

# **SKRIPSI**

## **PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL ASETAT TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGI OVARIUM MENCIT ( *Mus musculus* )**



Oleh :

**AGUNG REZKI TRAWESTI**  
**SURABAYA – JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003**

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL  
ASETAT TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI OVARIUM MENCIT ( *Mus musculus* )**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh :

**AGUNG REZKI TRAWESTI**  
**069812497**

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



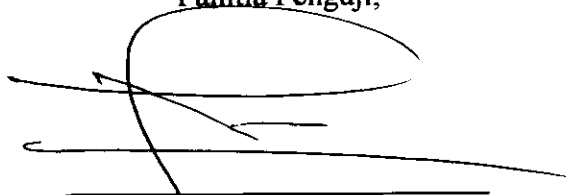
Tatik Hernawati, M.Si., Drh.  
Pembimbing Pertama



Suherni Susilowati, M.Kes., Drh.  
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh – sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**.

Menyetujui,  
Panitia Penguji,



Dr. R. T. S. Adikara, M. S., drh.  
Ketua



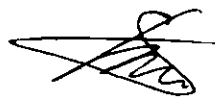
Rimayanti, M. Kes., drh.  
Sekretaris



Sulistyaningwati G., drh.  
Anggota



Tatik Hernawati, M. Si., drh.  
Anggota



Suherni Susilowati, M. Kes., drh.  
Anggota

Surabaya, 25 Februari 2003

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Istudiono, M. S., drh.  
NIP. 130 687 297

# **PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL ASETAT TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGI OVARIVM MENCIT ( *Mus musculus* )**

**Agung Rezki Trawesti**

## **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan berat ovarium mencit dan jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf terhadap pengaruh pemberian larutan timbal asetat yang diberikan secara oral selama 30 hari.

Pada penelitian ini menggunakan mencit betina dewasa strain Balb / c sebanyak 25 ekor yang bersiklus estrus normal dikelompokkan dalam satu kontrol yang diberi aquadest dan empat perlakuan, yaitu pemberian larutan timbal asetat dengan konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Pada hari ke – 31 dari masa perlakuan mencit dikorbankan dan dibedah untuk pengambilan ovarium kemudian dilakukan penimbangan dan dilanjutkan dengan pembuatan preparat histologi ovarium.

Hasil penelitian yang diperoleh pada berat ovarium pada kelompok kontrol (P<sub>0</sub>) dan kelompok perlakuan P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> dan P<sub>4</sub> terdapat perbedaan penurunan berat ovarium yang nyata. Begitu pula pada jumlah folikel ovarium baik itu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier maupun folikel de Graaf menunjukkan adanya penurunan jumlah yang nyata.

Penurunan berat dan jumlah folikel ovarium mencit berbeda nyata tanpa disertai kerusakan sel folikel ovarium yang berarti. Timbal dapat menghambat sekresi dari FSH dan LH sehingga pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium menjadi terhambat.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia – Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Berat Dan Gambaran Histologi Ovarium Mencit ( *Mus musculus* )**. Skripsi merupakan salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal asetat secara oral dalam berbagai konsentrasi terhadap perkembangan aktivitas ovarium mencit, yang meliputi berat dan gambaran histologi dalam hal ini jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Ismudiono, MS., drh., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Tatik Hernawati M.Si., drh., selaku pembimbing pertama dan Suherni Susilowati, M.Kes., drh., selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan dan nasehat selama penelitian sampai penyelesaian skripsi. Demikian pula kepada Abdul Samik, M.Si., drh., Sri Pantja Madyawati, M.Si., drh., Widjiati, M.Si., drh. dan Iwan Syahrial, M.Si., drh., yang telah banyak memberikan bantuan dan fasilitas.

Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih kepada Ibundaku tercinta, Ayahanda, Kak Rimb, Kak Ima dan Kak Luth yang telah memberikan doa dan

kasih sayangnya. Serta teruntuk seseorang spesial dalam hidupku, Bli Komang, yang selama ini telah menjadi inspirasi dan semangatku terima kasih atas segala ilmu, bimbingan, karya, doa, cinta dan kasih sayangmu.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada sobat terbaik sekaligus asistenku Dini dan Jassi yang telah memberikan waktu dan perhatiannya. Serta para sahabatku Jenny, Fatma, Rini, Billy, Ryan, Ricky, Dicki, Arief, Kelana, Ratih, Gustiartha family, mbak Surti dan warga FKHUA '98 yang telah banyak membantu penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang terdapat dalam tulisan ini, namun semoga tulisan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Surabaya, Februari 2003

Penulis

# DAFTAR ISI

|  | <b>Halaman</b> |
|--|----------------|
| KATA PENGANTAR.....                    | iii            |
| DAFTAR ISI.....                        | v              |
| DAFTAR TABEL.....                      | vii            |
| DAFTAR GAMBAR.....                     | viii           |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                   | ix             |
| BAB I. PENDAHULUAN.....                | 1              |
| 1.1 Latar Belakang Permasalahan.....   | 1              |
| 1.2 Rumusan Masalah.....               | 4              |
| 1.3 Landasan Teori.....                | 4              |
| 1.4 Tujuan Penelitian.....             | 5              |
| 1.5 Manfaat Penelitian.....            | 5              |
| 1.6 Hipotesis Penelitian.....          | 5              |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....          | 6              |
| 2.1 Karakteristik Timbal.....          | 6              |
| 2.2 Toksikologi Timbal Bagi tubuh..... | 6              |
| 2.3 Siklus Birahi Mencit.....          | 9              |
| 2.4 Histologi Ovarium.....             | 12             |
| 2.5 Hormon – hormon Ovarium.....       | 13             |
| 2.6 Hormon – hormon Gonadotrophin..... | 13             |
| BAB III. MATERI DAN METODE .....       | 15             |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....   | 15             |
| 3.2 Materi Penelitian.....             | 15             |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.2.1 Hewan Percobaan.....               | 15        |
| 3.2.2 Bahan Penelitian.....              | 16        |
| 3.2.3 Alat Penelitian.....               | 16        |
| 3.3 Metode Penelitian.....               | 16        |
| 3.3.1 Prosedur Penelitian.....           | 16        |
| 3.3.2 Parameter yang Diamati.....        | 19        |
| 3.4 Rancangan Penelitian.....            | 20        |
| 3.5 Analisis Data.....                   | 20        |
| <b>BAB IV. HASIL PENELITIAN.....</b>     | <b>21</b> |
| <b>BAB V. PEMBAHASAN.....</b>            | <b>30</b> |
| <b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b> | <b>37</b> |
| 6.1 Kesimpulan.....                      | 37        |
| 6.2 Saran.....                           | 37        |
| <b>RINGKASAN.....</b>                    | <b>38</b> |
| <b>.DAFTAR PUSTAKA.....</b>              | <b>40</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                     | <b>44</b> |



## DAFTAR TABEL

| <b>Nomor</b> | <b>Teks</b>  | <b>Halaman</b> |
|--------------|--|----------------|
| 1.           | Rataan Berat Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat....                    | 21             |
| 2.           | Rataan Jumlah Folikel Primer Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat.....   | 22             |
| 3.           | Rataan Jumlah Folikel Sekunder Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat..... | 23             |
| 4.           | Rataan Jumlah Folikel Tersier Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat.....  | 24             |
| 5.           | Rataan Jumlah Folikel De Graaf Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat..... | 25             |

## DAFTAR GAMBAR

| <b>Nomor</b> | <b>Teks</b>   | <b>Halaman</b> |
|--------------|---|----------------|
| 1.           | Hasil Ulas Vagina Mencit.....   | 17             |
| 2.           | Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Kontrol<br>Dengan Pembesaran 10 X.....       | 27             |
| 3.           | Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan I<br>Dengan Pembesaran 10 X.....   | 27             |
| 4.           | Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan<br>II Dengan Pembesaran 10 X.....  | 28             |
| 5.           | Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan<br>III Dengan Pembesaran 10 X..... | 28             |
| 6.           | Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan<br>IV Dengan pembesaran 10 X.....  | 29             |

## DAFTAR LAMPIRAN

| <b>Nomor</b> | <b>Teks</b>   | <b>Halaman</b> |
|--------------|---|----------------|
| 1.           | Prosedur Ulas Vagina Dengan Metode Pewarnaan Giemsa.....  | 44             |
| 2.           | Prosedur Pembuatan Preparat Histologi Ovarium Mencit..... | 45             |
| 3.           | Evaluasi Statistik Berat Ovarium .....                    | 48             |
| 4.           | Evaluasi Statistik Folikel Primer.....                    | 50             |
| 5.           | Evaluasi Statistik Folikel Sekunder.....                  | 52             |
| 6.           | Evaluasi Statistik Folikel Tersier.....                   | 54             |
| 7.           | Evaluasi Statistik Folikel De Graaf.....                  | 56             |

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Permasalahan.

Timbal ( *Plumbum* / Pb / Lead ) terdapat pada tanah, air dan udara dalam lingkungan karena terdapat di alam dan digunakan dalam industri ( Ganiswarna, 1995 ). Polusi timbal dapat terjadi di udara, air maupun tanah. Pencemaran timbal di udara bisa berasal dari banyaknya gedung – gedung yang dirontokkan dan asap yang dikeluarkan melalui knalpot mobil serta air yang melalui pipa saluran dari timbal atau pematrian timbal. Timbal yang mencemari udara terdapat dalam dua bentuk yaitu yang berbentuk gas dan partikel. Gas timbal terutama berasal dari pembakaran aditif bensin dari kendaraan bermotor yang terdiri dari tetraetil Pb dan tetrametil Pb. Polusi Pb yang terbesar berasal dari pembakaran bensin ( Fardiaz, 1992 ).

Selain itu manusia terkontaminasi timbal yang paling besar melalui makanan ( Gilman, 1985 ). Makanan dan minuman yang bersifat asam, seperti air tomat, air buah, minuman kola, air apel dan asinan dapat melarutkan timbal yang terdapat pada lapisan mangkuk dan panci. Makanan dan minuman yang terkena kontaminasi tersebut telah menyebabkan keracunan yang fatal pada manusia ( Ganiswarna, 1995 ).

Sumber – sumber pencemaran timbal dalam bidang industri terutama pabrik – pabrik yang bergerak dalam bidang pembuatan baterai, kabel, pengecatan kendaraan, keramik ( Calesnick, 1990 ). Paparan timbal yang paling

tinggi adalah di tempat peleburan timbal karena asap dan debu yang mengandung *Pb Oksida*. Begitu juga dengan para pekerja di pabrik aki menghadapi resiko yang serupa ( Ganiswarna, 1995 ).

Tingkat absorpsi timbal dalam saluran pencernaan dipengaruhi beberapa faktor diantaranya ialah umur dan keadaan nutrisi yang dikonsumsi ( Goyer, 1986 ). Tingkat penyerapan tertinggi ada pada anak kecil ( Concon, 1988 ). Hal ini didukung pula dengan tingkah laku anak – anak yang langsung memasukkan tangan ke mulutnya tanpa berpikir panjang bekas yang menempel di tangannya terutama jika tinggal di suatu area yang tingkat polusinya tinggi ( Goyer, 1986 ). Keracunan pada anak – anak sering terjadi karena termakannya cat yang berasal dari bangunan dan juga dari berbagai mainan anak – anak ( Darmono, 1995 ). Timbal banyak terkandung di dalam dempul dan cat karena cat mengandung timbal yang berjenis; timbal putih ( timbal carbonat ), timbal oksida ( timbal merah ) dan timbal sulfat atau timbal chromat ( Calesnick, 1990 ; Humphreys, 1988 ).

Toksisitas timbal dikarenakan kemampuannya untuk berikatan dengan sistem enzim, akibatnya aktivitas enzim terhambat, sehingga metabolisme dan fungsi sel terganggu ( Dixon, 1986 ). Timbal mempunyai pengaruh terhadap jaringan tubuh yaitu pada sistem syaraf, darah, saluran pencernaan, saluran pernafasan, ginjal, endokrin dan sistem reproduksi ( Concon, 1988 ).

Kadar timbal yang tinggi dalam lingkungan sudah menjadi hal yang mengkuatirkan karena menyebabkan penyakit yang serius pada manusia terutama anak – anak. Hal ini harus mulai diperhatikan. Gangguan kesehatan yang serius

bahkan mengarah pada kematian telah membuktikan sebagai efek timbal dalam kehidupan. Timbal bisa menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi yang serius, seperti penurunan kesuburan, meningkatkan angka aborsi, *neonatus* dan *stillbirth* ( Concon, 1988 ). Dalam penelitian, pengaruh timbal terhadap hewan coba baik pada pejantan atau betina mempunyai efek sebagai gametotoxic ( Goyer, 1986 ).

