplasma dan dibatasi oleh membran sel. Membran sel berfungsi secara selektif mengatur aliran nutrisi dan ion antara bagian dalam sel dan sekitarnya. Tipe sel epitel mastikasi 90% adalah sel keratin, sel yang lain adalah sel non keratin yaitu terdiri dari melanosit, sel langerhans, dan sel non spesifik. Perkembangan histogenesis lapisan basal, lapisan granulosum dan lapisan korneum dimulai dari lapisan epitel basal. Sel keratin bermigrasi dan transformasi dari lapisan basal bergerak ke arah permukaan dan mengalami pengelupasan.

b. Epitel Sulkus Gingiva

Epitel sulkus adalah epitel yang melapisi sulkus gingiva, terdiri dari lapisan basal dan lapisan spinosum dan tidak berkeratin. Dari batas epitel sulkus gingiva ke arah epitel mastikasi sulkus gingiva muncul Rete pegs yang tampak tidak berkeratin.

c. Epitel Cekat

Epitel cekat tersusun dari stratum spinosum dan lapisan basal berbentuk seperti pita tipis dari epitelium, dengan 12 sampai dengan 28 lapisan.

2.8.1.3 Jaringan Ikat Gingiva

Oleh Glickman (1982) dan Manson (1985) jaringan ikat gingiva disebut lamina propria. Jaringan ikat gingiva merupakan anyaman padat terdiri dari sebagian besar serabut kolagen dengan sebagian kecil serabut elastis. Menurut Melcher dan Eastoe (1979) jaringan ikat gingiva terdiri dari sel-sel dan substantia ekstra seluler. Sel jaringan ini tersusun dari fibroblast, osteoblast dan sementoblast yang berguna untuk pembentukan dan pemeliharaan jaringan ikat dan sel-sel lain yaitu makrofag, dan mast sel terdiri dari serabut jaringan pengikat kolagen dan serabut elastis.

2.8.1.4 Vaskularisasi Gingiva

Ada tiga sumber vaskularisasi menuju gingiva, yaitu :

- a. Arteria supraosteal, yaitu arteriole yang memanjang kepermukaan fasial dan lingual tulang alveolar, selanjutnya menyusun epithelium sulkuler dan berada diantara rete pegs.
- b. Pembuluh darah ligamen periodontal yaitu pembuluh darah yang menyusuri ligamen periodontal menuju gingiva dan beranastomose dengan kapiler-kapiler daerah sulkus gingiva.
- c. Arteriola yang keluar dari puncak alveolar dan kemudian beranastomose dengan pembuluh darah daerah ligamen periodontal berakhir dengan kapiler pada daerah crevicular gingiva (Carranza, 1994).

Di bawah epitelium pada permukaan gingiva bagian luar kapiler mengikuti lapisan basal menempati daerah papila diantara retepegs, membentuk suatu bangunan seperti penjempit rambut pada ujung-ujung terminalnya dengan cabang aferen dan pembuluh darah yang berkelok-kelok. Bangunan tersebut kadang-kadang dihubungkan oleh hubungan silang dilengkapi kapiler-kapiler yang memipih dan berfungsi sebagai pembuluh cadangan pada saat terjadi peningkatan sirkulasi karena pengaruh iritasi lokal maupun sistemik.

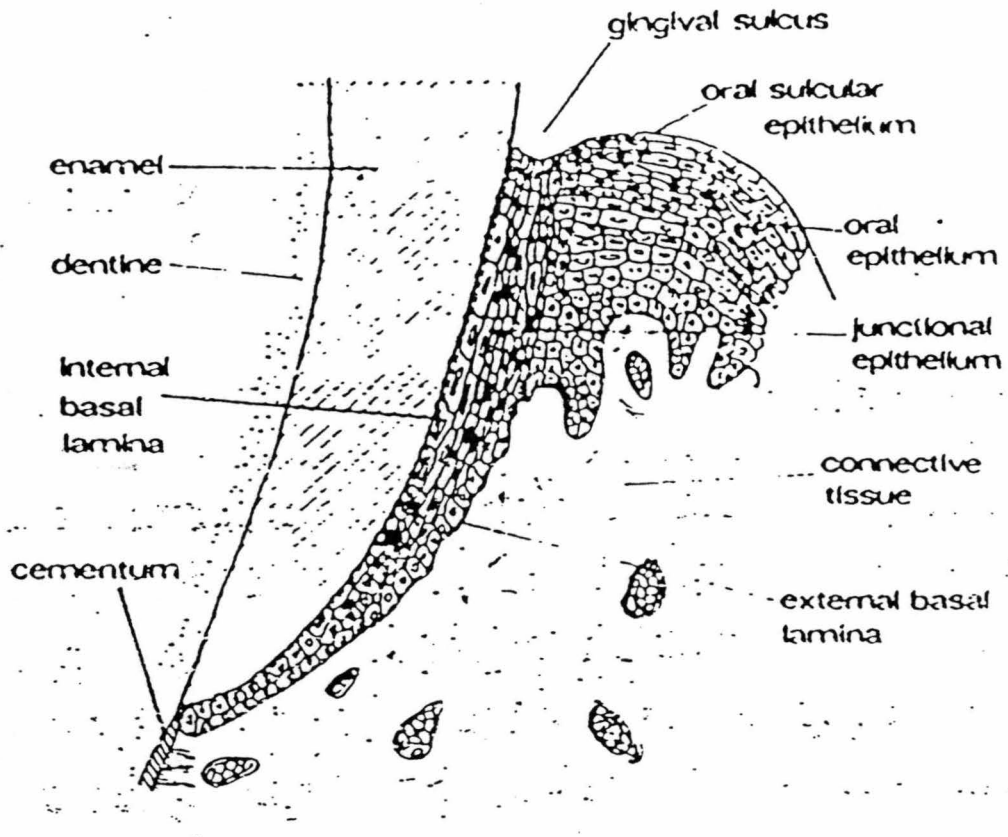


Diagram Histologik mukosa gingiva (Sumber Lindhe, 1989)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

DAN

HIPOTESIS PENELITIAN

Bab 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Berdasarkan teori metabolisme Timah hitam (Pb) oleh Dobson dan Zenz (1988) bahwa absorpsi Pb ke dalam tubuh melalui dua jalur yaitu melalui saluran pencernaan dan pernafasan. Di dalam tubuh sendiri Pb akan di deposisi dalam organ sebagai kompartmen yang berbeda antara lain dalam jaringan lunak, darah dan tulang. Setelah di absorpsi juga akan didistribusikan pada epitel gingiva, hati, ginjal (Goodman & Gilman 1985).

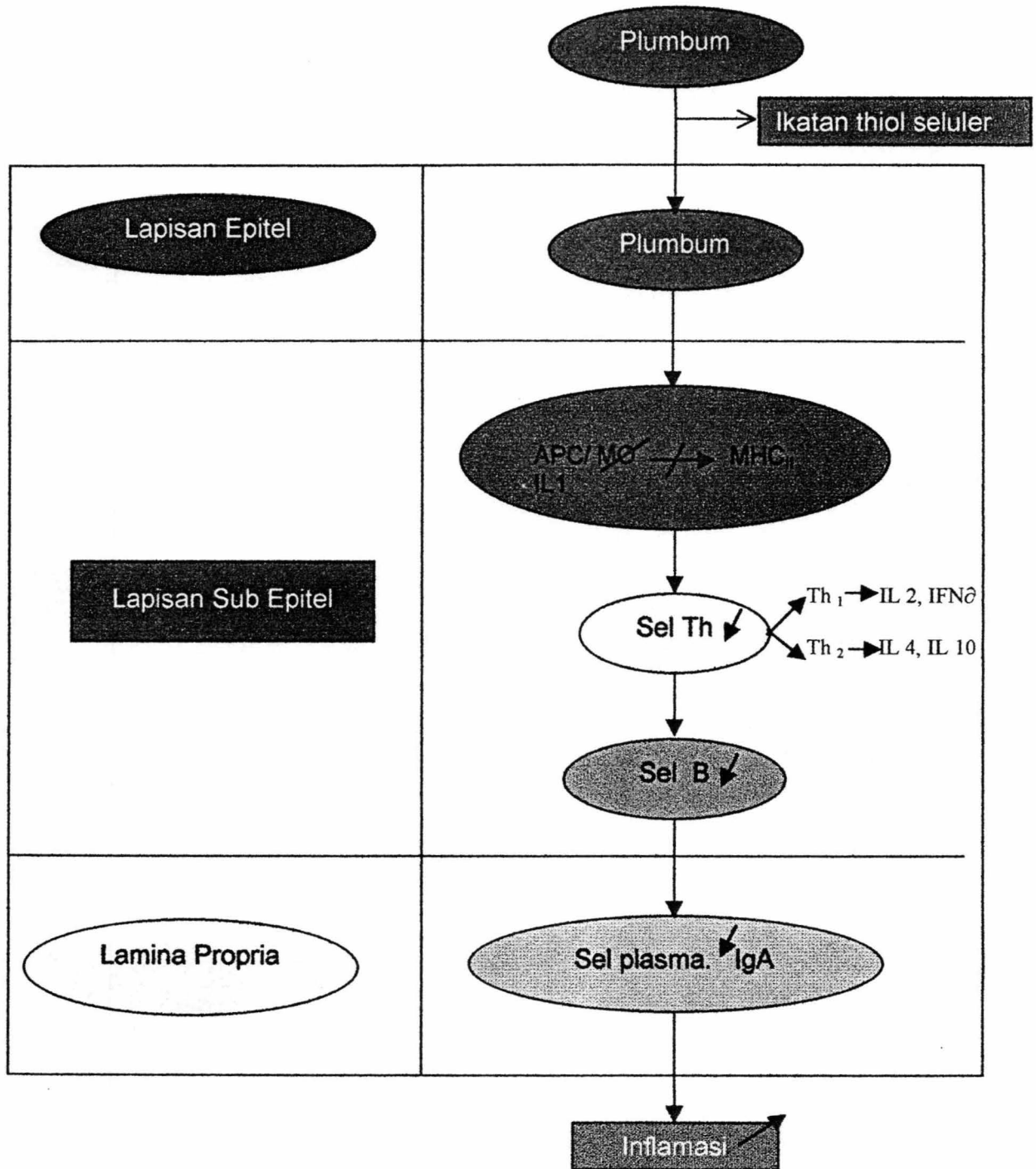
Dalam rongga mulut Pb akan diubah dahulu menjadi Pb sulfida (PbS) oleh karena biotransformasi dari bakteri anaerob yang ada pada sulkus gingival. PbS bersama dengan protein membentuk ikatan yang stabil (ikatan thiol seluler) dengan sel epitel sehingga merupakan suatu senyawa kompleks yang besar dan berperan sebagai imunogen.

Imunogen yang telah terikat pada epitel permukaan, dilepaskan kearah sub epitel kemudian di tangkap oleh makrofag dan diproses. Makrofag berperan sebagai Antigen Presenting Cells (APC), yang akan mempresentasikan plumbum.

Ikatan yang terjadi antara plumbum dengan protein di membran makrofag, menyebabkan Pb lebih bersifat imunogen dan menyebabkan gangguan pada fungsi sel. Gangguan fungsi sel pada sel imunokompeten dapat menyebabkan terjadinya penekanan limfopoiesis dan penurunan produk

interleukin 1 (IL-1) oleh makrofag. Penurunan produk IL 1 oleh makrofag mengakibatkan terjadinya hambatan pada aktifitas sel T helper dan hambatan proliferasi sel B menjadi sel plasma untuk memproduksi imunoglobulin A. Sifat imunogen Pb dapat mengakibatkan gangguan mediator yang memodulasi mekanisme sistem imunologik di mukosa mulut. Terjadinya gangguan pada sistem imunologik lokal di mukosa mulut akan mengakibatkan penurunan fungsi mukosa sebagai barrier imunologik. Kondisi seperti ini akan meningkatkan kemungkinan terjadinya inflamasi di mukosa mulut (bagan :3.1).

Bagan 3.1. Kerangka Konseptual penelitian



Keterangan gambar :

$M\emptyset$ = Makrofag (sebagai APC)

Th = T helper

IgA = Immunoglobulin

MHC = Major Histocompatibility

Complex kelas 2

3.2 Hipotesis Penelitian

Pada hasil penelitian ini dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pemberian plumbum (Pb) dengan variasi berbagai dosis berpengaruh terhadap penurunan respon imun di mukosa mulut tikus.

BAB 4

METODE PENELITIAN

Bab 4

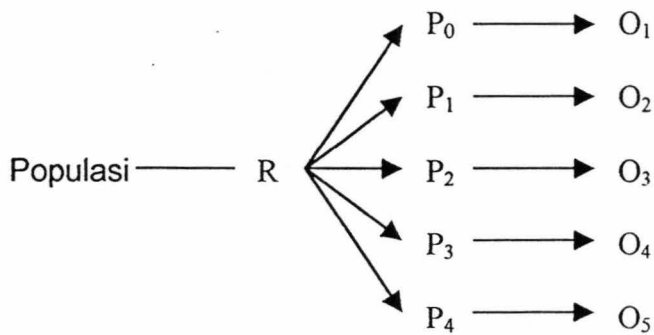
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

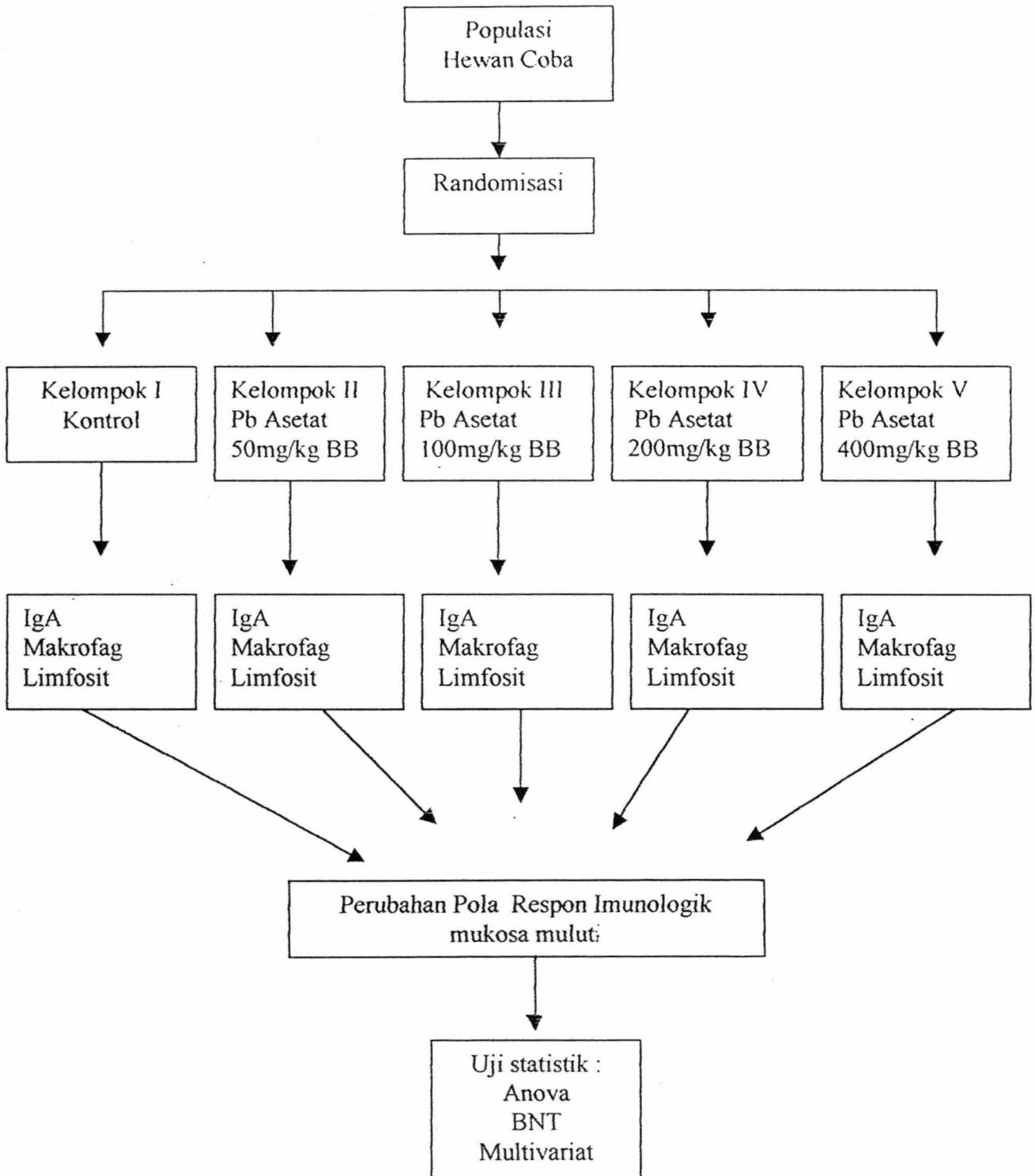
Penelitian ini bersifat eksperimen karena unit eksperimen diberi perlakuan berupa Pb Asetat, selain itu variable penelitian lain yaitu perlakuan kontrol (dikendalikan). Rancangan penelitian yang digunakan adalah "*Post test only control group design*" (Zainudin, 1988).

Dalam hal ini pengukuran variable hanya dilakukan pada akhir penelitian, sedangkan pada awal penelitian dilakukan *Control by design*" yaitu dengan menghomogenkan sampel penelitian.

Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut :



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian



Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan menggunakan 5 perlakuan dan 6 ulangan .

Tabel 4.1. Tabel Perlakuan dan Ulangan

U/P	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
U ₁					
U ₂					
U ₃					
U ₄					
U ₅					
U ₆					

Keterangan : P = Perlakuan

U = Ulangan

4.2. Populasi, Sampel dan Jumlah Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan Strain Winstar, umur 45 – 60 hari, dengan berat badan rata-rata 150 – 200 gr. Dari populasi tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai sampel penelitian. Jumlah sampel minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus Steel dan Torrie (1995).

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

t = treatment (perlakuan)

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

r = replikasi (ulangan)

$$r \geq 6$$

Jumlah sampel keseluruhan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus.

(perlakuan x ulangan)

4.3 Unit Analisis

Bahan yang dipakai untuk unit analisis diambil dari jaringan mukosa ginggiva tikus. Jaringan segar hasil pengirisan disimpan untuk dibuatkan sediaan parafin.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 - Variabel bebas atau variabel yang berpengaruh dalam penelitian ini

(*Independent Variabel*) adalah larutan Pb asetat dengan berbagai dosis.

- Variabel terpengaruh atau variabel tidak bebas dalam penelitian ini adalah jumlah Ig A, jumlah makrofag dan total limfosit.

4.4.2 Definisi Operasional Variabel

4.4.2.1 Variabel bebas : Plumbum Asetat dengan berbagai variasi dosis.

Pb asetat yang digunakan adalah Plumbum asetat Trihidrat dengan rumus kimia $(\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$. GR, ACS buatan Merck German dengan nomor kode 107375 yang mempunyai B.M 379,34 gr/ml.

4.4.2.2 Variabel tak bebas adalah perubahan respon imun dengan indikator yang diamati adalah jumlah Immunoglobulin A, jumlah makrofag dan total limfosit.

4.5. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan adalah :

- 1). - Bahan yang digunakan untuk memberikan perlakuan yaitu Plumbum Asetat Trihidrat yang dilarutkan dalam air suling dengan dosis harian masing-masing perlakuan , 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan Aquades untuk pemberian kontrol.
- Binatang percobaan adalah tikus putih jantan strain winstar, dengan berat badan seragam 150-200 gr umur 45-60 hari.
- 2). Bahan untuk makan dan minum berupa Pellet CP 511 dan Aquadest serta bahan untuk alas tidur berupa jerami.
- 3). Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan preparat adalah NaCl fisiologis, Buffer formalin 10 %, alcohol, Xylol, paraffin, asam cuka, aquadestilata, entelan kertas label, antibody monoclonal (monoklonal anti-Rat Ig A).
- 4) Bahan unuk pengamatan mikroskop seperti tissue lens, Immersion oil.

Alat penelitian yang digunakan adalah :

1. Kandang dari plastik dengan ukuran 40 x 30 x 15 cm yang ditutup dengan anyaman kawat beralaskan sekam dilengkapi dengan tempat makan dan botol minum.
2. Timbangan milligram Metler, gunting bedah, scalpel, pinset, pipet, dan bak plastik.
3. Kaca obyek, coverglass, mikrotom, waterbath, mikroskop, grateculae, alat photography mikro micron, film fuji super ASA 200.

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi F.K Unair dan Farmasi Unair. Pemrosesan jaringan dan analisis dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi FK Unair. Pembuatan Plumbum Asetat dilakukan di laboratorium Farmasi Unair. Waktu penelitian September sampai dengan Desember 1999.

4.2 Tabel Jadwal Penelitian

Tahapan Kegiatan	BULAN															
	September				Oktober				November				Desember			
1. Persiapan sampel	X	X	X	X												
2. Alat/Bahan	X	X	X	X												
3. Laboratorium	X	X	X	X												
Pelaksanaan penelitian																
1. Koleksi sampel	x	X	X	X												
2. Pemeriksaan HPA, imunohistokimia					X	X	X	X								
3. Uji lanjut statistik									X	X	X	X				
4. Analisa data													X	X	X	X

4.7. Prosedur Pelaksanaan Penelitian

4.7.1 Hewan coba :

1. Tikus jantan strain winstar sebanyak 30 ekor diadaptasikan dengan kondisi lingkungan selama 1 minggu .
2. Dibagi menjadi 5 kelompok masing- masing 6 ekor .
3. Setiap individu dari masing- masing kelompok ditimbang dan dimasukkan kedalam kandang individual berukuran 40x 30x15 cm³.
4. Makanan yang diberikan adalah pelet CP 511 yang mempunyai komposisi air 11-12 % , protein kasar 21-23 % , serat kasar 3-5 % , lemak 5-8 % dan abu 4-7 % . Air minum adalah aquadest yang diberikan secara ad libitum .
5. Tikus diberi larutan Pb asetat dimulai umur 45- hari . kelompok pertama setiap hari diberi minuman aquadest sebagai kontrol, kelompok kedua setiap hari diberi larutan Pb asetat dengan dosis 50 mg/kg BB , kelompok ketiga setiap hari diberi larutan Pb asetat dengan dosis 100 mg/kg BB , kelompok ke empat setiap hari diberi larutan Pb asetat dengan dosis 200 mg/kgBB , kelompok ke lima setiap hari diberi larutan Pb asetat dengan dosis 400mg/kgBB . Larutan Pb asetat diberikan melalui rongga mulut dengan cara sonde yang diarahkan pada ginggiva rahang bawah sebelah bukal kanan regio premolar sampai molar dengan memakai jarum suntik 2 ml sesuai konsentrasi masing-masing perlakuan .



6. Setiap tujuh hari berat badan tikus ditimbang untuk mengetahui perubahannya .
7. Pada hari ke enam puluh setelah tikus ditimbang berat badannya tikus dimatikan .