Pemeriksaan organ – organ sistem reproduksi khususnya ovarium yang terkontaminasi zat polutan adalah dengan cara menimbang berat ovarium dan mengamati perubahan organ ovarium secara histologi. Penghitungan folikel – folikel ovarium dalam preparat histologi dapat memonitor tingkat kerusakan organ tersebut pada hewan coba. Pemeriksaan dengan cara histologi merupakan pendekatan yang dapat dipercaya terhadap efek dari zat kimia ( timbal ) pada folikel – folikel ovarium. Perhitungan biasanya tiap organ diambil lima potong preparat dan setiap perkembangan folikel yang terjadi dapat dihitung dan dibandingkan ( Dixon, 1986 ).

Menurut Mattison and Thomford ( 1989 ) yang dibenarkan oleh Wilson and Leigh ( 1998 ) melaporkan bahwa pemberian garam timbal pada mencit betina akan menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi, dimana garam timbal tersebut akan menghambat pelepasan *Follicle Stimulating Hormon* ( FSH ) dan *Luteinizing Hormon* ( LH ) sehingga akan menyebabkan atrofi pada ovarium mencit.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka terdapat permasalahan yaitu :

1. Apakah pemberian larutan timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi dapat menurunkan berat ovarium mencit ?
2. Apakah pemberian larutan timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi dapat menurunkan jumlah folikel ovarium mencit, yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf ?

## 1.3 Landasan Teori

Pemaparan timbal sulit diketahui secara pasti tetapi suatu studi di Amerika mengatakan bahwa pemaparan timbal terbanyak adalah dari makanan dan minuman ( Ludiardjo dkk, 1995 ). Logam essensial seperti Cu dan Zn dalam dosis tertentu dibutuhkan sebagai unsur nutrisi pada hewan tapi logam non essensial seperti Hg, Pb, Cd dan As sama sekali belum diketahui kegunaannya walaupun dalam jumlah sedikit dapat menyebabkan keracunan pada hewan ( Darmono, 1994 ).

Toksisitas timbal dikarenakan kemampuannya untuk berikatan dengan sistem enzim, sehingga aktifitas enzim terhambat serta mengganggu metabolisme dan fungsi sel ( Calesnick, 1990 ). Kerusakan akan semakin jelas dengan bertambahnya konsentrasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mc Murry *et al.* ( 1995 ) bahwa kerusakan akan lebih nyata dengan bertambahnya konsentrasi dan lama pemberian.



#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan timbal asetat secara oral dalam beberapa konsentrasi terhadap perkembangan aktivitas ovarium mencit, yang meliputi : berat dan gambaran histologi ovarium mencit dalam hal ini jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai acuan untuk :

1. Mengetahui sejauh mana Pb asetat memberikan pengaruh negatif terhadap sistem reproduksi, terutama ovarium.
2. Mengetahui betapa pentingnya menekan angka pemakaian logam berat terutama timbal karena dampak negatifnya terhadap sistem reproduksi.

#### **1.6 Hipotesis Penelitian**

1. Pemberian timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi dapat menurunkan berat ovarium mencit.
2. Pemberian timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi dapat menurunkan jumlah folikel ovarium mencit, yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Karakteristik Timbal**

Timbal merupakan logam berat yang berbahaya. Logam timbal ini mempunyai nomer atom 82, berat atom 207,19, jari – jari atom 1,75 Å. Logam berat ini berwarna abu – abu kebiruan. Timbal dapat mudah larut dalam air ( Bloomfield and Stephens, 1996 ; Glinka, 1970 ; Svehla, 1985 ). Timbal meleleh pada suhu yang relatif rendah yaitu 327,5 ° C, sedangkan titik didih pada tekanan atmosfer 1740 ° C. Sedikit larut dalam air kecuali untuk unsur timbal asetat, timbal klorat dan timbal klorida ( Worker *et al.*, 1957 ).

Timbal hampir tidak pernah ditemukan dalam bentuk logam murni. Timbal merupakan logam lunak yang mudah dibentuk, tahan terhadap karat, yang mempunyai kerapatan yang besar, merupakan penghantar yang baik dan mudah diekstrak dari tambang. Timbal sering digunakan sebagai bahan dasar aki, bahan pembuat cat, tinta, keramik, amunisi dan pelindung logam – logam untuk pembuatan pipa – pipa, jembatan dan kapal besi agar tidak mudah berkarat ( WHO, 1977; Kendall, 1983; Palar, 1994 ).

#### **2.2 Toksikologi Timbal Bagi Tubuh**

Timbal suatu elemen yang pada umumnya terdapat pada tanah, air, udara dan makanan ( Stokinger, 1981 ). Timbal masuk ke dalam tubuh melalui dua cara utama yaitu saluran pencernaan dan saluran pernafasan ( Calesnick, 1990 ).

Selain itu Pb masuk ke dalam tubuh makhluk hidup juga dapat melalui kulit dan membran mukosa, khususnya komponen Pb organik misalnya tetraetil Pb ( Agustin, 1999 ).

Timbal yang terabsorpsi melalui saluran pernafasan sebesar 30 – 50 % tertahan di paru – paru dan sangat mudah terabsorpsi, khususnya Pb dalam bentuk tetraetil Pb, timbal dioksida (  $Pb(O_2)$  ), timbal oksida (  $PbO$  ) ( Agustin, 1999 ). Penyerapan melalui saluran pernapasan tergantung pada ukuran partikel dan volume udara yang terhirup ( WHO, 1977 ). Polusi timbal yang terdapat di udara terutama berasal dari buangan gas kendaraan yang paling banyak mengkontaminasi berat udara, di samping itu partikel di udara berasal dari sumber lain seperti pabrik – pabrik alkil timbal dan timbal oksida, pembakaran arang, pembakaran baterai bekas dan sebagainya ( Calesnick, 1990; Fardiaz, 1992 ).

Timbal yang masuk dalam saluran pencernaan pada umumnya karena tertelan bersama makanan, minuman dan alat – alat makan yang secara kebetulan terkontaminasi timbal, khususnya Pb yang dalam bentuk timbal asetat trihidrat (  $Pb(C_2H_3O_2).3H_2O$  ), timbal sulfide (  $PbS$  ), timbal putih (  $Pb(OH)_2.2PbCO_3$  ), timbal merah (  $Pb_3O_4$  ), timbal kuning (  $PbCrO_4$  ), timbal nitrat, timbal klorat dan timbal klorida ( Worker *et al*, 1957; Agustin, 1999 ). Penyerapan melalui cara ini agak lambat jika dibanding melalui saluran pernapasan ( WHO, 1980 ). Timbal terabsorpsi hanya sekitar 10 % pada individu dewasa. Hal ini sangat berbeda sekali pada anak – anak yang lebih berbahaya, di mana penyerapan bisa mencapai 50 % ( Calesnick, 1990 ). Penyerapan timbal melalui saluran

pencernaan juga didukung oleh faktor umur, lingkungan, tingkah laku dan komposisi nutrisi yang dikonsumsi ( Goyer, 1986 ).

Timbal didistribusikan terutama di jaringan setelah terabsorpsi. Timbal tersebut sebanyak 95 % dapat ditemukan di dalam tulang ( Gilman, 1985 ). Berdasarkan laporan telah diindikasikan bahwa walaupun level timbal di dalam plasma sel tubuh sangatlah rendah hal ini sudah dapat mempengaruhi fungsi fisiologi normal sel ( Calesnick, 1990 ). Timbal dalam segala bentuk bersifat racun yang berbahaya bagi kesehatan tubuh, sebab keracunan oleh timbal bersifat kumulatif dan berpengaruh buruk terhadap sistem syaraf, darah, saluran pencernaan, saluran pernafasan, jantung, ginjal, endokrin dan sistem reproduksi yang masing – masing akan memberikan efek yang berbeda ( Palar, 1994 ).

Timbal diekskresikan melalui urine dan feses. Kebanyakan ekskresi terjadi melalui cairan empedu ke dalam intestinum dan sebagian kecil diekskresikan melalui dinding intestinum dan ginjal melalui air susu, keringat dan rambut ( Darmono, 1995 ). Ekskresi timbal termasuk lambat dan cenderung menetap dalam tubuh. Timbal yang masuk dalam tubuh akan menumpuk sedikit demi sedikit dalam jaringan tubuh sampai akhirnya mencapai tingkat yang bersifat racun ( Stewart and Stolman, 1964 ).

Keracunan timbal dapat bersifat akut maupun kronis ( Gilman, 1985 ). Keracunan timbal secara kronis pada hewan disebabkan oleh terhirupnya timbal karbonat bersama dengan debu bisa juga melalui makanan yang terkontaminasi seperti pellet ( Grollman and Grollman, 1970 ).

Pemberian Pb asetat pada tikus jantan dengan konsentrasi 1 g / l melalui air minum selama 20 hari menyebabkan keracunan testis secara akut sehingga sel – selnya rusak dan kadar hormon testosteron dalam plasma tinggi ( Kempinas *et al.*, 1994 ). Penelitian yang lain dilakukan oleh Gernochova and Komrad ( 1994 ) mengenai pengaruh timbal nitrat terhadap sel leydig mencit. Pb nitrat diberikan dalam air minum selama 11 minggu. Setelah 11 minggu terjadi distrofi pada sel leydig dan terdapat penimbunan lemak pada vakuola sel leydig.

Timbal dapat menyebabkan enzim menjadi tidak dapat berfungsi dengan baik dan hal ini menjadi dasar efek timbal terhadap sistem reproduksi. Pemberian garam timbal dapat menghambat pelepasan FSH dan LH yang secara bersamaan pula dapat menyebabkan atrofi ovarium dan penurunan sekresi progesteron ( Wilson and Leigh, 1998 ).

### **2.3 Siklus Birahi Mencit**

Siklus birahi adalah selang waktu antara birahi yang satu sampai birahi berikutnya sedangkan birahi adalah suatu periode dimana hewan betina bersedia menerima hewan pejantan untuk kopulasi ( Partodiharjo, 1992 ).

Mencit merupakan hewan mamalia yang memiliki siklus kelamin poliestrus yang mengulang siklus – siklusnya sepanjang tahun tanpa banyak variasi, kecuali pada saat kebuntingan atau bunting semu ( Turner dan Bagnara, 1976 ). Pada umumnya siklus birahi pada mencit dapat dibagi menjadi empat fase yaitu, proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Dari keempat periode itu dapat dikelompokkan menjadi dua fase yaitu fase folikuler dan fase luteal. Fase

folikuler terdiri dari periode proestrus dan estrus sedangkan fase luteal terdiri dari periode metestrus dan diestrus. Perubahan – perubahan yang terjadi pada tiap fase dapat dilihat dari tingkah laku yang terjadi maupun dengan melihat perubahan epitel vagina secara mikroskopis. Lama satu siklus birahi pada mencit biasanya 4 – 5 hari ( Hafez, 1970 ; Toelihere, 1981; Smith dan Mangkoewidjojo, 1988 ).

Proestrus merupakan suatu periode yang menandakan mulai datangnya birahi pada hewan betina. Pada saat ini terjadi peningkatan jumlah estrogen yang dihasilkan oleh ovarium. Peningkatan ini disebabkan oleh folikel – folikel ovarium yang sedang tumbuh dibawah pengaruh FSH ( Mc Donald, 1989 ). Fase proestrus mencit berlangsung kira – kira 12 jam. Pada fase ini terjadi pertumbuhan folikel dan perubahan perilaku yaitu hewan mulai bersedia menerima pejantan tapi belum bersedia kopulasi. Terjadi peningkatan peredaran darah ke daerah organ genital dan epitel vagina menebal ( Salisbury and Van Demark, 1985 ). Fox dan Laird ( 1970 ) serta Turner dan Bagnara ( 1976 ) menyatakan bahwa dengan ulasan vagina pada saat proestrus akan ditemukan sel – sel epitel berinti yang dominan, yang muncul secara tunggal atau berbentuk lapisan.

Fase estrus pada mencit berlangsung selama 12 jam, pada fase ini folikel de Graaf membesar dan matang dengan kadar *Estradiol 17 -  $\beta$*  tinggi sehingga betina bersedia kopulasi yang biasanya terjadi pada tiga jam pertama fase estrus yang ditandai dengan adanya sumbat vagina yang berada dalam 16 – 48 jam setelah kopulasi. Perubahan lain adalah peningkatan aliran darah pada organ genitalia mempengaruhi potensial aksi otot polos uterus sehingga terjadi kontraksi

ke arah *tuba falopii* ( Smith dan Mangkoewidjojo, 1980 ; Toelihere, 1981; Guyton, 1991 ). Menurut Fox dan Laird ( 1970 ) serta Turner dan Bagnara (1976) ulasan vagina pada periode estrus akan memperlihatkan sel – sel pertandukan yang dominan.