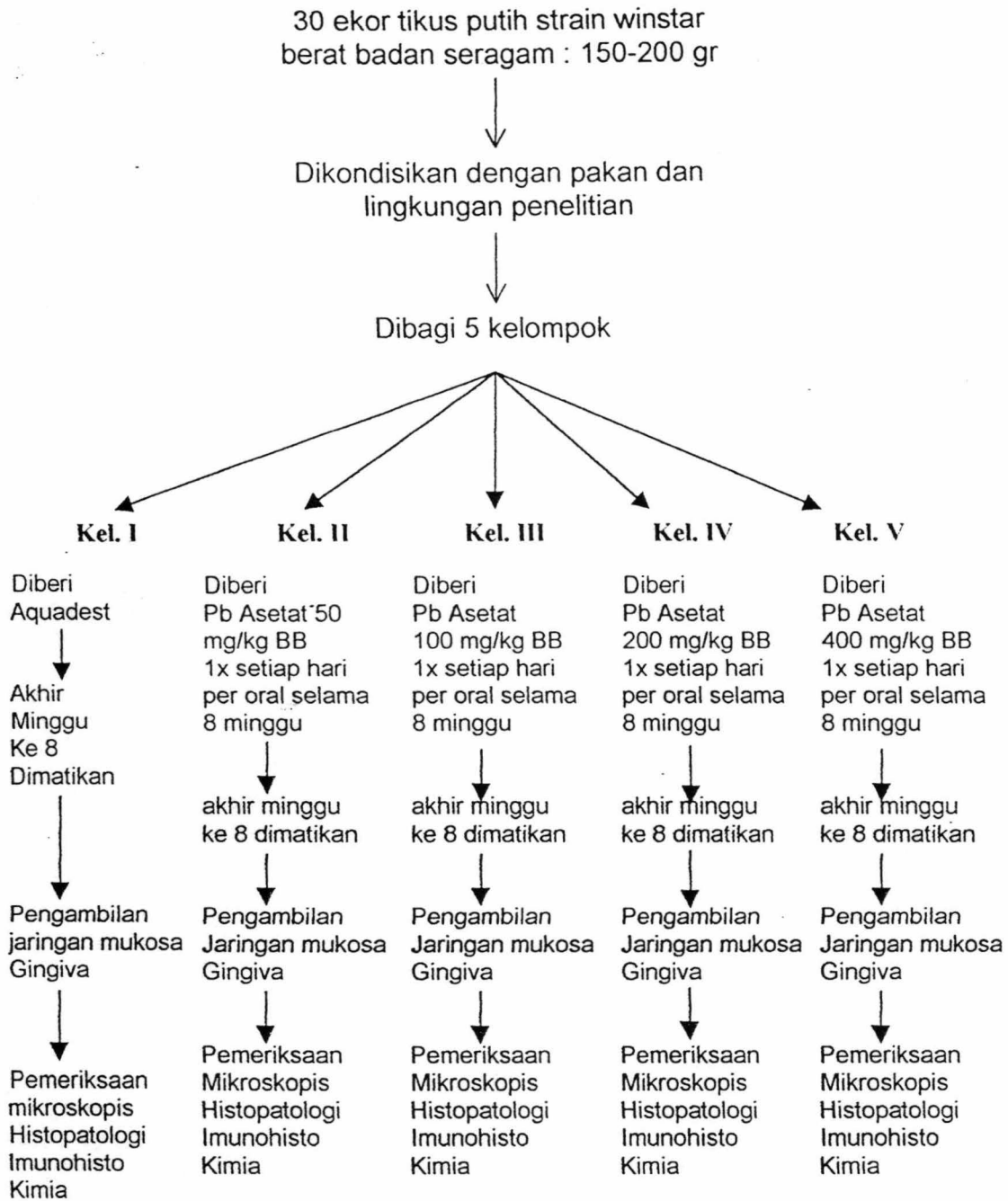
4.7.2. Prosedur persiapan dan pengumpulan data

- Tikus yang telah dimatikan diambil irisan mukosa gingiva bagian marginal dan interdental papil
- Jaringan segar yang didapat disimpan untuk dibuatkan sediaan parafin
- Untuk menampilkan variabel IgA yang akan dianalisis, sediaan jaringan diberi pewarnaan immunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal khusus IgA
- Untuk makrofag dan total limfosit digunakan pewarnaan HE
- Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan grateculae

4.9. Analisis Data

Data dari pengamatan histologik gingiva dianalisis dengan menggunakan Anova (Analisis varian). Dan jika didapat beda varian bermakna ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji BNT.

KERANGKA KERJA PENELITIAN



BAB 5
HASIL PENELITIAN
DAN
ANALISIS

Bab 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1. Hasil Penelitian

Hasil perlakuan dikelompokkan sesuai dengan penelitian dari Pb (plumbum) Asetat, yaitu kelompok yang menerima dosis 50 mg/kg PB perhari, kelompok yang menerima dosis 100 mg/kg BB perhari, kelompok yang menerima dosis 200 mg/kg BB perhari, kelompok yang menerima dosis 400 mg/kg BB perhari dan kelompok kontrol.

Tabel 5.1 Data Pengamatan Hasil Penelitian

Sampel	Perlakuan	Jenis Pemeriksaan	
		Imunohistokimia	Histopatologik
6	Dosis 50 mg/kg BB	Imunohistokimia	Histopatologik
6	Dosis 100 mg.Kg BB	Imunohistokimia	Histopatologik
6	Dosis 200 mg/kg BB	Imunohistokimia	Histopatologik
6	Dosis 400 mg/kg BB	Imunohistokimia	Histopatologik
6	kontrol	Imunohistokimia	Histopatologik

Tikus yang mengalami perlakuan tidak menunjukkan tanda-tanda keracunan secara klinis. Data mengenai berat badan mencit (lampiran 1) menunjukkan bahwa berat badan tidak dipengaruhi oleh paparan Plumbum. Semua tikus tampak normal pada saat dibunuh, tidak ada kelainan yang dapat diamati. Dari data dapat disimpulkan bahwa tikus dapat mentoleransi paparan plumbum dengan baik.

Hasil pembacaan dan penghitungan unit analisa di kelompokkan sesuai dengan variabel yang sudah ditentukan. Data mengenai hasil pembacaan sediaan (lampiran 2) diperoleh dari tiga kali pembacaan. Selanjutnya seluruh data dikelompokkan sesuai variabel dan dihitung nilai reratanya.

Tabel 5.2 Rerata jumlah IgA mukosa mulut tikus akibat pemberian Pb asetat Dengan variasi dosis.

Kelompok	Dosis Pb Asetat (mg/kgBb)				
	P0	P1	P2	P3	P4
Rerata IgA	7,067	5,783	4,300	3,350	2,467
Simpangan Baku	0,602	0,542	0,482	0,497	0,288

Dari tabel 5.2 tersebut diatas terlihat bahwa rerata jumlah IgA pada pemberian Pb asetat dengan dosis yang berbeda rerata jumlah IgA menunjukkan ada perbedaan pada tiap-tiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Rerata jumlah IgA pada kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 semakin menurun seiring dengan bertambah besar dosis yang diberikan.

Tabel 5.3 Rerata jumlah Makrofag mukosa mulut tikus akibat pemberian Pb Asetat dengan variasi dosis.

Kelompok	Dosis Pb asetat mg/kgBb				
	P0	P1	P2	P3	P4
Rerata makrofag	6,300	3,350	2,350	1,700	1,300
Simpangan Baku	0,716	0,606	0,698	0,452	0,268

Dari tabel 5.3 tersebut diatas terlihat bahwa rerata jumlah makrofag pada pemberian Pb asetat dengan dosis yang berbeda rerata jumlah makrofag menunjukkan ada perbedaan pada tiap-tiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Rerata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 dan P4 semakin menurun seiring dengan bertambah besarnya dosis yang diberikan.

Tabel 5.4 Rerata jumlah Limfosit mukosa mulut tikus akibat pemberian Pb asetat dengan variasi dosis.

Kelompok	Dosis Pb Asetat (mg/Kg Bb)				
	P0	P1	P2	P3	P4
Rerata Limfosit	6,650	4,267	2,833	2,167	2,000
Simpangan Baku	0,838	0,656	0,408	0,408	1,829

Dari table 5.4 tersebut diatas terlihat bahwa rerata jumlah limfosit pada pemberian Pb asetat dengan dosis yang berbeda rerata jumlah limfosit menunjukkan ada perbedaan pada tiap-tiap kelompok perlakuan dan kontrol. Rerata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 dan P4 semakin menurun dengan bertambah besarnya dosis yang diberikan.

Keterangan tabel 5..

- I. P₀ = Kelompok dosis 0mg/kg BB (kontrol)
- II. P₁ = Kelompok dosis 50 mg/kg BB
- III. P₂ = Kelompok dosis 100 mg/kg BB
- IV. P₃ = Kelompok dosis 200 mg/kg BB
- V. P₄ = Kelompok dosis 400 mg/kg Bb

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Tabel 5.5 Hasil analisis anova univariate pemberian variasi dosis Pb Asetat terhadap jumlah IgA mukosa mulut tikus

Sumber varian	db	JK	KT	F hitung	Sig. F. 0,05
Antar Group	4	82,129	20,532	84,286	0,000
Dalam Group	25	6,090	0,244		
Total	29	88,214			

Dari analisis varians pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah IgA mukosa mulut tikus menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata diantara ke 4 dosis Pb asetat yang diaplikasikan terhadap jumlah IgA mukosa mulut tikus dengan $p < 0,05$ (nilai $F = 84,286$, $p = 0,000$).

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan dari pengaruh variasi dosis yang diberikan terhadap jumlah IgA mukosa mulut, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji perbandingan berganda (multiple comparison) yaitu memakai Uji BNT yang hasilnya disajikan dalam tabel 5.6 berikut ini :

Tabel 5.6 Hasil uji BNT tentang pemberian variasi dosis Pb Asetat terhadap Jumlah IgA mukosa mulut tikus

Dosis Pb asetat (mg/kg BB)	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
P ₀		*	*	*	*
P ₁			*	*	*
P ₂				*	*
P ₃					*
P ₄					

Keterangan $\alpha = 0,05$

Dari hasil uji BNT yang disajikan pada tabel 5.5 diatas terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan (bermakna) jumlah IgA mukosa mulut terhadap pemberian Pb asetat, namun antara dosis 200 mg/kg BB dengan 400 mg/kg BB perbedaannya kurang bermakna, artinya pengaruh kedua dosis tersebut tidak terlalu berbeda.

Tabel 5.7 Hasil analisis anova univariate pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah makrofag mukosa mulut tikus

Sumber varians	db	JK	KT	F hitung	Sig. F. 0,05
Antar Group	4	96,090	24,023	73,150	0,000
Dalam Group	25	8,210	0,328		
Total	29	104,300			

Dari analisis varians pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah makrofag mukosa mulut tikus menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata diantara ke 4 dosis Pb asetat yang diaplikasikan terhadap jumlah makrofag mukosa mulut tikus dengan $p < 0,05$ (nilai $F = 73.150$ $p = 0,000$).

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan dari pengaruh variasi dosis yang diberikan terhadap jumlah makrofag mukosa mulut, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji perbandingan berganda (multiple comparison) yaitu memakai Uji BNT, yang hasilnya disajikan dalam tabel 5.8 berikut ini.

Tabel 5.8 Hasil uji BNT pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah makrofag mukosa mulut tikus

Dosis Pb asetat (mg/kg BB)	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
P ₀	*	*	*	*	*
P ₁			*	*	*
P ₂				*	*
P ₃					*
P ₄					

Dari hasil uji BNT yang disajikan pada tabel 5.6 diatas terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan (bermakna) jumlah makrofag mukosa mulut terhadap pemberian Pb asetat, namun antara dosis 200 mg/kg BB dengan 400 mg/kg BB perbedaannya kurang bermakna, artinya pengaruh kedua dosis tersebut tidak terlalu berbeda.