Fase metestrus berlangsung selama 12 jam dan hewan betina tidak bersedia kopulasi. Pada ovarium terjadi pembentukan korpus hemoragikum di tempat folikel de Graaf melepaskan ovum. Kelenjar endometrium menjadi lebih panjang dan berkelok sedangkan kelenjar servik mengubah sifat sekresinya dari cair menjadi kental yang berfungsi sebagai sumbat lumen servik ( Partodihardjo, 1992 ). Pada mukosa vagina akan terjadi migrasi sel – sel leukosit diantara sel – sel tanduk. Dari pemeriksaan ulas vagina akan terlihat banyak sel – sel leukosit bersama dengan sedikit sel – sel tanduk ( Fox dan Laird, 1970 ; Turner dan Bagnara, 1976 ).

Fase diestrus adalah fase terakhir yang berlangsung kira – kira 56 jam. Periode ini ditandai dengan tidak adanya aktivitas kelamin dan hewan menjadi lebih tenang. Diestrus merupakan periode terpanjang dalam satu siklus. Pada ovarium terbentuk korpus luteum yang menghasilkan progesteron. Pada akhir fase ini terjadi regresi dan luteolisin korpus luteum dan mencit betina mulai memasuki fase proestrus kembali ( Toelihere, 1981; Partodihardjo, 1992 ). Turner dan Bagnara ( 1976 ) menyatakan bahwa saat diestrus uterus menjadi kecil, anemik dan agak kontraktif. Mukosa vagina tipis dan leukosit bermigrasi melintasinya. Pada pengamatan mikroskopis terhadap ulas vagina akan terlihat



adanya sel – sel leukosit dalam jumlah yang banyak ( Fox dan Laird, 1970; Turner dan Bagnara, 1976 ).

#### **2.4 Histologi Ovarium**

Ovarium terletak di dalam cavum abdominalis. Ovarium mendapat suplai darah dari arteria ovarii dan satu cabang arteria utero – ovarii serta diinervasi oleh syaraf – syaraf autonom dan plexus ovarii yang berasal dari plexus – plexus renalis dan aorticus. Bentuk dan besarnya tergantung kepada spesies, umur, banyaknya anak yang dilahirkan dan fase siklus birahi ( Toelihere, 1981; Priedkalns, 1987; Hardjopranjoto, 1995 ).

Ovarium mempunyai dua fungsi yaitu sebagai organ eksokrin yang menghasilkan sel telur atau ovum dan sebagai organ endokrin yang mensekresikan hormon – hormon kelamin betina, estrogen dan progesteron. Dua komponen penting yang terdapat pada ovarium yaitu, folikel dan korpus luteum dalam mencapai berkembangnya folikel melalui tingkatan – tingkatan perkembangan folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf ( Toelihere, 1981 ; Ismudiono, 1999 ).

Ovarium diliputi oleh epitel kuboid ( germinal ) selapis dan di bawahnya terdapat tunika albugenia yang terdiri atas jaringan fibrosa padat. Menurut Priedkalns ( 1992 ), secara histologis ovarium dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu korteks dan medula. Korteks merupakan daerah tepi yang lebar dan dibalut oleh epitel permukaan berbentuk kubus rendah. Bagian korteks yang berupa jaringan ikat longgar terdiri dari sel – sel epitel germinatif, sel telur yang masih

muda, folikel yang sedang tumbuh, folikel masak ( *Graafan Follicle* ), folikel yang atretis atau folikel degenerasi dan pembuluh darah. Medulla merupakan bagian tengah dari ovarium yang mengandung banyak pembuluh darah, sistem syaraf dan pembuluh limfe serta jaringan ikat fibro elastis yang tidak teratur ( Leeson *et al.*, 1993; Hardjopranto, 1995 ).

## **2.5 Hormon – hormon Ovarium**

Pada umumnya hormon ovarium mempunyai struktur inti yang sama yaitu *cyclopentano – perhydro – phenantrene*. Hormon – hormon ovarium yang telah ditemukan sehubungan dengan siklus birahi adalah estrogen dan progesteron. Estrogen dan progesteron merupakan steroid yang larut dalam minyak ( Salisbury and Van Demark, 1985 ).

Estrogen diproduksi oleh teka interna ovarium, korpus luteum, plasenta dan sejumlah kecil oleh korteks adrenal dan testis. Selain itu, diproduksi oleh sel – sel granulosa dari folikel pada fase antral hingga folikel de Graaf, Progesteron disekresikan oleh sel – sel luteal dari korpus luteum, plasenta dan korteks adrenal ( Ganong, 1990; Ismudiono, 1999 ).

## **2.6 Hormon – hormon Gonadotrophin**

Kelenjar hipofisis anterior mensekresi dua hormon berbeda yang dibutuhkan agar ovarium dapat berfungsi yaitu, FSH dan LH. Keduanya merupakan glikoprotein kecil yang mempunyai berat molekul sekitar 30.000 dalton.

FSH maupun LH merangsang sel target organ ovarium dengan cara berkombinasi dengan reseptor FSH dan LH yang sangat spesifik pada membran sel. Reseptor yang diaktifkan akan meningkatkan laju kecepatan sekresi dari sel – sel ini maupun pertumbuhan dan proliferasi dari sel ( Guyton, 1986 ).

FSH yang juga disebut sebagai *Follictrophin* berfungsi merangsang pertumbuhan dan maturasi dari folikel de Graaf pada ovarium. FSH bukan penyebab terjadinya sekresi estrogen dari ovarium sendiri tetapi adanya LH yang merangsang produksi estrogen dari ovarium. LH yang juga disebut sebagai *Luteotrophi dan Interstitial Cell Stimulating Hormon ( ICSH )*. Kadar basal LH beraksi bersama – sama dengan FSH menginduksi sekresi estrogen dari folikel de Graaf. Membanjirnya LH pada saat preovulasi menyebabkan pecahnya dinding folikel dan terjadi ovulasi. LH juga merangsang interstitial sel pada kedua ovarium ( Ismudiono, 1999 ).

LH diperlukan untuk pertumbuhan akhir dari folikel dan ovulasi. Tanpa hormon ini, bahkan walaupun FSH tersedia dalam jumlah besar, folikel tidak akan berkembang ke tahap ovulasi. LH juga mempunyai efek khusus terhadap sel granulosa, yang menyebabkan sel pertama mensekresi estrogen dalam jumlah sedikit tetapi secara progresif meningkat jumlah progesteron ( Guyton, 1986 ).

**BAB III**  
**MATERI DAN METODE**

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Teknologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sedangkan tempat pembuatan preparat histopatologi ovarium mencit dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan Agustus sampai dengan Desember 2002.

#### **3.2 Materi Penelitian**

##### **3.2.1 Hewan Percobaan**

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba mencit ( *Mus musculus* strain Balb / c ) betina sebanyak 25 ekor, berumur seragam yaitu 8 minggu ( sudah dewasa kelamin ) dengan berat badan 20 – 30 gram, belum pernah dikawinkan serta memiliki siklus birahi yang normal yaitu 4 – 5 hari. Mencit dikandangkan dalam kandang plastik yang dilengkapi dengan penutup kawat. Alas kandang yang menggunakan sekam dan diganti setiap 6 – 7 hari sekali. Mencit dipelihara dengan pemberian pakan dalam bentuk pellet dan air minum *ad libitum*.

### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan – bahan yang dipergunakan untuk penelitian ini adalah timbal dalam bentuk Plumbum Asetate Trihidrate, Aquadest, zat warna Giemsa 10 %, Methanol, NaCl fisiologis 0,9 % dan air kran untuk pewarnaan ulas vagina. Ether dipakai untuk mengorbankan mencit setelah mendapat perlakuan. Larutan formalin 10 %, alkohol bertingkat ( 70 %, 80 %, 95 % dan absolut ), Xylol, parafin, Canada Balsam, Haemotoxylene Eosin ( HE ).

### **3.2.3 Alat Penelitian**

Alat – alat yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain kandang mencit yang berupa kotak plastik tertutup kawat sebanyak lima buah yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, timbangan digital, *Syringe disposable* ukuran satu ml dengan sonde, beker glass, *cotton bud*, pipet, gunting bedah, pinset, skalpel, pot, *object glass*, *cover glass*, *microtom*, mikroskop dan alat fotografi.

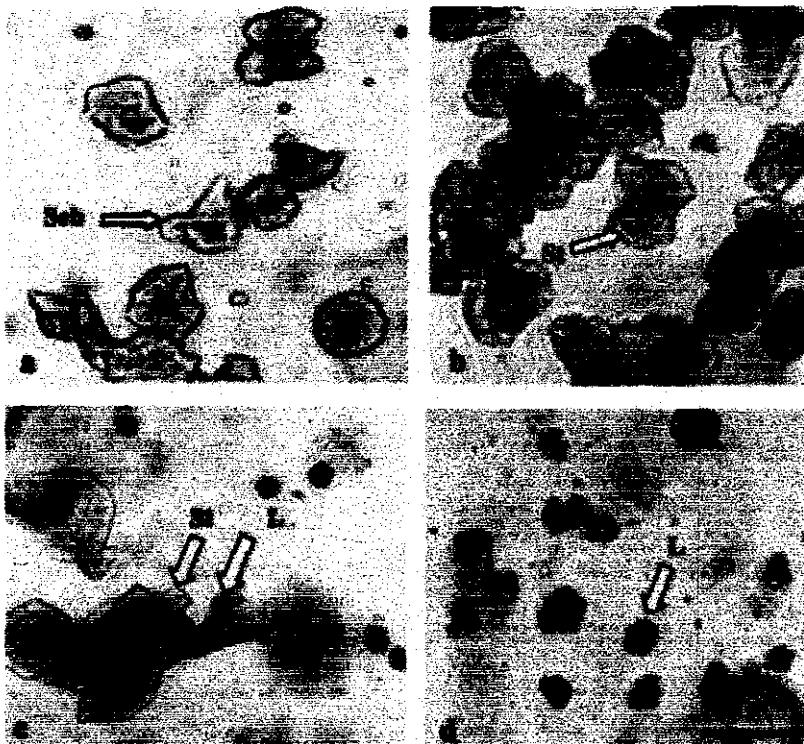
## **3.3 Metode Penelitian**

### **3.3.1 Prosedur Penelitian**

Hewan percobaan diadaptasikan dahulu selama satu minggu kemudian dilakukan pemeriksaan ulas vagina untuk mengetahui mencit yang memiliki siklus birahi yang normal. Pemeriksaan siklus estrus dilakukan dengan metode ulas vagina dengan pewarna Giemsa ( Sugimoto *et al.*, 2000 ). Teknik ulas vagina merupakan cara yang mudah untuk mendeteksi fase siklus estrus mencit.

Pemeriksaan ulas vagina dilakukan satu kali setiap hari dengan waktu interval yang sama yaitu antara pukul 07.00 – 09.00 WIB selama 15 hari.

Fase – fase dari siklus estrus mencit ditentukan berdasarkan keadaan sel – sel vagina yang ditemukan pada preparat ulas vagina yaitu : proestrus jika ditemukan sel – sel epitel berinti yang dominan, estrus jika ditemukan sel – sel berkornifikasi atau pertandukan dalam jumlah banyak, metestrus jika ditemukan sel – sel leukosit bersama dengan sel – sel pertandukan dalam jumlah yang hampir sama dan diestrus jika ditemukan sel – sel leukosit dalam jumlah yang dominan ( Fox and Laird, 1970 )



Gambar 1. Hasil ulas vagina mencit selama siklus estrus : a. Proestrus, b. Estrus, c. Metestrus, d. Diestrus. SEB = Sel Epitel Berinti, ST = Sel Tanduk, L = Leukosit.

Hewan percobaan yang terdiri dari 25 ekor mencit betina di tempatkan dalam kandang dimana setiap kandang berisikan lima ekor. Sistem pengambilannya secara acak dengan lima perlakuan yang masing – masing terdiri dari lima ulangan. Kelima kelompok perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

1. Kelompok Kontrol ( P<sub>0</sub> )

Mencit diberi aqudest .

2. Kelompok Perlakuan I ( P<sub>1</sub> )

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 125 ppm.

3. Kelompok Perlakuan II ( P<sub>2</sub> )

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 250 ppm.

4. Kelompok Perlakuan III ( P<sub>3</sub> )

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 500 ppm.

5. Kelompok Perlakuan IV ( P<sub>4</sub> )

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 1000 ppm.

Pemberian larutan timbal asetat sebanyak 0,3 ml setiap hari selama 30 hari secara oral dengan menggunakan sonde yang dimasukkan ke mulut dan terus sampai lambung mencit, penentuan dosis pada perlakuan didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Mc Murry *et al.*, ( 1995 ).