Tabel 5.9 . Hasil analisis anova univariate pemberian variasi dosis Pb Asetat terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus

Sumber varians	db	JK	KT	F hitung	Sig. F. 0,05
Antar Group	4	89,687	22,422	76,420	0,000
Dalam Group	25	7,335	0,293		
Total	29	97,022			

Dari Analisis Varians pemberian variasi dosis Pb Asetat terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata diantara ke 4 dosis Pb Asetat yang diaplikasikan terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus dengan $p < 0,05$ (nilai F 76.420 $p = 0,000$)

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan dari pengaruh variasi dosis yang diberikan terhadap jumlah limfosit mukosa mulut, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji perbandingan berganda (multiple comparison) yaitu memakai uji BNT, yang hasilnya disajikan dalam tabel 5.10 berikut ini :

Tabel 5.10. Hasil uji BNT pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah limfosit mukosa mulut tikus

Dosis Pb asetat (mg/kg BB)	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
P ₀		*	*	*	*
P ₁			*	*	*
P ₂				*	*
P ₃					*
P ₄					

Selanjutnya untuk memperkuat hasil analisis anova univariate dilakukan uji anova multivariate pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah IgA makrofag dan limfosit mukosa mulut tikus.

Tabel 5.11. Hasil analisis anova multivariate pemberian variasi dosis Pb asetat terhadap jumlah IgA, makrofag dan limfosit mukosa mulut tikus.

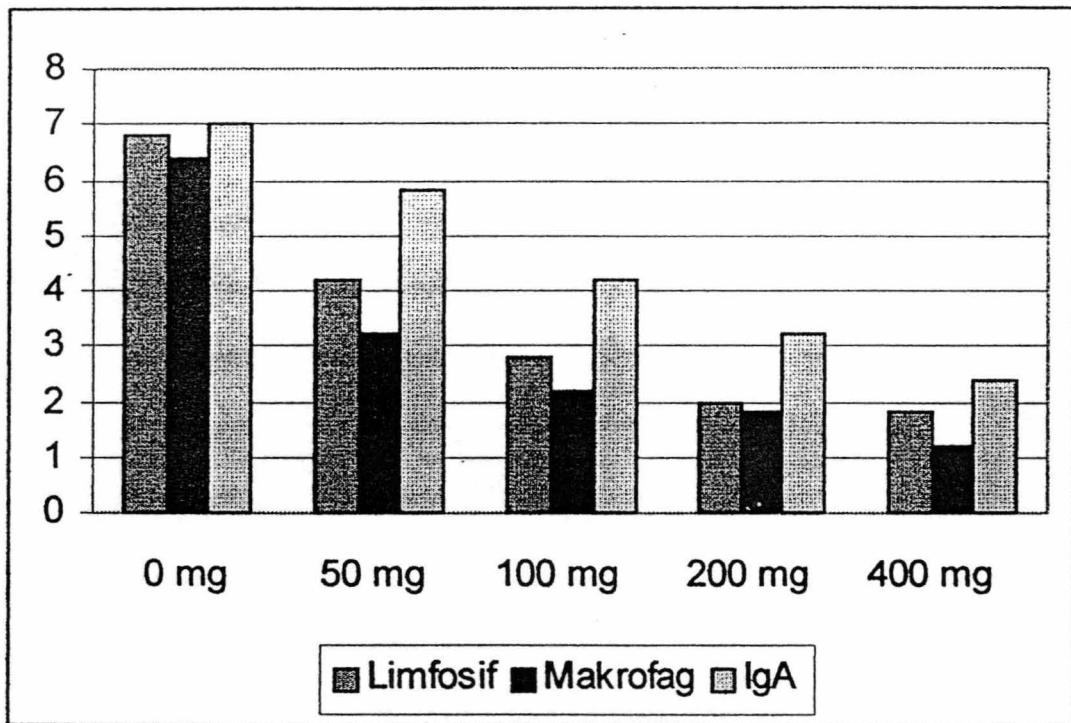
Test name	df	Value	Sig.
Wilk's Lambda	12.000	.008	.000

Hasil uji anova multivariate (manova) dari pemberian Pb asetat variasi dosis terhadap jumlah IgA, makrofag, limfosit mukosa mulut tikus (tabel 5.11) dengan nilai Wilk's Lambda $P = 0,000$ dan $P < 0,05$ membuktikan bahwa pemberian Pb asetat sangat berpengaruh terhadap perubahan respon imun mukosa mulut tikus (signifikan).

Untuk mempermudah mengamati perbedaan pengaruh respon imun dibuatkan diagram batang dari rerata nilai respon imun dari pengaruh Pb asetat dengan pemberian berbagai dosis (Gambar 5.1).

Sedangkan untuk melihat kemaknaan hubungan antara dosis Pb asetat dengan perubahan respons di mukosa dilakukan uji Regresi Linear.

Dari hasil uji statistik (lihat lampiran 12) menunjukkan hubungan yang kuat antara pemberian variasi dosis Pb-asetat dengan perubahan repons imun di mukosa , yang dapat dilihat dari nilai p dan b .



Gambar 5.1 Perbedaan Jumlah IgA, Makrofag dan limfosit akibat pemberian Pb asetat dengan variasi berbagai dosis

BAB 6

PEMBAHASAN

Bab 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bermaksud mengungkap jawaban dari masalah penelitian tentang pengaruh Pb Asetat terhadap perubahan respons imun di mukosa mulut tikus serta mempelajari sejauh mana pemberian berbagai dosis Pb asetat terhadap perubahan imunopatologik atas dasar pola respon imun mukosa mulut dengan melihat seberapa besar perubahan jumlah Ig A ,makrofag dan total limfositnya . Pola tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk mengungkap mekanisme terjadinya imunopatogenesis pada sistem imunitas mukosa mulut sebagai gejala awal keracunan Pb yang sulit untuk dihindari.

Plumbum (Pb) telah dikenal sebagai polutan lingkungan yang dapat menyebabkan efek imunopatologik pada beberapa jaringan. Respon imun ini akan berkaitan dengan sifat toksik dari logam berat ini. Salah satu media penyerapan Pb adalah melalui saluran cerna, disini Pb sudah dapat membangkitkan respon imun lokal, tetapi karena logam berat ini ikut aliran getah bening, maka pada keadaan selanjutnya respon imun ditekankan pada respon imun sistemik.

Design penelitian yang digunakan adalah *Post test only control group design*. *Design* ini diterapkan pada hewan coba tikus jantan strain winstar berusia 45-60 hari dengan rerata berat badan 150-200 gr. Alasan pemilihan

tikus untuk menghindari siklus estrus yang dapat mempengaruhi respon imunologik tikus.

Selanjutnya ditetapkan dosis larutan Pb asetat yang diberikan. Pemberian dosis ini berdasarkan penelitian sejenis yang pernah dilakukan oleh peneliti lain. Dosis Pb asetat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 mg/kg BB; 100 mg/kg BB, 200mg/kgBB dan 400 mg/kg BB. Dalam penelitian Wahyuni (1996) telah dibuktikan bahwa Pb asetat dengan dosis minimum sebesar 50 mg/kg BB berpengaruh terhadap tubulus kontortus distalis ginjal tikus.

Sedangkan Zhao Fuzhu dan Jones MM (1988) dalam penelitiannya membuktikan bahwa tikus yang diberi Pb asetat dengan interval dosis 87,1 mg/kg BB – 210,3 mg/kg BB mengakibatkan penyusutan hati, ginjal, limfa, tulang serta otak. Hal ini ditunjang oleh peneliti lain yaitu Loegito, Soegeng S dan Forri D. (1997) bahwa pemberian larutan Pb nitrat dengan konsentrasi 1,5 ppm sebanyak 0,5 CC selama 10 hari, dengan waktu pemberian yang berbeda ternyata menimbulkan kerusakan pada sel-sel hepar yang berbeda.

Penelitian yang dilakukan oleh Grassman (1996) bahwa pemberian Pb asetat dengan interval dosis 100 mg/kg BB – 400 mg/kg BB pada *Japanese Quail* dapat menekan jumlah total antibodi sekunder sedangkan Tomzock (1991) Pb asetat mengakibatkan kerusakan pada ultra struktur enterocyt.

Untuk mengetahui pengaruh Pb asetat pada mukosa mulut telah dilakukan penelitian oleh Sudibyso (1993) bahwa pemberian Pb asetat dengan interval dosis 400 – 500 mg/kg BB menyebabkan Pb asetat terdeposisi

(terakumulasi) pada mukosa gingival yang kadarnya lebih tinggi dari organ lain kecuali ginjal.

Unit analisis adalah irisan jaringan gingiva tikus rahang bawah sebelah kanan, selanjutnya unit analisa tersebut dijadikan sediaan parafin. Pewarnaan yang digunakan untuk menunjukkan adanya reaksi imunologik dari variabel IgA digunakan pewarnaan imunohistokimia, mengingat diperlukan marka khusus untuk pembacaannya. Pewarnaan yang digunakan untuk variabel makrofag dan limfosit adalah HE

Untuk memecahkan masalah penelitian digunakan pendekatan berkonsep imunopatologik yang menempatkan kelainan sistem imunologik sebagai penyebab maupun sebagai akibat dari proses patobiologik (Putra, 1997). Pengempirian variabel menjadi data dilakukan dengan pemeriksaan *morfofungsi* yang dicerminkan oleh imunoglobulin A , makrofag dan limfosit. Ke tiga variabel tersebut dihitung dengan metode Grateculae pada pembesaran 400 kali. Hasil pengamatan ke tiga variable tersebut dapat dilihat pada tabel 5.2, 5.3 dan 5.4. Sedangkan untuk melihat perubahan imunopatologik yang didasarkan oleh ke tiga variabel tersebut maka dilakukan analisa varian (Anava). Pada hasil Anava tersebut kemudian dilakukan analisis komparasi ganda (BNT) untuk mengetahui dosis mana yang berbeda nyata. Sedangkan untuk melihat hubungan antara pemberian variasi dosis Pb asetat dengan respon imun yang dicerminkan oleh variabel IgA, makrofag dan limfosit dilakukan uji Regresi , sehingga pola tersebut diharapkan dapat mencerminkan penurunan sistem imunologik mukosa mulut terhadap pemaparan Pb.

Hasil uji anova univariate membuktikan bahwa pemberian Pb asetat dengan dosis 50 mg/kg BB; 100 mg/kg BB; 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang signifikan (nyata) diantara ke 4 dosis Pb asetat tersebut yang diaplikasikan terhadap jumlah IgA, dengan $p < 0,05$, nilai $F=84$, $p = 0,000$ (tabel 5.5), jumlah makrofag nilai $F=73,150$; $p=0,000$ (tabel 5.7), jumlah limfosit nilai $F=76,420$, $p=0,000$ (tabel 5.9) . Dengan adanya perbedaan yang signifikan dari jumlah IgA, makrofag dan limfosit pada ke 4 kelompok perlakuan dapat ditafsirkan pula ada perbedaan respon imun . Menurut Goodman (1994) respons imun terjadi terutama oleh interaksi tiga sel yaitu makrofag, limfosit T dan limfosit B. Untuk selanjutnya penafsiran pola respon imun mukosa mulut dapat didasarkan atas variabel jumlah IgA, jumlah makrofag dan limfosit . Dari gambaran pola respon imun imunologik mukosa mulut dapat ditafsirkan bahwa pemberian Pb asetat dengan berbagai variasi dosis berhubungan dengan terjadinya penurunan respon imun mukosa mulut yang dicerminkan oleh penurunan jumlah variabel IgA, makrofag dan limfosit. Dari gambar 5.1 dapat dilihat bahwa semakin besar pemberian dosis Pb asetat semakin menurunkan jumlah variabel IgA, makrofag dan limfosit . yang berarti juga semakin besar dosis Pb asetat yang diberikan semakin menurunkan respon imun di mukosa mulut.

Untuk membandingkan kemaknaan dari pengaruh variasi dosis yang diberikan terhadap jumlah IgA, makrofag dan limfosit dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT.

Dari hasil uji BNT dapat dibuktikan bahwa terlihat ada perbedaan yang signifikan antara jumlah IgA, makrofag dan limfosit terhadap pemberian Pb asetat (tabel 5.6, 5.8 dan 5.10) dengan variasi dosis Pb. Pemberian Pb asetat mulai kelompok dosis 50 mg/kg BB sudah tampak adanya perbedaan yang signifikan antara jumlah IgA, makrofag dan limfosit dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$) (tabel 5.6; 5.8; 5.10). Terjadinya penurunan jumlah IgA, makrofag dan limfosit mulai dari kelompok dosis 50 mg/kg BB dapat ditafsirkan juga sudah mulai terjadi penurunan pada respon imun mukosa mulut. Namun pada pemberian dosis antara 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang kurang bermakna artinya pengaruh ke 2 dosis tersebut tidak terlalu berbeda terhadap penurunan jumlah IgA, makrofag dan limfosit. Hal ini dapat ditafsirkan bahwa penurunan respon imun antara ke 2 dosis tersebut tidak terlalu beda (kurang signifikan) ($\alpha = 0,05$) lihat tabel (5.6; 5.8; 5.10) tetapi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol sangat bermakna sekali.

Untuk memperkuat hasil uji anova univariate dilakukan juga uji anova multivariate terhadap jumlah IgA, makrofag dan limfosit akibat pengaruh pemberian Pb asetat dengan menggunakan berbagai variasi dosis. Hasil uji anova multivariate membuktikan bahwa pemberian Pb asetat dengan berbagai variasi dosis dapat menyebabkan perubahan respon imun yaitu berupa penurunan respon imun dengan nilai Wilk's Lambda $p = 0,000$ dan $p < 0,005$ signifikan (table 5.11).

Sedangkan untuk melihat kemaknaan hubungan antara dosis Pb dengan respons imun dilakukan uji Regresi Linear.. Dari hasil uji statistik menunjukkan

ada hubungan yang kuat antara pemberian variasi dosis dengan perubahan respons imun, yang dicerminkan oleh perubahan jumlah variabel IgA, makrofag dan limfosit, yang ditunjukkan dengan nilai p dan β (lampiran 12).

Terjadinya penurunan jumlah IgA, makrofag dan limfosit seiring dengan meningkatnya dosis Pb asetat hal ini mungkin disebabkan oleh karena Pb asetat merupakan salah satu unsur logam berat yang bila dipaparkan secara terus menerus akan mudah terakumulasi pada mukosa karena ekskresinya lambat juga karena Pb asetat mempunyai daya afinitas yang tinggi terhadap membran sel. Kemampuan ini menimbulkan kompetisi dalam proses penyerapan di mukosa dengan logam esensial lain (seperti kalsium dan besi). Akibat kompetisi dalam penyerapan itu menyebabkan terjadinya hambatan pada aliran kalsium sebagai pengganti kalsium oleh Pb sehingga menyebabkan fungsi homeostasis sel terganggu dan tidak berfungsi serta akan menurunkan metabolisme sel (Goyer 1995).

Apabila kondisi ini terjadi pada sel-sel imunokompeten (seperti sel B) maka Pb ini dapat mengakibatkan fungsi homeostasis sel tidak berfungsi dan terganggu sehingga berpengaruh terhadap menurunnya metabolisme sel ,akibatnya terjadi penurunan fungsi sel B. Terjadinya penurunan fungsi sel B akan berpengaruh pada penurunan sistem imunitas tubuh oeh karena sel B tidak dapat memproduksi imunoglobulin dengan sempurna sehingga menyebabkan penurunan imunitas tubuh . Penurunan sistim imunitas ini dapat ditafsirkan dari penurunan jumlah IgA, makrofag dan limfosit. Dari hasil penelitian tampak



penurunan variable IgA, makrofag dan limfosit akibat pemberian Pb asetat dengan dosis yang semakin besar.

Penurunan respons imun kemungkinan juga dapat disebabkan karena Pb mempunyai sifat sebagai penekan sistem imun ("Imunosupresor") , hal ini telah dibuktikan oleh Dean(1986);Trust (1990); Castilo Mendez(1993) dan Queiroz(1994) dalam penelitiannya dimana Pb dapat menurunkan respons imun berupa gangguan pada sel-sel imunokompeten. Gangguan tersebut dapat berupa gangguan fungsi sel, metabolisme sel, homeostasis sel, sehingga akibat gangguan pada sel-sel imun tersebut sistem imun menjadi terganggu. Di dalam penelitian ini terjadi nya penurunan jumlah makrofag mungkin disebabkan adanya gangguan pada fungsi awal makrofag seperti pengenalan antigen dan pemrosesan antigen (Trust,1990). Akibat adanya gangguan pada fungsi makrofag terjadi juga gangguan pada sel-sel imun yang lain, sehingga respons imun tidak dapat berjalan dengan sempurna. Hal ini diperkuat oleh Villaneuva (1997) dalam penelitiannya yang telah membuktikan bahwa akibat paparan Plumbum dengan dosis 1300 ppm terjadi penurunan 91% daya sensitivitas dan 96% daya spesifisitas dari makrofag. Sedangkan Tian (1995) dalam penelitiannya telah membuktikan bahwa akibat paparan Pb, produksi nitrit oksida oleh makrofag menjadi menurun, mengakibatkan kemampuan daya fagositosis oleh makrofag juga menjadi menurun akibatnya timbul gangguan pada sistem imun tubuh.

Peneliti lain seperti McMurry (1995) juga telah membuktikan bahwa akibat paparan Pb asetat akan mempengaruhi jumlah variable imunologi seperti jumlah

limfosit, neutrofil dan eosinofil. Dari hasil penelitiannya penurunan jumlah limfosit berkaitan dengan penurunan fungsi makrofag. Penurunan fungsi makrofag disebabkan karena makrofag merupakan tempat yang sangat sensitive bagi "metallothionin" yaitu protein dengan banyak gugusan thiol yang diproduksi sebagai akibat induksi dari logam berat, akibatnya paparan Pb menyebabkan daya sensitivitas dan spesifisitas makrofag menjadi menurun. Dapat juga metallothionin yang terikat pada plasma membran makrofag menyebabkan pengiriman sinyal akan berlangsung dengan media yang mengandung Pb, sehingga mengakibatkan penurunan produksi nitrit oksida yang diperlukan oleh makrofag untuk memusnahkan zat asing dapat juga Pb menghambat produk interleukin 1 (IL -1) oleh makrofag menyebabkan gangguan pada fungsi sel imunokompeten yang lain akibatnya terjadi penurunan kapasitas produksi respons imun yang efektif.

Sedangkan Griem (1998) dalam penelitiannya membuktikan bahwa sampai saat ini mekanisme Pb dalam mempengaruhi aktivasi limfosit T masih belum dapat dijelaskan secara detail.

Pengaruh Plumbum terhadap organ organ tubuh juga telah dibuktikan oleh McMurry (1995) bahwa pengaruh Pb dalam air minum dengan konsentrasi 0 ppm, 100ppm dan 150 ppm setelah 7 minggu terjadi penyusutan hati, vesikula seminalis dan jumlah sperma pada mencit jantan. Rasile (1995) pengaruh Pb pada tikus dengan kadar 0,5% dalam air minum menunjukkan adanya pengurangan berat badan serta pembukaan mata semakin lebar. Sedang Isidora,dkk (1993) membuktikan bahwa hasil pemeriksaan darah pada penduduk

yang ada disekitar pabrik aki mengandung Pb yang kadarnya lebih tinggi dari normal dan pada mukosa mulut ditemukan banyak bercak hitam ke abu-abuan. Hasil penelitian ditunjang oleh Sudibjo (1993) bahwa akibat paparan Pb asetat yang diberikan secara per oral dalam waktu 9 minggu menyebabkan Pb terdeposisi pada gingival sehingga menyebabkan perubahan warna.

Amsyari (1999) dari hasil penelitiannya telah membuktikan bahwa kondisi air PDAM yang diproduksi dari kali Surabaya banyak mengandung bahan kimia dan beberapa unsur logam berat seperti Hg, Pb dan Cd, yang sangat berpengaruh terhadap kesehatan konsumen seperti gangguan pada fungsi darah, hati, ginjal, syaraf dan fungsi kekebalan tubuh.

Akibat terjadi penurunan respons imun di mukosa mulut, dalam pemeriksaan secara oral didapatkan warna gingival tampak pucat dibanding daerah sekitarnya, didapatkan juga garis timah hitam dan sedikit pembengkakan pada kelenjar liur.

Dari hasil penelitian dan ditunjang oleh beberapa hasil penelitian lain telah dapat dibuktikan bahwa Plumbum asetat sebagai salah satu unsur logam berat yang ada dimana-mana ternyata berpotensi untuk menyebabkan gangguan pada sistem imunitas tubuh sehingga menimbulkan gangguan pada organ-organ tubuh yang lain.

BAB 7
KESIMPULAN
DAN
SARAN

Bab 7

Kesimpulan dan Saran

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisa dan pembahasan tentang perubahan respons imun pada mukosa mulut tikus akibat pemberian Pb Asetat maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pemberian Pb asetat menyebabkan penurunan respon imun mukosa mulut yang dicerminkan oleh variabel Immunoglobulin A (IgA), makrofag dan limfosit.

7.2 Saran

- Penelitian ini masih dapat dikembangkan dengan menambah jangka waktu pengamatan dan mempersempit kisaran dosis sehingga akan didapatkan gambaran yang lengkap, dan pengaruh Pb asetat terhadap penurunan respon imun dimukosa mulut.
- Perlu dilanjutkan penelitian tentang pengaruh Pb asetat agar dapat memberikan gambaran yang jelas tentang mekanisme penurunan respon imun mukosa mulut dan pengaruhnya terhadap organ-organ lain.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Abbas AK, Lichman AH, Pober JS, 1994. *Celluler And Molecular Immunology 2nd*. Philadelphia W.B.Saunders Co. 4-13.
- ATSDR. 1995. *Case Studies in Environmental Medicine : Lead Toxicity*. Agency to Toxic Substance and Disease Registry, Publigh Health Service -US Department of Health and Human Service. p.18-20.
- Amsyari. F, 1999. Pencemaran kali Surabaya telah berada pada titik merah.Harian Surya Surabaya.
- Barltrop D, 1981. Transfer of Lead to The Human Fetus. In Barltrop D and Burland WL ed *Mineral Metabolism in Pediatric* ,Philadelphia, Davis Co p.135-131.
- Bellanti JA, 1993. *Immunologi III*. Gajah Mada University Press Jogjakarta.
- Bhaskar,SN, 1981. *Synopsis of Oral Pathology 6 th ed*, The C.V.Mosby Co St.Louis, London, p.663.
- Brandtzaeg P, 1995 *Moleculer and celluler aspectof The Secretary Immunoglobulin System*. APMIS 103 (1) p.1-19.
- Burket L.W, 1994 : *Gingival Enlargments in Oral Medicine : Diagnosis and Treatment*, 9th ed, Philadelphia , Harper and. Row Publishens, 322-329.
- Castillo Mendez A, et al. 1993. Effect of Occupational Lead exposure on Immunoglobulin concentration and Cellular Immune Function in Man. *Rev.Alerg* 40(2) march, p.33-36.