Mencit dikorbankan setelah perlakuan dengan menggunakan Ether kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan ovarium untuk penimbangan dan pemeriksaan mikroskopis dengan cara pembuatan preparat histologis.



### 3.3.2 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian adalah berat dan jumlah folikel ovarium mencit. Folikel – folikel tersebut terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf.

1. Folikel primer mengandung oosit primer yang dikelilingi oleh selapis epitel pipih atau kubus yang disebut sel folikuler dan berkumpul di bawah permukaan tunica albugenia.
2. Folikel sekunder berkembang ke arah pusat stroma korteks. Folikel ini terdiri dari epitel banyak lapis dari sel – sel granulosa berbentuk polihedral dan mengitari oosit serta ditandai dengan terbentuknya *zona pellucida*, antara oogonium dan sel – sel folikuler. Rongga yang berisi cairan belum terbentuk di antara sel – sel folikel
3. Folikel tersier ditandai dengan adanya perkembangan rongga yang disebut *Vacuola call – exner*. Rongga tersebut terbentuk karena adanya cairan folikel yang mengisi celah – celah di antara sel granulosa.
4. Folikel de Graaf merupakan folikel tersier yang hampir mengalami ovulasi. Oosit terdapat di daerah akumulasi sel – sel granulosa yang disebut *cumulus oophorus*. Terbentuk juga sel – sel granulosa yang langsung mengitari oosit menjadi silinder dengan susunan radial, dikenal sebagai *corona radiata*. Folikel ini juga ditandai dengan pembentukan membran granulosa, teka interna dan teka eksterna ( Priedkalns, 1992 ; Toelihere, 1981; Hafez, 1970 ).

Perhitungan dilakukan pada lima sayatan dari setiap preparat histologis ovarium mencit kemudian semua tingkatan folikel ovarium, yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de graaf dihitung lalu diambil rata – ratanya.

### **3.4 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) dengan satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan dan lima ulangan untuk masing – masing kelompok. Data yang diperoleh dari berat ovarium dan perhitungan jumlah folikel ovarium pada lima sayatan untuk setiap preparat histologis ovarium mencit dan kemudian diambil nilai rata – rata dari setiap preparat histologis tersebut.

### **3.5 Analisis Data**

Hasil pengamatan berdasarkan pada berat dan jumlah folikel ovarium mencit setelah perlakuan. Analisis data yang digunakan untuk mengetahui pengaruh timbal asetat terhadap berat dan jumlah folikel ovarium digunakan Analisis Varian atau uji F.

Adanya perbedaan yang bermakna dalam pengujian Analisis Varian akan dilanjutkan ke uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ) 5 % untuk membandingkan perlakuan – perlakuan tersebut.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Dari hasil pemeriksaan ulas vagina yang dilakukan setiap hari dengan interval waktu yang sama selama 15 hari terhadap 25 ekor mencit betina sebelum perlakuan didapat rata-rata siklus estrus yaitu  $4,40 \pm 0,46$  hari. Hasil ini menunjukkan bahwa mencit yang digunakan pada penelitian ini berada dalam kondisi siklus estrus yang normal.

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian larutan timbal asetat secara oral terhadap berat ovarium ditampilkan pada tabel 1 dibawah ini :

**Tabel 1. Rataan Berat Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat**

| Perlakuan      | n | Berat Ovarium ( mg )      |
|----------------|---|---------------------------|
| P <sub>0</sub> | 5 | 19,13 ± 0,90 <sup>a</sup> |
| P <sub>1</sub> | 5 | 10,42 ± 0,70 <sup>b</sup> |
| P <sub>2</sub> | 5 | 9,74 ± 0,46 <sup>bc</sup> |
| P <sub>3</sub> | 5 | 8,60 ± 0,84 <sup>bc</sup> |
| P <sub>4</sub> | 5 | 6,84 ± 0,78 <sup>c</sup>  |

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata (  $p < 0,05$  ).

Rataan berat ovarium mencit pada kelompok kontrol ( P<sub>0</sub> ) adalah  $19,13 \pm 0,90$  mg sedangkan rata-rata berat ovarium mencit pada kelompok perlakuan dengan

pemberian larutan timbal asetat 125 ppm ( P<sub>1</sub> ), 250 ppm ( P<sub>2</sub> ), 500 ppm ( P<sub>3</sub> ), dan 1000 ppm ( P<sub>4</sub> ) masing – masing adalah  $10,42 \pm 0,70$  mg,  $9,74 \pm 0,46$  mg,  $8,60 \pm 0,84$  mg dan  $6,84 \pm 0,78$  mg. Dengan uji BNT 5 % dapat menunjukkan perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan ( P<sub>1</sub> ) dengan pemberian larutan timbal asetat konsentrasi terkecil, yaitu 125 ppm sudah dapat memberikan pengaruh berupa penurunan berat ovarium yang nyata.

Hasil penelitian pengaruh pemberian timbal asetat secara oral terhadap jumlah folikel primer pada kelompok kontrol dan keempat kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini :

**Tabel 2. Rataan Jumlah Folikel Primer Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat**

| Perlakuan      | n | Jumlah Folikel Primer         |
|----------------|---|-------------------------------|
| P <sub>0</sub> | 5 | $11,24 \pm 0,79$ <sup>a</sup> |
| P <sub>1</sub> | 5 | $8,92 \pm 0,79$ <sup>b</sup>  |
| P <sub>2</sub> | 5 | $7,16 \pm 0,43$ <sup>bc</sup> |
| P <sub>3</sub> | 5 | $6,40 \pm 0,58$ <sup>c</sup>  |
| P <sub>4</sub> | 5 | $4,68 \pm 0,58$ <sup>d</sup>  |

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (  $p < 0,05$  ).

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa terdapat adanya penurunan jumlah folikel primer. Hasil analisis varian menunjukkan F hitung > F tabel 0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata di antara perlakuan. Dimana rata – rata jumlah folikel

primer pada kelompok kontrol (  $P_0$  ) adalah  $11,24 \pm 0,79$  sedangkan rata-rata jumlah folikel primer pada kelompok perlakuan dengan pemberian larutan timbal asetat 125 ppm (  $P_1$  ), 250 ppm (  $P_2$  ), 500 ppm (  $P_3$  ) dan 1000 ppm (  $P_4$  ) adalah masing – masing sebesar  $8,92 \pm 0,79$ ,  $7,16 \pm 0,43$ ,  $6,40 \pm 0,58$  dan  $4,68 \pm 0,58$ . Dengan uji BNT 5 % dapat menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan. Dari tabel dapat ditunjukkan adanya penurunan jumlah folikel primer yang semakin besar seiring dengan konsentrasi timbal asetat yang semakin meningkat.

Hasil penelitian berupa rata-rata jumlah folikel sekunder pada satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan setelah 30 hari perlakuan ditampilkan pada tabel 3 sebagai berikut :

**Tabel 3. Rataan Jumlah Folikel Sekunder Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat**

| Perlakuan | n | Jumlah Folikel Sekunder |
|-----------|---|-------------------------|
| $P_0$     | 5 | $9,92 \pm 0,41^a$       |
| $P_1$     | 5 | $7,64 \pm 0,93^{ab}$    |
| $P_2$     | 5 | $5,04 \pm 0,49^{bc}$    |
| $P_3$     | 5 | $3,56 \pm 0,79^c$       |
| $P_4$     | 5 | $2,08 \pm 0,23^c$       |

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (  $p < 0,05$  ).

Pada tabel 3 dapat dilihat bahwa adanya penurunan jumlah folikel sekunder, setelah dianalisis dengan Analisis Varian diperoleh hasil F hitung > F tabel sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian timbal asetat secara oral berpengaruh nyata terhadap penurunan jumlah folikel sekunder. Rata – rata jumlah folikel sekunder pada kelompok kontrol ( P<sub>0</sub> ) adalah sebesar  $9,92 \pm 0,41$  sedangkan pada kelompok perlakuan P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> dan P<sub>4</sub> masing – masing adalah sebagai berikut  $7,64 \pm 0,93$ ,  $5,04 \pm 0,49$ ,  $3,56 \pm 0,79$  dan  $2,08 \pm 0,23$ . Dengan menggunakan uji BNT 5 % dapat menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata setelah perlakuan selama 30 hari antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Hasil penelitian pengaruh pemberian larutan timbal asetat secara oral terhadap jumlah folikel tersier pada kelompok kontrol dan keempat kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Rataan Jumlah Folikel Tersier Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat**

| Perlakuan      | n | Jumlah Folikel Tersier       |
|----------------|---|------------------------------|
| P <sub>0</sub> | 5 | $7,72 \pm 0,83$ <sup>a</sup> |
| P <sub>1</sub> | 5 | $6,36 \pm 0,38$ <sup>b</sup> |
| P <sub>2</sub> | 5 | $4,72 \pm 0,64$ <sup>c</sup> |
| P <sub>3</sub> | 5 | $3,24 \pm 0,26$ <sup>d</sup> |
| P <sub>4</sub> | 5 | $1,92 \pm 0,41$ <sup>e</sup> |

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (  $p < 0,05$  ).

Sementara pada pengamatan jumlah folikel tersier, setelah dianalisis dengan Analisis Varian, diperoleh  $F$  hitung  $>$   $F$  tabel 0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Rata – rata jumlah folikel tersier yang memperoleh perlakuan selama 30 hari untuk kelompok kontrol (  $P_0$  ) adalah sebesar  $7,72 \pm 0,83$  sedangkan untuk kelompok perlakuan  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$  dan  $P_4$  masing – masing adalah  $6,36 \pm 0,38$ ,  $4,72 \pm 0,64$ ,  $3,24 \pm 0,26$  dan  $1,92 \pm 0,41$ . Dengan uji BNT 5 % menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok setelah perlakuan yang dilakukan. Dimana  $P_4$  mempunyai jumlah folikel tersier yang paling kecil diantara perlakuan lainnya.

Hasil penelitian yang berupa jumlah folikel de Graaf setelah pemberian larutan timbal asetat secara oral pada kelompok kontrol dan keempat kelompok perlakuan dapat ditampilkan pada tabel 5 di bawah ini.

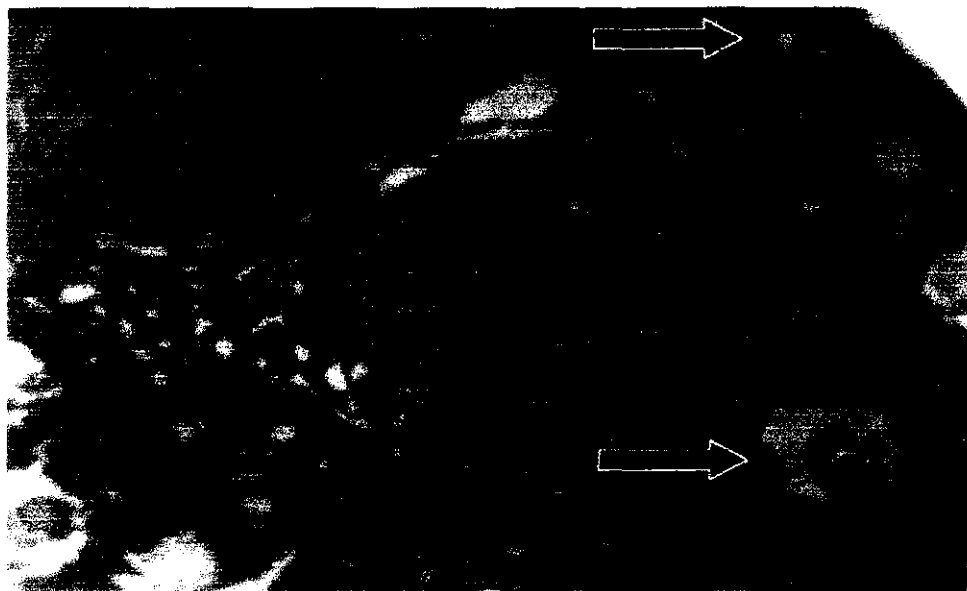
**Tabel 5. Rataan Jumlah Folikel De Graaf Ovarium Mencit pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat**

| Perlakuan | n | Jumlah Folikel De Graaf |
|-----------|---|-------------------------|
| $P_0$     | 5 | $3,56 \pm 0,48^a$       |
| $P_1$     | 5 | $2,20 \pm 0,55^b$       |
| $P_2$     | 5 | $1,32 \pm 0,30^c$       |
| $P_3$     | 5 | $0,72 \pm 0,48^d$       |
| $P_4$     | 5 | $0,24 \pm 0,26^d$       |

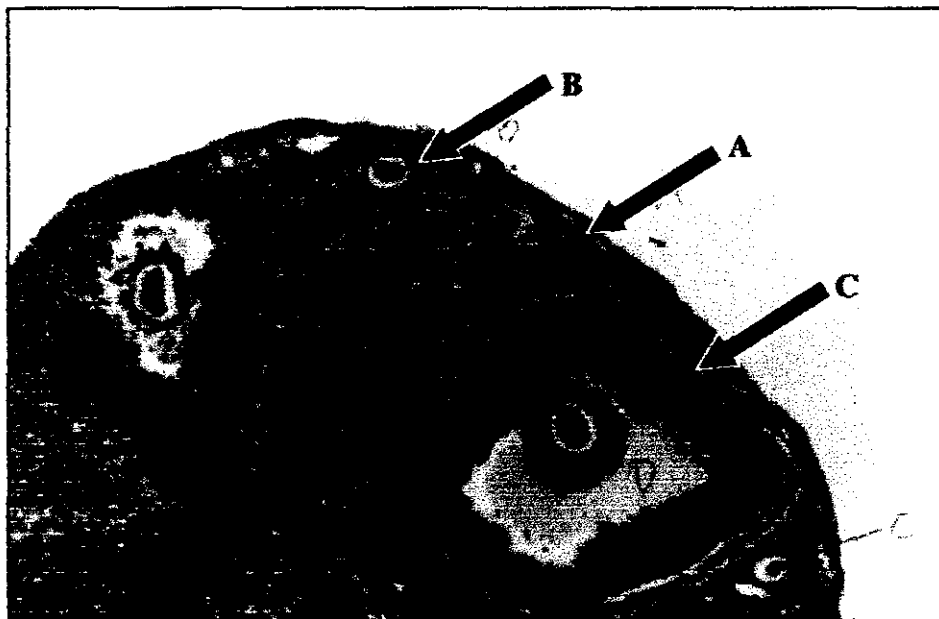
Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (  $p < 0,05$  ).

Pada tabel 5, dapat diamati adanya penurunan jumlah folikel de Graaf, setelah dianalisis dengan analisis varian diperoleh hasil  $F$  hitung  $> F$  tabel 0,05, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian timbal asetat secara oral selama 30 hari berpengaruh nyata terhadap penurunan jumlah folikel de Graaf. Kelima ekor mencit betina pada kelompok kontrol ( $P_0$ ) menunjukkan rata – rata jumlah folikel de Graaf adalah sebesar  $3,56 \pm 0,48$  sedangkan pada kelompok perlakuan  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$  dan  $P_4$  masing – masing adalah sebesar  $2,20 \pm 0,55$ ,  $1,32 \pm 0,30$ ,  $0,72 \pm 0,48$  dan  $0,24 \pm 0,26$ . Dengan uji BNT 5 % menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok. Pada konsentrasi larutan timbal asetat 125 ppm yang merupakan konsentrasi terkecil sudah dapat menurunkan jumlah folikel de Graaf yang nyata. Sedangkan pada konsentrasi larutan timbal asetat 1000 ppm yang merupakan konsentrasi tertinggi memberikan jumlah folikel de Graaf terkecil. Dari tabel di atas dapat dilihat adanya penurunan jumlah folikel de Graaf yang semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan timbal asetat.





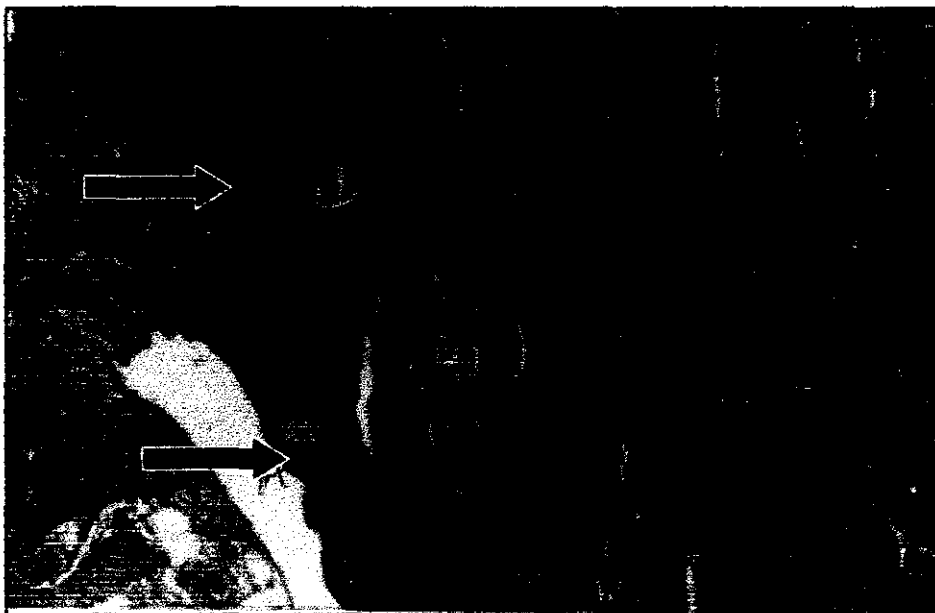
Gambar 2. Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Kontrol Dengan Pewarnaan HE. Pembesaran 10 X, A. Folikel Sekunder, B. Folikel Tersier.



Gambar 3. Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan I Dengan Pewarnaan HE. Pembesaran 10 X, A. Folikel Primer, B. Folikel Sekunder, C. Folikel Tersier.



Gambar 4. Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan II Dengan Pewarnaan HE. Pembesaran 10 X, A. Folikel Primer, B. Folikel Sekunder, C. Folikel Tersier.



Gambar 5. Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan III Dengan Pewarnaan HE. Pembesaran 10 X, A. Folikel Primer, B. Folikel Sekunder.



Gambar 6. Potongan Penampang Ovarium Mencit Kelompok Perlakuan IV Dengan Pewarnaan HE. Pembesaran 10 X, A. Folikel Primer, B. Folikel Sekunder.

**BAB V**  
**PEMBAHASAN**

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Pengujian efek dari timbal terhadap organ reproduksi, yaitu ovarium dapat diketahui dari aktivitasnya dengan pengamatan berat dan jumlah folikel ovarium yang terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf.

Timbal dalam bentuk larutan dapat diabsorpsi sekitar 1 – 10 % melalui dinding saluran pencernaan. Sistem darah porta hepatis membawa timbal tersebut dan dideposisi lalu sebagian lagi akan dibawa oleh darah yang kemudian didistribusikan ke dalam jaringan tubuh melalui peredaran darah. Timbal berpengaruh negatif pada semua organ yaitu dengan mengganggu sistem enzim sebagai akibatnya menghambat sistem metabolisme sel ( Darmono, 1995 ).

Logam berat ini mempunyai afinitas yang besar terhadap sistem enzim, terutama enzim oksidase dan hormon serta dapat mengusir magnesium, kalsium atau kation bervalensi banyak lainnya dari ikatan kompleksnya dengan protein. Kemampuan timbal berikatan dengan enzim menyebabkan enzim pada jaringan menjadi terhambat aktivitasnya sehingga metabolisme dan fungsi dari sel tersebut menjadi terganggu. Walaupun level timbal di dalam plasma sel tubuh sangatlah rendah hal ini sudah dapat menyebabkan gangguan fisiologis dari sel tersebut ( Dixon, 1986 ; Calesnick, 1990 ).

Pemberian larutan timbal asetat secara oral selama 30 hari pada mencit betina akan menumpuk sedikit demi sedikit dalam jaringan tubuh sampai akhirnya

mencapai tingkat yang bersifat berbahaya bagi tubuh, karena keracunan timbal dapat bersifat kumulatif. Ekskresi dari timbal termasuk lambat dan cenderung menetap dalam tubuh. Timbal dapat dengan mudahnya berikatan dengan ikatan kompleks dari protein. Enzim merupakan molekul protein yang mengkatalisis reaksi kimia tubuh. Dengan demikian timbal akan berikatan dengan enzim sehingga enzim tidak dapat bekerja dengan optimal yang kemudian akan mengakibatkan metabolisme dan fungsi sel tubuh menjadi terganggu.

Pada pemberian larutan timbal asetat secara oral pada mencit betina berpengaruh nyata terhadap penurunan rata – rata berat dan jumlah folikel ovarium. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan antara mencit kontrol yang diberi aquadest (  $P_0$  ) secara oral dengan mencit perlakuan. Dari hasil penelitian ini terdapat kecenderungan bahwa semakin besar konsentrasi larutan timbal asetat { konsentrasi perlakuan 125 ppm (  $P_1$  ), 250 ppm (  $P_2$  ), 500 ppm (  $P_3$  ) dan 1000 ppm (  $P_4$  ) } maka semakin besar pula tingkat penurunan berat dan jumlah folikel ovarium yang dihasilkan. Dosis perlakuan 1000 ppm merupakan konsentrasi tertinggi yang paling besar pengaruhnya dibanding dengan kelompok perlakuan lainnya. Pada larutan timbal asetat dengan konsentrasi terendah yaitu 125 ppm sudah tampak efek dari timbal berupa penurunan berat ovarium yang nyata dibandingkan dengan kontrol.

Folikulogenesis adalah suatu perkembangan folikel yang terjadi pada ovarium berbagai hewan mamalia, terdiri dari perkembangan besar folikel, jumlah lapisan sel granulosa, perkembangan sel teka interna dan eksterna serta posisi sel telur di sekeliling kumulus oophorus serta peningkatan volume cairan rongga

folikel ( Hardjopranto, 1995 ). Perkembangan folikel yang menjadi masak tergantung adanya hormon FSH selanjutnya untuk ovulasi dan pertumbuhan korpus luteum dipengaruhi oleh hormon LH. Kedua hormon gonadotrophin tersebut berasal dari hipofisis anterior.

Kegiatan fisiologis kelenjar ovarium sangat tergantung pada aktivitas kelenjar hipofisis anterior. Hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisis anterior tersebut adalah FSH dan LH, yang mendorong pertumbuhan dan terjadinya ovulasi folikel – folikel yang ada pada ovarium. Apabila terjadi hambatan pada sekresi hormon FSH dan LH maka akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan ovarium ( Sorensen, 1979 ).

Hasil perhitungan berat ovarium pada kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan didapatkan adanya penurunan berat rata – rata ovarium yang nyata (  $p < 0,05$  ). Pada konsentrasi terendah dari larutan timbal asetat yaitu 125 ppm sudah dapat memberikan efek berupa penurunan berat ovarium yang nyata. Tingkat penurunan berat ovarium mencit makin besar seiring dengan makin tingginya tingkat konsentrasi larutan timbal asetat yang diberikan secara oral.

Dalam penelitian ini pemberian timbal asetat secara oral pada mencit betina menyebabkan penurunan berat ovarium karena pelepasan FSH dan LH yang ada di dalam darah terikat dengan protein dimana ikatan kompleks proteinnya dirusak oleh timbal yang ada di dalam darah harus mengalami transformasi enzimatik pada susunan jaringan sasaran sebelum hormon tersebut digunakan sehingga menjadi terhambat pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium, yaitu terjadinya penurunan jumlah folikel pada berbagai tingkat

pertumbuhan yang secara keseluruhan sehingga dapat menurunkan berat ovarium yang kemudian akan menyebabkan atrofi ovarium. Diikuti pula adanya penurunan sekresi dari progesteron karena adanya hambatan sekresi LH yang menyebabkan tidak terjadinya ovulasi sehingga corpus luteum tidak terbentuk. Mattison and Thomford ( 1989 ) yang dibenarkan oleh Wilson and Leigh ( 1998 ) melaporkan bahwa pemberian garam timbal pada mencit betina dewasa akan menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi, dimana garam timbal akan menghambat pelepasan FSH dan LH sehingga menyebabkan atrofi pada ovarium.

Kadar hormon FSH dan LH dalam darah akan mempengaruhi perkembangan folikel. FSH berfungsi dalam menstimuli pertumbuhan dan pematangan folikel sedangkan LH bekerja sama dengan FSH menstimuli pematangan folikel.

Hasil penghitungan jumlah folikel primer pada kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan didapatkan adanya penurunan jumlah folikel yang nyata (  $p < 0,05$  ). Folikel primer merupakan perkembangan lebih lanjut dari sel germinatif dalam ovarium. Dengan terbentuknya sel folikel maka oosit dikelilingi oleh satu lapis sel folikel yang berbentuk pipih atau kuboidal dan selanjutnya lapisan sel folikel akan bertambah sesuai dengan bertambahnya tingkat perkembangan folikel ( Partodihardjo, 1980 ; Hafez, 1993 ).