- Carranza, FA, 1994. *Clinical Periodontology*, 8th ed. Philadelphia W.B.Saunders Company 125-147.
- Challacombe, S.J. 1994. *Immunology of Deaseases of the oral cavity in Handbook of mucosal immunology*, Edited by Ogra PL Lamme ME, Mc Ghee JR. Mestecky J; Stoober W, Benenstock Acad - Press 1994 : 607-610.
- Dean JH, Murray MJ and Ward EC, 1986. *Toxic Respons of the immusystem*. In Cassarets & Douls Toxicology the Basic Scien of Poison 3rd edition, editor Curtis D Klassen. Mc Miller Publ. Co. 245 - 385.
- Dobson, V dan Zenz, C, 1988. *Lead and ITS Compound* : Zenz (ed) In : *cupational Medicine Principlers and Practical Application* 2nd ed, year Book Medical Publisher, Inc, USA, P.547-581.
- Dolby, 1975. *Health and Disease of Oral Mucosa*. London W.B Sauders. P.4-86
- Ganiswara, SG (editor), 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedoktran Universitas Indonesia Jakarta : 782-788.
- Glickman,1982. *Clinical Periodontology*, 6th ed The C.V.Mosby Co. Philadelphia pp.7-27.
- Goyer RA, 1986. *Toxic Effect of metal*. In Cassarets & Douls Toxilogy. The Basic Science Poison 3rd edition, editor Curtis D.Klaasen, MC Millan Publ Co : 245-385.
- Goyer RA, 1995. *Nutritional and Metal Toxicity*. Am-j-Clin-Nutr. Mar; 61 (3 suppl). 646S- 650S.

- Goodman J.W, (1994). *The Immune Respons on Stites DP and Terr AI (1994) :*
Basic Human Immunology 1st ed Prentice Hall International Inc.
Connecticut pp 45-49.
- Goodman LS and Gilman A. 1985. *The Pharmacological Basic of Therapeutic 6 th*
ed. Mac. Millan Publishing Co, Inc. New York, p.1605-1611.
- Grassman KA and Scanlon PF, 1996. *Effect of Acute Lead Ingestio and Diet on*
antibody and T cell Mediated Immunity in Japanese quail. Arch-Environ-
Contam-Toxicol . Feb;28 (2) : 16-17.
- Hac E, Krechiak. J, 1996. *Lead levels in bone and hair of rats treated with lead*
acetate. Biol Trace Elem.Res.June 53 (3); 293:301.
- Hamir, AN; Sullivan, ND; Handson, P.D, 1988. *Tissue Lead Distribution and*
Pathological Findings in Lead Exposed Doos Maintainer on fat and
Calcium Modified diets, J.Br.Veterrenary, 144 : 240-242.
- Hernberg, S.1977. *Lead in : Occupational Medicine Principles and practical*
Aplication (ed) Zenz, 1 st ed, Yearbook medical Public. Chichago, p. 715-
813.
- Imono Argo D, 1988. *Obat Tradisional dan Fitoterapi, Uji toksikologi, Panitia*
Lustrum ke VIII dan Reuni Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada,
Jogjakarta, p.4-11.
- Isidora K.S, Adiastruti E.P., Diah Savitri (1991). *Perbedaan Kadar Timah Hitam*
(Pb) dalam darah . warga Sandar V, Kel.Sepanjang, Taman Sidoarjo,
dengan dan tanpa bercak hitam pada jaringan lunak rongga mulut. DIP.
OPF Universitas Airlangga.

- Jones MM, Johnston DO, Neterville JT, Word JL, 1987. *Chemistry and Society*, 5th ed. Saunders College Publishing Company, New York p.397-901
- Jones JH, Mason DK, 1990. *Oral Manifestation of Systemic Disease*, W.B.Saunders Comp, London, Philadelphia, Toronto p.660-680.
- Kamerad V, 1992. *Toxic effect of lead of mice testides after its administration with drinking wates-Act. A Univ. Palacki olomuc Fac.Med. 133 : 9-13.*
- Katzung, 1987. *Basic and clinical Pharmacology 3th ed*, Appletonad Lange a Publishing Division of Practice Hall,p.870-872.
- Kendall RJ, 1983. *Toxic Substances in the Environment 2nd ed* Kendall/Hunt Publishing Company Dubuque Town.
- Klaassen CD, Amdur MO, and Doull J,1986. *Casarett and Doulls Toxicology : The Basic of Poisons*, 3th ed, Macmillian Publishing Co, Newyork p. 11-31.
- Kessel I and O Connors J, 1997. *Getting The Lead Out : The Complete Resource on how to prevent and cope with Lead Poishing Co*, NewYork p. 11-31.
- Lehner T, 1993. *Immunology of Oral Disease*, 3th ed, London, Edinburg Boston Melbourne. Paris Berlin vienna : Blackwell Scientific Publishing.
- Lockitch G, 1993. *Prespective on Lead Toxicity. Clinical Bioch. 26 (5); 371-381.*
- Lindhe J, 1989. *Textbook of Clinical Periodontology*. 1st ed, co penhagen, WB Saunders Co. Philadelphia.

- Long GJ, and Rosen JF, 1992. *Lead Pertubs Epidermal Growth Facto Modulation of Intercellular Calcium Metabolism and Collagen Synthesis in Clonal Rat Osteoblastiocs (Ros 17/2.8) cells* Toxicol Appl Pharmacol. 155 (1) : 63-70.
- Lu FC, 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ sasaran dan Penila Resiko*. Edisi Kedua : Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Loegito, Soegeng S, Lorri D, 1997. pengaruh Pb terhadap Gambaran Histologi Hepar mencit PAAI hl.26.
- McMurry St, et al. 1995. *Sensitive of Selected Immunological*. Hematological and Reproductive Parameters in the cotton rat *Sigmodon Hispidus* to Sbchronic lead exposure. J. Wildi Dis, April 31 (2). 193-204.
- Palar H, 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. PT Rineka Cipta. Jakarta : 9 : 59.
- Queiroz ML. et al. 1994. *Immunoglobulin Level and Celluler Immun Function in Lead Exposed Workers*. Immunopharmacil-Immunoxicol. 16(1) : 115-28.
- Queiroz ML. et al. 1994. *Engulfment and Killing Capabilities of Neutrophils and Phagocytic Aplenic Function in Person occupationally exposes to lead*. Int-J-Immunopharmacol. Mar : 16 (3) : 239-244.
- Raffle OP, Lee M.W dan Cilum C.M, Murray O.R,1987. In *Hunters Diseases of Occupation 1 st ed*. Little Brown dan Co, Boston. p 20.
- Rasile DA, Stewart P.W, Burright RG, 1995. Cross generation Lead Ingestion : Behavioral and Physiological effect in Mice. Brain Research Bulletin 36;5.

- Romjord S.P dan Ash M.M, 1989. *In Periodontology and Periodontics Modern Theory and Practice*, In Ishiyaku Euro Amerika, Inc, Louis, p 5-12.
- Roitt IM, Brostoff J, Male J, 1996. *Immunology* 4th ed St.Louis Mosby Co.,1.1 – 1.11.
- Roth G.I, dan Colmes R, 1981. *Microcirculation*, In Oral Biology 1 st ed. The C.V.Mosby Co, Saint Louis p. 90-113.
- Seiler H.G dan Sigel H, 1988. *Handbook on Toxicity of in Organ Compounds 1 st ed*, Marcel Dekker, In Inc.New York. p.360.
- Smith C.J, 1989. *Gingival Epithelium in Biology of the Periodontium* (ed) : Melcher, AH dan Bowen.W.H. 4nd ed. Academic Press New York. 96-162.
- Sonis S.T, Fauzi R.C, Fang L, 1995. *In Principles and practice of Oral Medicine 1 st ed*. W.B.Saunders Co, Philadelphia.
- Spouge J.D, 1973. *In Oral Pathology 2 nd ed*. The C.V.Mosby Co Vancouver B.C. Canada p. 200-250.
- Steel RGD, Torrie JH, 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik*. PT Gramedia Pustaka Utama Jakarta. 168.205, 209-220.
- Sudiby, 1993. *Peran gingiva sebagai tolok ukur keracunan kronis timah hitam*. Disertasi Fakultas Pascasarjana Unair.
- Siswanto A, 1994. *Toksikologi Industri*. Balai Hiperkes dan Keselamatan kerja Jatim. Depnaker.

- Stewart and Stolman, 1994. *Toxicology Mechanism and Analytical methods Limited Kingdom Edition*. Academic press Inc. London Ltd p.215-217
p.277-278
- Stites DP, Terr AI, and Parslow TG, 1994. *Basic and clinical Immunology*. Pentice Hall International, UK.
- Tomozok JS, Tomozok W and Grzybek H, 1991. *The Small Intestinal terocytes of rats during lead poisoning : The Application of the Timm Sulphide Silver Method and an Ultrastructura Study*. Exp-Pathol; 42(2) : 107-113.
- Trevino V.C and Navaro, 1987. Differential Accumulation of Lead by Soft Tissue of Rabbit, Environ constam topical p.334-342.
- Trust KA et al, 1990. *Effect of Ingested Lead on Antibody Production in Mallard (Anasplathythycos)*. J.Widli Dis.26 (3) : 3 -322.
- WHO, 1977. *Environmental Health Criteria 3 : Lead*. Geneva
- WHO, 1989. *Lead Environmental Aspect Environmental Health Criteria*. World Health Organization. Genewa p 14-38, 67-79.
- Zainuddin, 1988. Metodology penelitian Fakultas Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Zhao Fa Xu, Jones MM, 1988. *Toxicology; Comparative Mobilization of lead By Chelating Agent*. Departmen of Public health, China medical University p.277-278.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Tabel 1. Data Berat Badan Tikus Kelompok 50 mg/kg selama perlakuan

No Sample	1 15-8	2 22-8	3 29-8	4 6-9	5 13-9	6 20-9	7 27-9	8 5-10
1.	150	150	155	165	180	185	190	200
2.	150	150	157	165	180	180	190	200
3.	150	151	157	170	180	190	195	202
4.	150	151	158	165	190	195	197	201
5.	150	150	159	170	175	185	192	201
6.	150	151	160	170	175	185	197	205

Tabel 2. Data Berat Badan Tikus Kelompok 100 mg/kg selama perlakuan

No Sample	1 15-8	2 22-8	3 29-8	4 6-9	5 13-9	6 20-9	7 27-9	8 5-10
1.	150	160	165	175	175	185	190	200
2.	150	155	155	160	170	180	192	200
3.	150	160	165	175	185	185	193	200
4.	150	155	165	170	178	183	195	205
5.	150	160	167	175	176	190	198	201
6.	150	155	168	175	180	190	195	200

Tabel 3. Data Berat Badan Tikus Kelompok 200 mg/kg selama perlakuan

No Sample	1 15-8	2 22-8	3 29-8	4 6-9	5 13-9	6 20-9	7 27-9	8 5-10
1.	151	160	155	174	180	190	195	200
2.	150	157	157	178	183	187	192	200
3.	152	159	157	175	179	185	193	200
4.	150	157	158	170	178	187	195	201
5.	151	160	159	170	180	184	190	203
6.	150	159	160	175	185	190	195	200

Tabel 4. Data Berat Badan Tikus Kelompok 400 mg/kg selama perlakuan

No Sample	1 15-8	2 22-8	3 29-8	4 6-9	5 13-9	6 20-9	7 27-9	8 5-10
1.	150	155	159	163	168	180	187	198
2.	151	157	162	170	178	185	190	200
3.	152	155	162	170	175	185	190	199
4.	150	157	165	170	175	180	189	200
5.	150	158	163	173	178	185	192	201
6.	151	159	165	172	179	183	190	200