Folikel sekunder merupakan perkembangan yang lebih lanjut dari folikel primer, ukuran yang lebih besar dari folikel primer karena jumlah sel – sel granulosanya lebih banyak. Di samping itu sel telurnya berkembang menjadi oosit sekunder dan sudah mempunyai pembungkus tipis yang disebut zona pellusida



diantara oosit dan sel – sel folikuler ( Partodihardjo, 1980 ; Toelihere, 1981 ; Hafez, 1993 ). Pada tingkat perkembangan folikel sekunder ini pemberian timbal asetat 1000 ppm ( P<sub>4</sub> ) menyebabkan adanya penurunan jumlah folikel sekunder yang paling besar dan hasil tersebut berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan perlakuan lainnya.

Folikel tersier yaitu folikel sekunder yang telah tumbuh lebih dewasa dan sel – sel granulosanya telah banyak, seluruh folikel tampak lebih besar dan pada folikel tersier ini telah terbentuk suatu rongga yang disebut *vacuola call – exner* yang berisi cairan jernih ( *liquor foliculli* ) yang kaya dengan protein dan estrogen ( Sorensen, 1979 ; Toelihere, 1981 ; Hafez, 1993 ). Melalui Analisis Varian yang dilanjutkan dengan uji BNT 5 % dapat diketahui adanya penurunan jumlah folikel tersier pada ovarium mencit yang nyata (  $p < 0,05$  ). Penurunan jumlah folikel tersier yang terjadi semakin besar sesuai dengan makin meningkatnya konsentrasi larutan timbal asetat yang diberikan. Penurunan jumlah folikel tersier sudah mulai tampak pada larutan timbal asetat konsentrasi terendah yaitu 125 ppm ( P<sub>1</sub> ) yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol.

Folikel de Graaf berasal dari folikel tersier yang telah matang dan merupakan folikel yang terakhir dan terbesar pada ovarium. Sel telur dalam folikel de Graaf terbungkus oleh masa sel yang disebut kumulus oophorus yang menonjol ke ruang *antrum foliculli* yang penuh dengan cairan folikel dan terus membesar seiring dengan perkembangan folikel sampai menjelang ovulasi. Jumlah folikel de Graaf yang berkembang per – siklus estrus tergantung dari hereditas dan faktor lingkungan ( Hafez, 1970 ; Partodihardjo, 1980 ). Dari hasil

perhitungan jumlah folikel de Graaf pada kelima perlakuan didapatkan penurunan jumlah folikel de Graaf mulai pada perlakuan satu ( P<sub>1</sub> ) yang mendapat larutan timbal asetat dengan konsentrasi 125 ppm terdapat perbedaan yang nyata.

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah folikel ovarium mencit ditemukan adanya penurunan jumlah rata – rata folikel tersebut pada ovarium setelah pemberian larutan timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium sejak dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf. Dimana penurunan jumlah folikel ovarium baik itu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier maupun folikel de Graaf semakin besar seiring dengan makin tingginya konsentrasi larutan timbal asetat yang diberikan secara oral. Menurut pernyataan Mc Murry *et al.* ( 1995 ) bahwa kerusakan akibat pemberian timbal akan lebih nyata dengan bertambahnya konsentrasi dan lama pemberian.

Hal tersebut karena pemberian larutan timbal asetat yang dapat menyebabkan penurunan sekresi dari FSH dan LH. Penurunan sekresi kedua hormon tersebut berakibat penghambatan pada pertumbuhan dan perkembangan folikel baik itu pada folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf dalam ovarium. Tidak adanya folikel yang masak ( folikel de Graaf ) mengakibatkan tidak adanya sekresi estrogen dalam ovarium dan disertai tidak terjadinya ovulasi yang diiringi dengan tidak terbentuknya korpus luteum sehingga sekresi progesteron menjadi terhambat. Dimana kedua hormon steroid ini mempengaruhi aktivitas dari ovarium selama estrus. Hasil ini tidak berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh Mattison and Thomford ( 1989 ) yang

dibenarkan oleh Wilson and Leigh ( 1998 ) dimana pemberian garam timbal secara oral tersebut dapat menghambat sekresi hormon FSH dan LH yang dapat menyebabkan atrofi ovarium dan menurunkan tingkat sekresi dari estrogen dan progesteron.

Kedua hormon yang disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior yaitu FSH dan LH merupakan molekul glikoprotein yang sangat mudah berikatan dengan logam berat, yaitu timbal. Timbal akan dengan mudahnya merusak ikatan protein dari kedua hormon tersebut sehingga FSH dan LH akan menjadi rusak dan sistem kerjanya tidak optimal karena susunan struktur kimia dari FSH dan LH menjadi berubah sehingga reseptor dari FSH dan LH yang sangat spesifik pada membran sel ini tidak dapat mengenali lagi FSH dan LH yang dihasilkan tersebut. Apabila reseptor kedua hormon tersebut sudah tidak dapat lagi mengenalinya maka hormon tidak dapat menghasilkan pengaruh. Kemudian secara langsung terjadi penurunan sekresi FSH dan LH sehingga akan terjadi penurunan pada pertumbuhan dan perkembangan dari folikel ovarium mencit tersebut.

Pemberian larutan timbal asetat secara oral selama 30 hari dengan berbagai konsentrasi pada mencit betina ini dapat menurunkan berat dan jumlah folikel ovarium mencit yang nyata. Namun pada pengamatan hasil penelitian ini secara mikroskopis belum ditemukan adanya kerusakan sel yang berarti. Tidak terdapat adanya perubahan atau kelainan bentuk pada folikel ovarium baik itu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier maupun folikel de Graaf.

**BAB VI**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian larutan timbal asetat secara oral selama 30 hari dengan dosis 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm terjadi penurunan berat ovarium yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).
2. Pemberian larutan timbal asetat secara oral selama 30 hari dengan dosis 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm terjadi penurunan jumlah folikel ovarium baik itu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier maupun folikel de Graaf yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

#### **6.2 Saran**

Untuk mengetahui pengaruh timbal asetat terhadap perkembangan sistem reproduksi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengukuran kadar hormon reproduksi, kuantitas sel telur, gambaran histologi uterus, perkembangan embrio, kualitas dan kuantitas kebuntingan pada mencit maupun pada hewan coba yang lainnya dengan konsentrasi yang berbeda.

## RINGKASAN

**Agung Rezki Trawesti.** Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Berat Dan Gambaran Histologi Ovarium Mencit ( *Mus musculus* ), dibawah bimbingan Tatik Hernawati M.Si., drh., selaku pembimbing pertama dan Suherni Susilowati M.Kes., drh., selaku pembimbing kedua.

Pencemaran timbal terdapat pada udara, tanah dan air. Timbal bisa ditemukan dimana – mana, terutama pada industri cat, keramik, tinta, aki, batere. Asap knalpot kendaraan bermotor mempunyai angka pencemaran timbal yang tinggi pula. Tingginya pencemaran timbal berpengaruh buruk pada kesehatan salah satunya terhadap sistem reproduksi. Timbal masuk ke dalam tubuh melalui dua cara utama, yaitu per inhalasi dan per oral. Selain itu timbal bisa masuk melalui kulit dan membran mukosa.

Timbal dikenal sebagai logam berat yang biasanya digunakan dalam perindustrian karena sifat – sifatnya yang sangat menguntungkan. Timbal bersifat kumulatif dan berpengaruh buruk terhadap sistem saraf, ginjal, reproduksi, endokrin dan jantung yang masing – masing akan memberikan efek yang berbeda – beda. Timbal yang masuk dalam tubuh akan menumpuk sedikit demi sedikit sampai akhirnya mencapai tingkat yang bersifat berbahaya bagi tubuh.

Penelitian ini menggunakan mencit betina dewasa strain Balb / c yang bersiklus estrus normal sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok, satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Kelompok P<sub>0</sub> sebagai kontrol diberi aquadest secara oral dan kelompok P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> dan P<sub>4</sub> masing –

masing diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Perlakuan dilakukan selama 30 hari kemudian pada hari ke - 31 dari masa perlakuan mencit dikorbankan dan dibedah kemudian diambil ovariumnya untuk penimbangan dan pembuatan preparat histologi ovarium mencit.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ), dengan lima macam perlakuan dan masing – masing terdiri dari lima ulangan. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan Analisis Varians apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji BNT 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian timbal asetat secara oral dengan berbagai konsentrasi menyebabkan penurunan berat dan jumlah folikel ovarium baik folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf. Angka penurunan baik berat ovarium maupun jumlah folikel berbeda nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan. Penurunan berat dan jumlah folikel ovarium semakin besar seiring dengan bertambahnya konsentrasi larutan timbal asetat yang diberikan. Larutan timbal asetat dapat menghambat sekresi hormon FSH dan LH dengan cara merusak ikatan kompleksnya dengan protein dimana timbal sangat mudah berikatan dengan protein sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan perkembangan dari aktivitas ovarium mencit. Melihat pengaruh timbal di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengukuran kadar hormon reproduksi, kualitas sel telur, gambaran histologi uterus, perkembangan embrio, kualitas dan kuantitas kebuntingan pada mencit maupun pada hewan coba lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA



## DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, Ulfah Trifani. 1999. *Pencemaran Timbal ( Pb ) dan Upaya Pencegahannya*. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Bloomfield, M.M. and L.J. Stephens. 1996. *Chemistry and The Living Organism*. 6<sup>th</sup> edition. John Wiley & Sons Inc. New York.
- Calesnick, B. 1990. Heavy Metals and Antagonist. In : J.R. DiPalma and G.J DiGregorio. *Basic Pharmacology in Medicine*. 3<sup>rd</sup> Edition. McGraw – Hill Publishing Company. New York. Pp. 683 – 685.
- Concon, J.M. 1988. *Food Toxicology Contaminants and Additives*. Part B. Marcel Dekker Inc. New York & Basel. Pp. 1075 – 1082.
- Darmono. 1995. *Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Dixon, R.L. 1986. Toxic Responses of The Reproductive System. In : C.D. Klaassen, M.O. Amdur and J. Doull. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. 3<sup>rd</sup> Macmillan Publishing Company. New York. Pp. 432 – 473.
- Fardiaz, S. 1992. *Pollusi dari Air dan Udara*. Cetakan Pertama. Penerbit Kanisum. Yogyakarta.
- Fox, R.R. and C.W. Laird. 1970. Sexual Cycles. In : E.S.E Hafez. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea & Febiger. Philadelphia. Pp. 107 – 122.
- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Pp. 782 – 786.
- Ganong, W.F. 1981. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke 10. Terjemahan : Adji Dharma. EGC. Pp. 360 – 395.
- Gilman, A.G. 1985. *The Pharmacological Basic of Therapeutics*. 7<sup>th</sup> edition. Macmillan Publishing Company. New York. Pp. 1606 – 1607.
- Glinka, N. 1970. *General Chemistry*. Mir Publishing. Moscow.

- Goyer, R.A. 1986. Toxic Effects of Metals. In : C.D. Klaassen, M.O. Amdur and J. Doull. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. 3<sup>rd</sup> edition. Macmillan Publishing Company. New York. Pp. 582 – 604.
- Grollman, A. and E.F. Grollman. 1970. *Pharmacology and Therapeutics*. 7<sup>th</sup> edition. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Guyton, A.C. 1986. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke 7. Bagian III. Alih Bahasa : dr. LMA. Ken Aryata Tengadi, dkk. EGC. Pp. 325 – 341.
- Hafez, E.S.E. 1970. Female Reproductive Organs. In: *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. 3<sup>rd</sup> edition. Lea and Febiger. Philadelphia. Pp. 74 – 105.
- Hafez, E.S.E. 1993. Folliculogenesis, Egg Maturation and Ovulation. In: Hafez E.S.E. *Reproduction in Farm Animals*. 6<sup>th</sup> edition. Lea and Febiger. Philadelphia. Pp. 114 – 143.
- Hardjopranto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Universitas Airlangga Press. Surabaya.
- Humpreys, D.J. 1988. *Veterinary Toxicology*. 3<sup>rd</sup> edition. Balliere Tindal. London.
- Ismudiono. 1999. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Edisi ke 2. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kempinas, W.G.F and Melo V.R. 1994. *Time Dependent Effect of Lead on Rat Reproductive Functions*. 14 ( 6 ) : 427 – 433 Nov – Dec 1994.
- Kendall, R.D. 1983. *Toxic Substance in The Environment*. 2<sup>nd</sup> edition. Kendall / Hunt. Publishing Company. Dubuque Iowa.
- Leeson, C.R., T.S. Leeson and A.A. Paparo. 1993. *Atlas Histologi*. 2<sup>nd</sup> edition. Alih Bahasa : Jan Tambajong, dkk. Binarupa Aksara. Jakarta.
- McDonald L.E. 1989. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- McMurry, S.T, R.L Lochmiller, S.A.M Candra and C.W Qualls. 1995. *Sensitivity of Selected Immunological Hematological dan reproduction Parameters in The Cotton Rat to Subchronic Disease*. 31 : 2 April 1995.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. PT. Rineka Cipta. Jakarta.

- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Edisi Ke 3, Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Priedkalns, J. 1987. Female Reproductive System. In : Dellman HD and Brown EM. *Textbook of Veterinary Histology II*. Ed : III. Lea and Febiger Philadelphia. Pp. 313 – 339.
- Salisbury, G.W. dan N.L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Terjemahan : R. Djamari. UGM Press. Yogyakarta.
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Penelitian, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta.
- Sorensen, A.M. 1979. *Animal Reproduction Principles And Practices*. McGraw-Hill Publication in The Agriculture Sciences.
- Stewart and Stolman. 1964. *Toxicology Mechanism and Analytical Method*. Limited Kingdom Edition. Academic Press Ltd. Pp. 215 – 217.
- Stokinger, H.E. 1981. The Metals. In : G.D. Clayton and F.E. Clayton. *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. 3<sup>rd</sup> Revised Edition. A Wiley – Interscience Publication. New York. Pp. 1687 – 1724.
- Sugimoto, M., Maeda S. and Miyamoto H. 2000. *Development of Infantile Rat Ovaries Autotransplanted After Cryopreservation by Vitrification*. *Theriogenology*, 53 : 1093 – 1103.
- Svehla, G. 1985. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi Mikro*. Edisi ke 5. PT. Kalman Media Pustaka. Jakarta.
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa Bandung. Pp. 133 – 165.
- Turner, C.D dan J.T. Bagnara. 1976. *Endokrinologi Umum*. Edisi ke 6. Terjemahan: Harjoso. Airlangga University Press. Surabaya. Pp. 564 – 618.
- WHO. 1972. *Health Hazards of The Human Enviroment*. WHO. Geneva. Pp. 178 – 181.
- WHO. 1997. *Lead. Enviromental Health Criteria 3*. World Health Organitation.

Wilson, C.A and A.J Leigh. 1998. Endocrine Toxicology of The Female Reproductive System. In : C.K. Atterwill and J.D. Flack. *Endocrine Toxicology*. Cambridge University Press. Pp. 313 – 352.

LAMPIRAN

**LAMPIRAN 1. Prosedur Ulas Vagina Dengan Metode Pewarnaan Giemsa**

1. Penanganan mencit dilakukan dengan cara menjepit pangkal ekor dengan jari kelingking, kemudian tengkuk mencit dipegang dengan ibu jari dan jari telunjuk.
2. Ulas vagina dilakukan dengan cara tangan kanan mengambil cotton swab steril yang sudah dibasahi dengan NaCl fisiologis ( 0,9 % ) kemudian diulaskan dengan pelan pada mukosa vagina beberapa kali.
3. Cotton swab tadi diulaskan di atas gelas objek yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70 %.
4. Hasil ulasan tadi dibiarkan kering dulu, kemudian difiksasi dengan cara direndam di dalam methanol selama dua menit.
5. Gelas objek diangkat dan ditunggu sampai kering.
6. Selanjutnya pewarnaan dilakukan dengan merendam gelas objek di dalam larutan Giemsa 10 % selama 25 menit.
7. Preparat kemudian dicuci dengan air kran yang mengalir dengan pelan.
8. Setelah kering, preparat diperiksa dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x untuk melihat perubahan sitologi vaginanya.

## LAMPIRAN 2. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Ovarium

1. Organ ovarium difiksasi dalam larutan formalin buffer 10 % selama 24 jam.
2. Proses pembuatan sediaan.

- a. Dehidrasi

Untuk membersihkan jaringan dan menarik air dari jaringan. Jaringan dicuci dengan air mengalir kurang lebih setengah jam. Kemudian dimasukkan berturut – turut ke dalam alkohol 70 % ( dua jam ), alkohol 80 % ( dua jam ), alkohol 95 % ( dua jam ), alkohol 96 % ( satu jam ), alkohol absolut ( satu jam ).

- b. Clearing ( penjernihan )

Untuk menjernihkan jaringan direndam dalam xilol I ( satu jam ), xilol II ( dua jam ), kemudian xilol III ( dua jam ).

- c. Infiltrasi

Untuk menginfiltrasi jaringan. Jaringan dimasukkan dalam paraffin I yang mencair, kemudian dioven setengah jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam paraffin II dan dimasukkan lagi ke dalam oven selama setengah jam pada suhu 58 – 60 ° C .

- d. Embeding ( pengeblokan )

Pencetakan dengan paraffin cair dan panas yang dituangkan ke dalam cetakan besi berbentuk kubus kemudian jaringan dimasukkan ke dalamnya dengan posisi yang diatur sebanyak mungkin diinginkan sehingga paraffin menjadi beku.

## 1. Pengirisan jaringan

Memotong jaringan sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop. Pemotongan diambil random, kemudian diambil lima sayatan dengan tebal lima sampai tujuh micron. Selanjutnya dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu  $20 - 30^{\circ} \text{C}$  sampai jaringan mengembang baik dan mekar, kemudian diletakkan pada gelas objek yang telah diolesi dengan putih telur dan dikeringkan di atas hot plate  $60^{\circ} \text{C}$ .

## 2. Pewarnaan

### a. Deparafinisasi

Objek glass yang telah ada sayatan jaringannya dimasukkan dalam xilol I ( lima menit ), xilol II ( sepuluh menit ).

### b. Hidrasi

Dimasukkan dalam alkohol 96 % ( dua menit ), alkohol 95 % ( dua menit ) dan alkohol 80 % ( dua menit ).

c. Dicuci pada air mengalir ( sepuluh menit ), kemudian dimasukkan ke dalam Mayer Hematoksilin ( sepuluh menit ).

d. Setelah dicuci dengan air mengalir selama 20 menit, kemudian dimasukkan dalam eosin satu persen selama satu menit.

### e. Dehidrasi

Preparat berturut – turut dimasukkan dalam alkohol 80 % ( dua menit ) dan alkohol 96 % ( dua menit ) kemudian dianginkan.



f. Clearing

Dilanjutkan dengan perendaman dengan xilol I ( lima menit ), xilol II ( lima menit ), xilol III ( lima menit ).

g. Sediaan dibiarkan mengering untuk kemudian ditetesi Canada Balsam yang dicampur Sodium Carbonat kemudian ditutup dengan cover glass lalu diberi label.

h. Setelah sediaan kering, siap diperiksa di bawah mikroskop.

### LAMPIRAN 3. Evaluasi Statistik Berat Ovarium

#### Oneway

#### Descriptives

Rataan Berat Ovarium Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat

|       | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |         |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| 1.00  | 5  | 19.1300 | .9053          | .4048      | 18.0060                          | 20.2540     | 18.40   | 20.70   |
| 2.00  | 5  | 10.4200 | .7050          | .3153      | 9.5446                           | 11.2954     | 9.70    | 11.60   |
| 3.00  | 5  | 9.7400  | .4561          | .2040      | 9.1737                           | 10.3063     | 9.00    | 10.20   |
| 4.00  | 5  | 8.6000  | .8367          | .3742      | 7.5611                           | 9.6389      | 7.80    | 9.60    |
| 5.00  | 5  | 6.8400  | .7829          | .3501      | 5.8678                           | 7.8122      | 5.90    | 7.80    |
| Total | 25 | 10.9460 | 4.4098         | .8820      | 9.1257                           | 12.7663     | 5.90    | 20.70   |

#### ANOVA

Berat Ovarium

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 455,360        | 4  | 113,840     | 200,599 | ,000 |
| Within Groups  | 11,350         | 20 | ,567        |         |      |
| Total          | 466,710        | 24 |             |         |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Berat Ovarium

**LSD**

| (I)<br>TIMBAL | (J)<br>TIMBAL | Mean<br>Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95%<br>Confidence<br>Interval |             |
|---------------|---------------|--------------------------|------------|------|-------------------------------|-------------|
|               |               |                          |            |      | Lower Bound                   | Upper Bound |
| 1.00          | 2.00          | 8.7100                   | .4764      | ,000 | 7.7162                        | 9.7038      |
|               | 3.00          | 9.3900                   | .4764      | ,000 | 8.3962                        | 10.3838     |
|               | 4.00          | 10.5300                  | .4764      | ,000 | 9.5362                        | 11.5238     |
|               | 5.00          | 12.2900                  | .4764      | ,000 | 11.2962                       | 13.2838     |
| 2.00          | 1.00          | -8.7100                  | .4764      | ,000 | -9.7038                       | -7.7162     |
|               | 3.00          | .6800                    | .4764      | ,169 | -.3138                        | 1.6738      |
|               | 4.00          | 1.8200                   | .4764      | ,001 | .8262                         | 2.8138      |
|               | 5.00          | 3.5800                   | .4764      | ,000 | 2.5862                        | 4.5738      |
| 3.00          | 1.00          | -9.3900                  | .4764      | ,000 | -10.3838                      | -8.3962     |
|               | 2.00          | -.6800                   | .4764      | ,169 | -1.6738                       | .3138       |
|               | 4.00          | 1.1400                   | .4764      | ,027 | .1462                         | 2.1338      |
|               | 5.00          | 2.9000                   | .4764      | ,000 | 1.9062                        | 3.8938      |
| 4.00          | 1.00          | -10.5300                 | .4764      | ,000 | -11.5238                      | -9.5362     |
|               | 2.00          | -1.8200                  | .4764      | ,001 | -2.8138                       | -.8262      |
|               | 3.00          | -1.1400                  | .4764      | ,027 | -2.1338                       | -.1462      |
|               | 5.00          | 1.7600                   | .4764      | ,001 | .7662                         | 2.7538      |
| 5.00          | 1.00          | -12.2900                 | .4764      | ,000 | -13.2838                      | -11.2962    |
|               | 2.00          | -3.5800                  | .4764      | ,000 | -4.5738                       | -2.5862     |
|               | 3.00          | -2.9000                  | .4764      | ,000 | -3.8938                       | -1.9062     |
|               | 4.00          | -1.7600                  | .4764      | ,001 | -2.7538                       | -.7662      |

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

## LAMPIRAN 2. EVALUASI STATISTIK FOLIKEL PRIMER

### Oneway Descriptives Folikel Primer

|       | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |         |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| 1.00  | 5  | 11.2400 | .7925          | .3544      | 10.2560                          | 12.2240     | 10.00   | 12.00   |
| 2.00  | 5  | 8.7200  | 1.0450         | .4673      | 7.4225                           | 10.0175     | 7.40    | 10.00   |
| 3.00  | 5  | 7.1600  | .4336          | .1939      | 6.6216                           | 7.6984      | 6.60    | 7.80    |
| 4.00  | 5  | 6.4000  | .5831          | .2608      | 5.6760                           | 7.1240      | 6.00    | 7.40    |
| 5.00  | 5  | 4.6800  | .5762          | .2577      | 3.9646                           | 5.3954      | 4.00    | 5.40    |
| Total | 25 | 7.6400  | 2.3594         | .4719      | 6.6661                           | 8.6139      | 4.00    | 12.00   |

### ANOVA Folikel Primer

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 123,280        | 4  | 30,820      | 59,729 | ,000 |
| Within Groups  | 10,320         | 20 | ,516        |        |      |
| Total          | 133,600        | 24 |             |        |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Folikel Primer