Tabel 5. Data Berat Badan Tikus Kelompok Kontrol selama perlakuan

No Sample	1 15-8	2 22-8	3 29-8	4 6-9	5 13-9	6 20-9	7 27-9	8 5-10
1.	150	150	157	165	170	179	190	200
2.	151	157	162	167	172	178	187	198
3.	150	156	160	167	171	176	187	198
4.	151	157	162	165	173	177	190	200
5.	150	155	161	168	175	182	190	200
6.	152	156	162	169	175	180	190	200

Lampiran 2

Tabel 6. Data Hasil Perhitungan Variabel Limfosit, Makrofag dan Imunoglobulin A

Perlakuan/ Hewan Ke	Limfosit			Makrofag			Ig A			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Po	1	6	6	6	6	6	5	7	6	8
	2	9	7	6	7	4	6	8	5	7
	3	7	6	5	6	8	7	6	7	7
	4	7	8	5	4	8	3	9	7	8
	5	7	6	5	7	5	7	7	6	6
	6	6	4	8	6	7	8	8	7	8
P1	1	5	5	5	3	2	1	5	5	6
	2	4	3	3	3	3	3	7	6	6
	3	6	5	4	4	3	4	5	6	6
	4	5	4	3	3	5	3	7	7	6
	5	4	4	4	4	5	4	7	5	5
	6	4	4	5	3	4	2	5	6	5
P2	1	3	2	3	2	3	4	4	4	4
	2	4	2	3	3	2	3	5	4	3
	3	3	2	2	2	3	2	4	5	4
	4	3	3	2	2	2	2	6	5	4
	5	2	2	3	2	1	2	5	3	5
	6	3	3	4	3	2	1	5	5	4
P3	1	2	2	3	3	2	1	4	3	4
	2	2	2	1	2	2	2	3	3	3
	3	3	3	2	2		1	3	4	4
	4	2	3	2	1	2	1	3	4	5
	5	3	2	2	1	1	2	3	2	3
	6	4	1	2	2	3	2	4	3	3
P4	1	2	2	2	2	1	2	2	2	3
	2	1	3	2	2	2	2	1	3	4
	3	2	2	2	2	1	2	2	3	4
	4	2	2	2	1	1	1	2	3	2
	5	2	2	3	2	1	1	2	2	3
	6	2	2	2	1	1	1	3	2	2

Lampiran 3. Preparasi Sediaan Histologi

5.1. Pengambilan Unit Analisis

Tikus yang telah diberi perlakuan dimatikan dengan cara decapitasi. Kemudian bagian gingiva dipotong setebal 2-5 mm, dibersihkan dengan cairan p2. Pengambilan dilakukan dengan pemotongan pisau cutter yang tajam.

5.2. Preparasi Sediaan Parafin

1. Fiksasi. Bertujuan untuk menghindari terjadinya perubahan postmortem, mengeraskan bahan agar mudah melakukan pemotongan, membunuh kuman yang mungkin masih ada, menampilkan perbedaan refraksi komponen jaringan, meningkatkan afinitas protoplasma terhadap bahan pewarna. Dalam penelitian ini fiksasi dilakukan dengan buffer formalin 10%.
2. Dehidrasi dilakukan untuk menghilangkan sisa air dari jaringan dan memberi suasana alkohol. Dilakukan dengan cara menusukkan jaringan ke dalam alkohol. Dengan konsentrasi yang meningkat, mulai dari alkohol 70%, 80%, 90%, 96% dan alkohol absolut.
3. Clearing, tahapan ini dilakukan dengan tujuan agar jaringan menjadi transparan untuk itu digunakan xylol.
4. Embedding yaitu memberikan suatu penyangga agar jaringan dapat dipotong dengan mikrotom tanpa menimbulkan distorsi yang berarti pada susunannya. Proses dilakukan dengan infiltrasi jaringan dengan menggunakan parafin.
5. Sectioning, dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Hasil irisan yang disebut ribbon, ditempel pada gelas objek yang sudah diberi perekat dengan putih telur.

6. Drying yaitu proses pengeringan ribbon yang sudah ditempel pada gelas objek dengan menggunakan oven pada suhu ... selama ... jam.

Lampiran 4 : Proses Pewarnaan Imunohistokimia

1. Proses Deparafinisasi. Urutan proses yang dilakukan adalah
 - 3X direndam xylol selama 5 menit.
 - 3X direndam alkohol absolut selama 3 menit.
 - 3X perendaman alkohol 95% selama 3 menit.
 - 3X perendaman alkohol 80% selama 3 menit.
 - 3X perendaman alkohol 70% selama 3 menit direndam air.
2. Dikeringkan dengan tisu dan diberi tanda.
3. Direndam dalam PBS selama 5 menit.
4. Diberi tetesan trypsin 0,1%.
5. Dicuci dengan PBS 3X msing-masing 3 menit
6. Ditetesi dengan H₂O₂ 3% selama 2 menit.
7. Dicuci dengan PBS 3X masing-masing 3 menit.
8. Diberi satu tetes antibodi primer dan dibiarkan selama 30 menit.
9. Dicuci dengan PBS 3X mnasing-masing 3 menit.
10. Ditetesi dengan antibodi sekunder selama 15 menit kemudian dicuci dengan PBS 3X @ 3 menit.
11. Diberi satu tetes streptavidin selama 15 menit dan dicuci dengan PBS 3X @ 3 menit.
Diberi satu tetes chromogen.
12. Direndam dengan Hematoksilin dari meyer selama 7 menit.
13. Dicuci dan direndam air kran sampai berwarna biru.
14. Dikeringkan dan diberi entelan,
15. Diberi gelas penutup.

Lampiran .4a

Cara Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Diambil sediaan yang akan diwarnai.

1. Deparafinisasi dengan xylol 15 menit
2. Hidrasi dengan
 - Alkohol 96 % 2 menit
 - Alkohol 95 % 2 menit
 - Alkohol 80 % 2 menit
 - Air mengalir 10 menit
3. Pewarnaan utama
 - Dimasukkan dalam larutan Hematoksilin Meyer 10 menit
 - Dicuci dengan air mengalir 15 menit
4. Pewarna pembeding
 - Dimasukkan dalam larutan Eosin 1,5 menit
5. Hidrasi dengan - alkohol 80 % 5 celup
 - alkohol 95 % 5 celup
 - alkohol 86 % 2 menit
6. Dikeringkan 1 menit
7. Clearing - xylol 10 menit
 - xylol 5 menit
8. Monting gelas penutup
 - Gelas penutup diulasi cairan entelan, kemudian ditutupkan ke gelas obyek

Lampiran 5

Uji Anova untuk variabel IgA , makrofag dan limfosit.

Descriptives

Ig A

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
0 mg	6	7.067	.602	.246	6.435	7.699
50 mg	6	5.783	.542	.221	5.215	6.352
100 mg	6	4.300	.482	.197	3.795	4.805
200 mg	6	3.350	.497	.203	2.828	3.872
400 mg	6	2.467	.288	.117	2.165	2.768
Total	30	4.593	1.744	.318	3.942	5.245

ANOVA

Ig A

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	82.129	4	20.532	84.286	.000
Within Groups	6.090	25	.244		
Total	88.219	29			

Descriptives

Makrofag

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
0 mg	6	6.300	.716	.292	5.549	7.051
50 mg	6	3.350	.606	.247	2.714	3.986
100 mg	6	2.350	.698	.285	1.618	3.082
200 mg	6	1.700	.452	.184	1.226	2.174
400 mg	6	1.300	.268	.110	1.018	1.582
Total	30	3.000	1.896	.346	2.292	3.708

ANOVA

Makrofag

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	96.090	4	24.023	73.150	.000
Within Groups	8.210	25	.328		
Total	104.300	29			

Descriptives

Limfosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
0 mg	6	6.650	.838	.342	5.770	7.530
50 mg	6	4.267	.656	.268	3.578	4.955
100 mg	6	2.833	.408	.167	2.405	3.262
200 mg	6	2.167	.408	.167	1.738	2.595
400 mg	6	2.000	.000	.000	2.000	2.000
Total	30	3.583	1.829	.334	2.900	4.266

ANOVA

Limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.687	4	22.422	76.420	.000
Within Groups	7.335	25	.293		
Total	97.022	29			

Lampiran 6 : Uji BNT untuk Variabel IgA, Makrofak dan Limfosit

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) group perlakuan	(J) group perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
IgA	LSD	Po	P1	1.15000*	.279	.000	.57472	1.72528
			P2	2.58333*	.279	.000	2.00805	3.15861
			P3	3.58333*	.279	.000	3.00805	4.15861
			P4	4.50000*	.279	.000	3.92472	5.07528
		P1	Po	-1.15000*	.279	.000	-1.72528	-.57472
			P2	1.43333*	.279	.000	.85805	2.00861
			P3	2.43333*	.279	.000	1.85805	3.00861
			P4	3.35000*	.279	.000	2.77472	3.92528
		P2	Po	-2.58333*	.279	.000	-3.15861	-2.00805
			P1	-1.43333*	.279	.000	-2.00861	-.85805
			P3	1.00000*	.279	.001	.42472	1.57528
			P4	1.91667*	.279	.000	1.34139	2.49195
		P3	Po	-3.58333*	.279	.000	-4.15861	-3.00805
			P1	-2.43333*	.279	.000	-3.00861	-1.85805
			P2	-1.00000*	.279	.001	-1.57528	-.42472
			P4	.91667*	.279	.003	.34139	1.49195
IgA	LSD	P4	Po	-4.50000*	.279	.000	-5.07528	-3.92472
			P1	-3.35000*	.279	.000	-3.92528	-2.77472
			P2	-1.91667*	.279	.000	-2.49195	-1.34139
			P3	-.91667*	.279	.003	-1.49195	-.34139
limfosit	LSD	Po	P1	2.05000*	.259	.000	1.51726	2.58274
			P2	3.63333*	.259	.000	3.10059	4.16608
			P3	4.08333*	.259	.000	3.55059	4.61608
			P4	4.26667*	.259	.000	3.73392	4.79941
		P1	Po	-2.05000*	.259	.000	-2.58274	-1.51726
			P2	1.58333*	.259	.000	1.05059	2.11608
			P3	2.03333*	.259	.000	1.50059	2.56608
			P4	2.21667*	.259	.000	1.68392	2.74941
		P2	Po	-3.63333*	.259	.000	-4.16608	-3.10059
			P1	-1.58333*	.259	.000	-2.11608	-1.05059
			P3	.45000	.259	.094	-8.3E-02	.98274
			P4	.63333*	.259	.022	.10059	1.16608
		P3	Po	-4.08333*	.259	.000	-4.61608	-3.55059
			P1	-2.03333*	.259	.000	-2.56608	-1.50059
			P2	-.45000	.259	.094	-.98274	8.27E-02
			P4	.18333	.259	.485	-.34941	.71608
P4	Po	-4.26667*	.259	.000	-4.79941	-3.73392		
	P1	-2.21667*	.259	.000	-2.74941	-1.68392		
	P2	-.63333*	.259	.022	-1.16608	-.10059		
	P3	-.18333	.259	.485	-.71608	.34941		

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) group perlakuan	(J) group perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
makrofag	LSD	Po	P1	2.83333*	.360	.000	2.09107	3.57559
			P2	3.83333*	.360	.000	3.09107	4.57559
			P3	4.43333*	.360	.000	3.69107	5.17559
			P4	4.66667*	.360	.000	3.92441	5.40893
		P1	Po	-2.83333*	.360	.000	-3.57559	-2.09107
			P2	1.00000*	.360	.010	.25774	1.74226
			P3	1.60000*	.360	.000	.85774	2.34226
			P4	1.83333*	.360	.000	1.09107	2.57559
		P2	Po	-3.83333*	.360	.000	-4.57559	-3.09107
			P1	-1.00000*	.360	.010	-1.74226	-.25774
			P3	.60000	.360	.108	-.14226	1.34226
			P4	.83333*	.360	.029	9.11E-02	1.57559
		P3	Po	-4.43333*	.360	.000	-5.17559	-3.69107
			P1	-1.60000*	.360	.000	-2.34226	-.85774
			P2	-.60000	.360	.108	-1.34226	.14226
			P4	.23333	.360	.523	-.50893	.97559
		P4	Po	-4.66667*	.360	.000	-5.40893	-3.92441
			P1	-1.83333*	.360	.000	-2.57559	-1.09107
			P2	-.83333*	.360	.029	-1.57559	-9.1E-02
			P3	-.23333	.360	.523	-.97559	.50893

Based on observed means. The error term is Error.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 7

Uji Multivariat untuk variabel IgA , makrofag dan limfosit.

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
group perlakuan	1.000	Po	6
	2.000	P1	6
	3.000	P2	6
	4.000	P3	6
	5.000	P4	6

Multivariate Tests^d

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Eta Squared
Intercept	Pillai's Trace	.997	2420.926 ^b	3.000	23.000	.000	.997
	Wilks' Lambda	.003	2420.926 ^b	3.000	23.000	.000	.997
	Hotelling's Trace	315.773	2420.926 ^b	3.000	23.000	.000	.997
	Roy's Largest Root	315.773	2420.926 ^b	3.000	23.000	.000	.997
GROUP	Pillai's Trace	1.531	6.516	12.000	75.000	.000	.510
	Wilks' Lambda	.008	26.495	12.000	61.144	.000	.800
	Hotelling's Trace	60.324	108.919	12.000	65.000	.000	.953
	Roy's Largest Root	59.318	370.739 ^c	4.000	25.000	.000	.983

Multivariate Tests^d

Effect		Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Intercept	Pillai's Trace	7262.778	1.000
	Wilks' Lambda	7262.778	1.000
	Hotelling's Trace	7262.778	1.000
	Roy's Largest Root	7262.778	1.000
GROUP	Pillai's Trace	78.194	1.000
	Wilks' Lambda	244.464	1.000
	Hotelling's Trace	1307.026	1.000
	Roy's Largest Root	1482.956	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

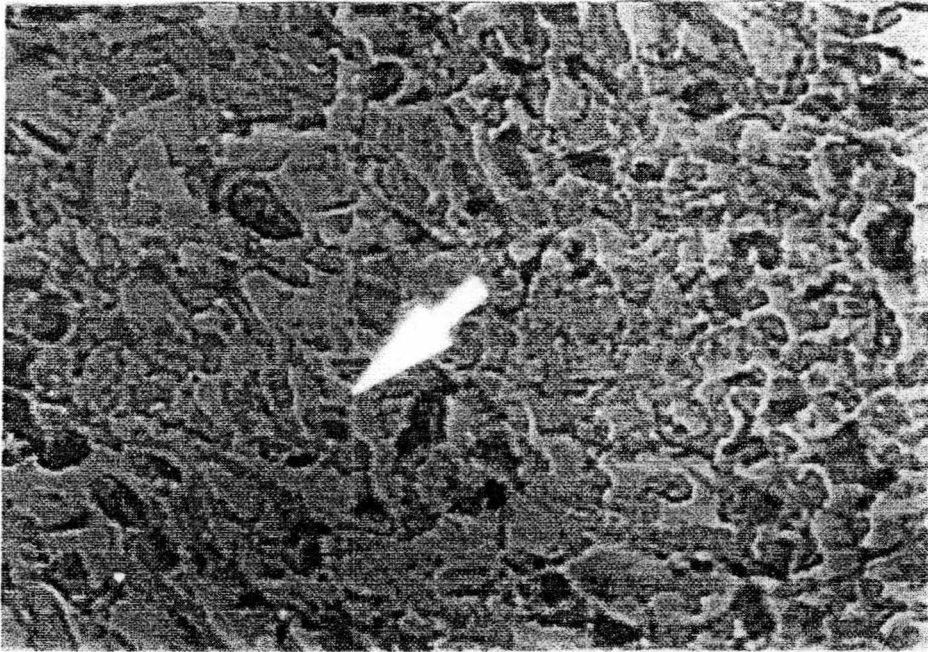
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Eta Squared
Corrected Model	IgA	78.958 ^b	4	19.740	84.333	.000	.931
	limfosit	77.369 ^c	4	19.342	96.358	.000	.939
	makrofag	86.621 ^d	4	21.655	55.574	.000	.899
Intercept	IgA	635.720	1	635.720	2715.980	.000	.991
	limfosit	369.603	1	369.603	1841.264	.000	.987
	makrofag	257.547	1	257.547	660.942	.000	.964
GROUP	IgA	78.958	4	19.739	84.333	.000	.931
	limfosit	77.369	4	19.342	96.358	.000	.939
	makrofag	86.621	4	21.655	55.574	.000	.899
Error	IgA	5.852	25	.234			
	limfosit	5.018	25	.201			
	makrofag	9.742	25	.390			
Total	IgA	720.530	30				
	limfosit	451.990	30				
	makrofag	353.910	30				
Corrected Total	IgA	84.810	29				
	limfosit	82.387	29				
	makrofag	96.363	29				

Lampiran 8.

Tehnik penghitungan sel secara mikroskopik dengan menggunakan groteculae

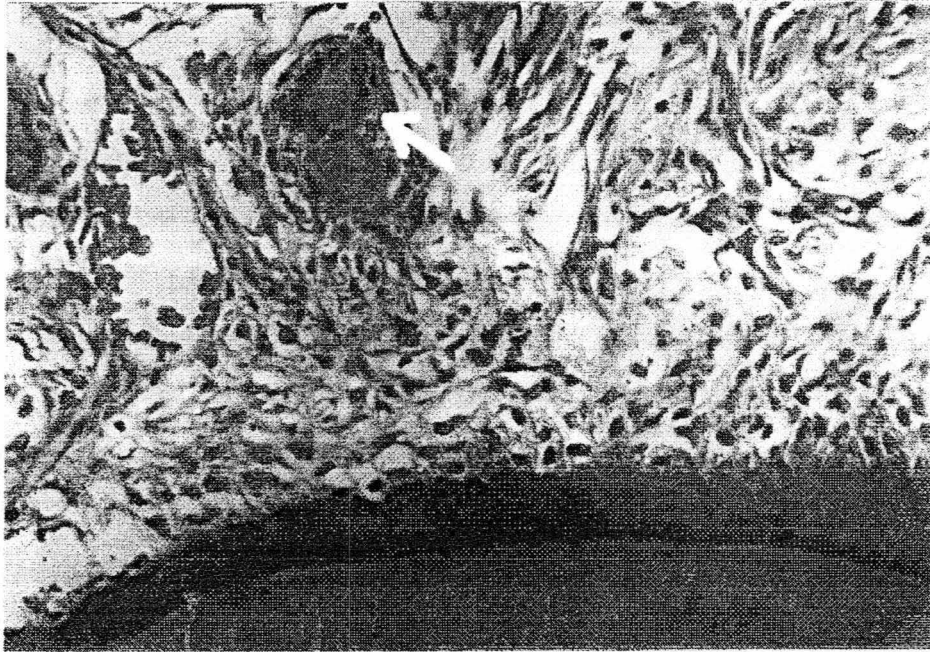
1. Menentukan daerah yang representatif untuk dilakukan penghitungan sel yaitu daerah gingiva sisi dental (yang menempel pada gigi).
2. Groteculae dipasang pada lensa okuler mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40 selanjutnya dilakukan penghitungan sel dengan cara acak.
3. Untuk mendapatakn cara acak tersebut, ditentukan kotak-kotak yang akan mewakili daerah tersebut.
4. Setelah dilakukan penghitungan sel pada daerah yang telah ditentukan, dilakukan penjumlahan sel dan nilainya dicatat sebagai jumlah sel pada setiap sampel.

Lampiran 9 : Gambar Histologik Gingiva yang Mengandung Ig A



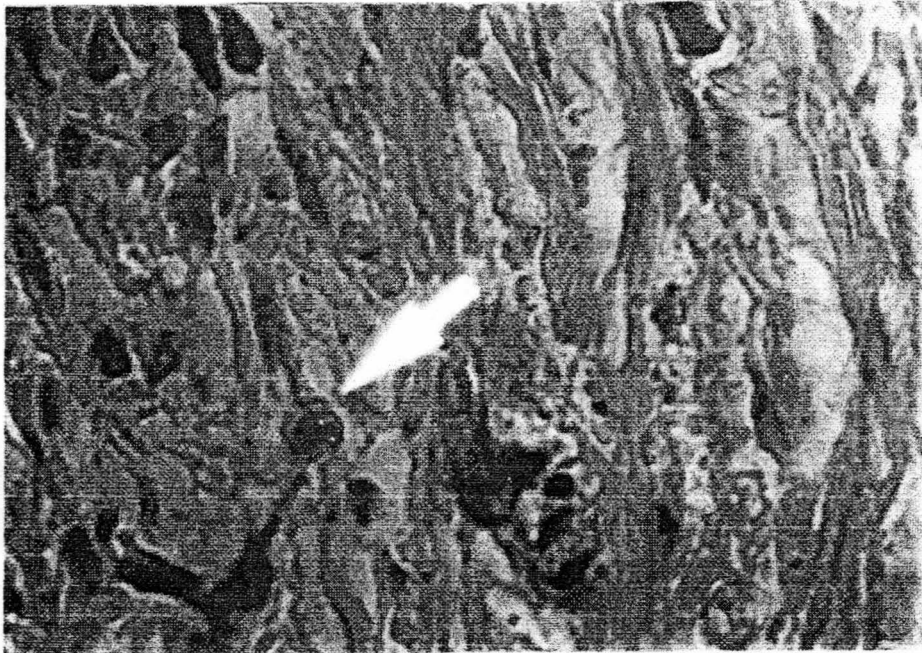
Gambar : - Sel plasma yang mengandung Ig A (tanda panah)
- Pewarnaan Immuperoksida
- Pembesaran 400 x

Lampiran 10 : Gambar Histologik Gingiva yang Mengandung makrofag



Gambar : Sel makrofag pada gingival dengan pewarnaan HE,
pembesaran 400 x

Lampiran 11 : Gambar Histologik Gingiva yang Mengandung limfosit



Gambar : Sel limfosit pada gingiva, pewarnaan HE, pembesaran 400 x

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Lampiran 12. Uji Regresi antara variasi dosis Pb asetat dan variabel IgA, makrofag dan limfosit .

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Dosis ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Ig A

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.959 ^a	.920	.918	.501

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Ig A

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	81.201	1	81.201	323.970	.000 ^a
	Residual	7.018	28	.251		
	Total	88.219	29			

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Ig A

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	8.083	.214		37.709	.000
	Dosis	-1.163	.065	-.959	-17.999	.000

- a. Dependent Variable: Ig A

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Dosis ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Makrofag

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.884 ^a	.781	.773	.904

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Makrofag

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	81.433	1	81.433	99.715	.000 ^a
	Residual	22.867	28	.817		
	Total	104.300	29			

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Makrofag

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	6.495	.387		16.786	.000
	Dosis	-1.165	.117	-.884	-9.986	.000

- a. Dependent Variable: Makrofag

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Dosis ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Limfosit

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.896 ^a	.804	.797	.825

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Limfosit

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	77.976	1	77.976	114.636	.000 ^a
	Residual	19.046	28	.680		
	Total	97.022	29			

- a. Predictors: (Constant), Dosis
- b. Dependent Variable: Limfosit

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
		B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1	(Constant)	7.003	.353		19.832	.000	1.000	1.000
	Dosis	-1.140	.106	-.896	-10.707	.000		

- a. Dependent Variable: Limfosit