**LSD**

| (I)<br>TIMBAL | (J)<br>TIMBAL | Mean<br>Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95%<br>Confidence<br>Interval |             |
|---------------|---------------|--------------------------|------------|------|-------------------------------|-------------|
|               |               |                          |            |      | Lower Bound                   | Upper Bound |
| 1.00          | 2.00          | 2.5200                   | .4543      | ,000 | 1.5723                        | 3.4677      |
|               | 3.00          | 4.0800                   | .4543      | ,000 | 3.1323                        | 5.0277      |
|               | 4.00          | 4.8400                   | .4543      | ,000 | 3.8923                        | 5.7877      |
|               | 5.00          | 6.5600                   | .4543      | ,000 | 5.6123                        | 7.5077      |
| 2.00          | 1.00          | -2.5200                  | .4543      | ,000 | -3.4677                       | -1.5723     |
|               | 3.00          | 1.5600                   | .4543      | ,003 | .6123                         | 2.5077      |
|               | 4.00          | 2.3200                   | .4543      | ,000 | 1.3723                        | 3.2677      |
| 3.00          | 5.00          | 4.0400                   | .4543      | ,000 | 3.0923                        | 4.9877      |
|               | 1.00          | -4.0800                  | .4543      | ,000 | -5.0277                       | -3.1323     |
|               | 2.00          | -1.5600                  | .4543      | ,003 | -2.5077                       | -.6123      |
| 4.00          | 4.00          | .7600                    | .4543      | ,110 | -.1877                        | 1.7077      |
|               | 5.00          | 2.4800                   | .4543      | ,000 | 1.5323                        | 3.4277      |
|               | 1.00          | -4.8400                  | .4543      | ,000 | -5.7877                       | -3.8923     |
| 5.00          | 2.00          | -2.3200                  | .4543      | ,000 | -3.2677                       | -1.3723     |
|               | 3.00          | -.7600                   | .4543      | ,110 | -1.7077                       | .1877       |
|               | 5.00          | 1.7200                   | .4543      | ,001 | .7723                         | 2.6677      |
|               | 1.00          | -6.5600                  | .4543      | ,000 | -7.5077                       | -5.6123     |
| 5.00          | 2.00          | -4.0400                  | .4543      | ,000 | -4.9877                       | -3.0923     |
|               | 3.00          | -2.4800                  | .4543      | ,000 | -3.4277                       | -1.5323     |
|               | 4.00          | -1.7200                  | .4543      | ,001 | -2.6677                       | -.7723      |

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

### LAMPIRAN 5. Evaluasi Statistik Folikel Sekunder.

#### Oneway

#### Descriptives

Folikel sekunder Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat.

|       | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |        |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| P0    | 5  | 9,9200 | ,4147          | ,1855      | 9,4050                           | 10,4350     | 9,40    | 10,40   |
| P1    | 5  | 7,6400 | ,9317          | ,4167      | 6,4832                           | 8,7968      | 6,80    | 9,00    |
| P2    | 5  | 5,0400 | ,4980          | ,2227      | 4,4217                           | 5,6583      | 4,60    | 5,80    |
| P3    | 5  | 3,5600 | ,7925          | ,3544      | 2,5760                           | 4,5440      | 2,80    | 4,60    |
| P4    | 5  | 2,0800 | ,2280          | ,1020      | 1,7969                           | 2,3631      | 1,80    | 2,40    |
| Total | 25 | 5,6480 | 2,9316         | ,5863      | 4,4379                           | 6,8581      | 1,80    | 10,40   |

#### ANOVA

Folikel Sekunder Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 198,390        | 4  | 49,598      | 126,010 | ,000 |
| Within Groups  | 7872           | 20 | ,394        |         |      |
| Total          | 206,262        | 24 |             |         |      |

**Post Hoc Tests**

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Folikel Sekunder

**LSD**

| (I)                     | (J) | Mean<br>Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95%<br>Confidence<br>Interval |             |
|-------------------------|-----|--------------------------|------------|------|-------------------------------|-------------|
|                         |     |                          |            |      | Lower Bound                   | Upper Bound |
| konsentrasi konsentrasi |     |                          |            |      |                               |             |
| P0                      | P1  | 2,2800                   | ,3968      | ,000 | 1,4523                        | 3,1077      |
|                         | P2  | 4,8800                   | ,3968      | ,000 | 4,0523                        | 5,7077      |
|                         | P3  | 6,3600                   | ,3968      | ,000 | 5,5323                        | 7,1877      |
|                         | P4  | 7,8400                   | ,3968      | ,000 | 7,0123                        | 8,6677      |
| P1                      | P0  | -2,2800                  | ,3968      | ,000 | -3,1077                       | -1,4523     |
|                         | P2  | 2,6000                   | ,3968      | ,000 | 1,7723                        | 3,4277      |
|                         | P3  | 4,0800                   | ,3968      | ,000 | 3,2523                        | 4,9077      |
|                         | P4  | 5,5600                   | ,3968      | ,000 | 4,7323                        | 6,3877      |
| P2                      | P0  | -4,8800                  | ,3968      | ,000 | -5,7077                       | -4,0523     |
|                         | P1  | -2,6000                  | ,3968      | ,000 | -3,4277                       | -1,7723     |
|                         | P3  | 1,4800                   | ,3968      | ,001 | ,6523                         | 2,3077      |
|                         | P4  | 2,9600                   | ,3968      | ,000 | 2,1323                        | 3,7877      |
| P3                      | P0  | -6,3600                  | ,3968      | ,000 | -7,1877                       | -5,5323     |
|                         | P1  | -4,0800                  | ,3968      | ,000 | -4,9077                       | -3,2523     |
|                         | P2  | -1,4800                  | ,3968      | ,001 | -2,3077                       | -,6523      |
|                         | P4  | 1,4800                   | ,3968      | ,001 | ,6523                         | 2,3077      |
| P4                      | P0  | -7,8400                  | ,3968      | ,000 | -8,6677                       | -7,0123     |
|                         | P1  | -5,5600                  | ,3968      | ,000 | -6,3877                       | -4,7323     |
|                         | P2  | -2,9600                  | ,3968      | ,000 | -3,7877                       | -2,1323     |
|                         | P3  | -1,4800                  | ,3968      | ,001 | -2,3077                       | -,6523      |

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

## LAMPIRAN 6. Evaluasi Statistik Folikel Tersier

### Oneway

#### Descriptives

Folikel Tersier Terhadap Pengaruh Pemberian Timbal Asetat.

|       | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |        |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| 1.00  | 5  | 7.7200 | .8319          | .3720      | 6.6871                           | 8.7529      | 6.80    | 8.80    |
| 2.00  | 5  | 6.3600 | .3847          | .1720      | 5.8823                           | 6.8377      | 6.00    | 7.00    |
| 3.00  | 5  | 4.7200 | .6419          | .2871      | 3.9230                           | 5.5170      | 4.00    | 5.60    |
| 4.00  | 5  | 3.2400 | .2608          | .1166      | 2.9162                           | 3.5638      | 3.00    | 3.60    |
| 5.00  | 5  | 1.9200 | .4147          | .1855      | 1.4050                           | 2.4350      | 1.40    | 2.40    |
| Total | 25 | 4.7920 | 2.1836         | .4367      | 3.8906                           | 5.6934      | 1.40    | 8.80    |

### ANOVA

Folikel Tersier

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 108,470        | 4  | 27,118      | 90,877 | ,000 |
| Within Groups  | 5,968          | 20 | ,298        |        |      |
| Total          | 114,438        | 24 |             |        |      |
| Total          | 114,438        | 24 |             |        |      |



**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Folikel Tersier

**LSD**

| (I)<br>TIMBAL | (J)<br>TIMBAL | Mean Difference<br>(I-J) | Std. Error | Sig. | 95%<br>Confidence<br>Interval |             |
|---------------|---------------|--------------------------|------------|------|-------------------------------|-------------|
|               |               |                          |            |      | Lower Bound                   | Upper Bound |
| 1.00          | 2.00          | 1.3600                   | .3455      | ,001 | .6393                         | 2.0807      |
|               | 3.00          | 3.0000                   | .3455      | ,000 | 2.2793                        | 3.7207      |
|               | 4.00          | 4.4800                   | .3455      | ,000 | 3.7593                        | 5.2007      |
|               | 5.00          | 5.8000                   | .3455      | ,000 | 5.0793                        | 6.5207      |
| 2.00          | 1.00          | -1.3600                  | .3455      | ,001 | -2.0807                       | -.6393      |
|               | 3.00          | 1.6400                   | .3455      | ,000 | .9193                         | 2.3607      |
|               | 4.00          | 3.1200                   | .3455      | ,000 | 2.3993                        | 3.8407      |
|               | 5.00          | 4.4400                   | .3455      | ,000 | 3.7193                        | 5.1607      |
| 3.00          | 1.00          | -3.0000                  | .3455      | ,000 | -3.7207                       | -2.2793     |
|               | 2.00          | -1.6400                  | .3455      | ,000 | -2.3607                       | -.9193      |
|               | 4.00          | 1.4800                   | .3455      | ,000 | .7593                         | 2.2007      |
|               | 5.00          | 2.8000                   | .3455      | ,000 | 2.0793                        | 3.5207      |
| 4.00          | 1.00          | -4.4800                  | .3455      | ,000 | -5.2007                       | -3.7593     |
|               | 2.00          | -3.1200                  | .3455      | ,000 | -3.8407                       | -2.3993     |
|               | 3.00          | -1.4800                  | .3455      | ,000 | -2.2007                       | -.7593      |
|               | 5.00          | 1.3200                   | .3455      | ,001 | .5993                         | 2.0407      |
| 5.00          | 1.00          | -5.8000                  | .3455      | ,000 | -6.5207                       | -5.0793     |
|               | 2.00          | -4.4400                  | .3455      | ,000 | -5.1607                       | -3.7193     |
|               | 3.00          | -2.8000                  | .3455      | ,000 | -3.5207                       | -2.0793     |
|               | 4.00          | -1.3200                  | .3455      | ,001 | -2.0407                       | -.5993      |

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

## LAMPIRAN 7. Evaluasi Statistik Folikel De Graaf

### Oneway

#### Descriptives

Folikel De Graaf Terhadap Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat

|       | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |        |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| P0    | 5  | 3,5600 | ,4775          | ,2135      | 2,9671                           | 4,1529      | 3,00    | 4,20    |
| P1    | 5  | 2,2000 | ,5477          | ,2449      | 1,5199                           | 2,8801      | 1,60    | 3,00    |
| P2    | 5  | 1,3200 | ,3033          | ,1356      | ,9434                            | 1,6966      | 1,00    | 1,80    |
| P3    | 5  | ,7200  | ,4817          | ,2154      | ,1219                            | 1,3181      | ,20     | 1,40    |
| P4    | 5  | ,2400  | ,2608          | ,1166      | -8,3786E-02                      | ,5638       | ,00     | ,60     |
| Total | 25 | 1,6080 | 1,2616         | ,2523      | 1,0872                           | 2,1288      | ,00     | 4,20    |

### ANOVA

Folikel De Graaf

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 34,518         | 4  | 8,630       | 46,900 | ,000 |
| Within Groups  | 3,680          | 20 | ,184        |        |      |
| Total          | 38,198         | 24 |             |        |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Folikel De Graaf

**LSD**

| (I)               | (J) | Mean<br>Difference<br>(I-J) | Std. Error | Sig. | 95%<br>Confidence<br>Interval |             |
|-------------------|-----|-----------------------------|------------|------|-------------------------------|-------------|
|                   |     |                             |            |      | Lower Bound                   | Upper Bound |
| konsentrasi<br>P0 | P1  | 1,3600                      | ,2713      | ,000 | ,7941                         | 1,9259      |
|                   | P2  | 2,2400                      | ,2713      | ,000 | 1,6741                        | 2,8059      |
|                   | P3  | 2,8400                      | ,2713      | ,000 | 2,2741                        | 3,4059      |
|                   | P4  | 3,3200                      | ,2713      | ,000 | 2,7541                        | 3,8859      |
| P1                | P0  | -1,3600                     | ,2713      | ,000 | -1,9259                       | -,7941      |
|                   | P2  | ,8800                       | ,2713      | ,004 | ,3141                         | 1,4459      |
|                   | P3  | 1,4800                      | ,2713      | ,000 | ,9141                         | 2,0459      |
|                   | P4  | 1,9600                      | ,2713      | ,000 | 1,3941                        | 2,5259      |
| P2                | P0  | -2,2400                     | ,2713      | ,000 | -2,8059                       | -1,6741     |
|                   | P1  | -,8800                      | ,2713      | ,004 | -1,4459                       | -,3141      |
|                   | P3  | ,6000                       | ,2713      | ,039 | 3,409E-02                     | 1,1659      |
|                   | P4  | 1,0800                      | ,2713      | ,001 | ,5141                         | 1,6459      |
| P3                | P0  | -2,8400                     | ,2713      | ,000 | -3,4059                       | -2,2741     |
|                   | P1  | -1,4800                     | ,2713      | ,000 | -2,0459                       | -,9141      |
|                   | P2  | -,6000                      | ,2713      | ,039 | -1,1659                       | -3,4092E-02 |
|                   | P4  | ,4800                       | ,2713      | ,092 | -8,5908E-02                   | 1,0459      |
| P4                | P0  | -3,3200                     | ,2713      | ,000 | -3,8859                       | -2,7541     |
|                   | P1  | -1,9600                     | ,2713      | ,000 | -2,5259                       | -1,3941     |
|                   | P2  | -1,0800                     | ,2713      | ,001 | -1,6459                       | -,5141      |
|                   | P3  | -,4800                      | ,2713      | ,092 | -1,0459                       | 8,591E-02   |

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

*Karya kecil ini kupersembahkan untuk yang tercinta  
Ibunda dan Ayahanda, serta  
Seseorang spesial yang telah menjadi bagian dalam hidupku.*