

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL
ASETAT TERHADAP BERAT DAN
FOLIKULOGENESIS PADA OVARIUM
MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

KKA
KK
TKR 04/07

Wid
P



LULUK WIDARTI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL
ASETAT TERHADAP BERAT DAN
FOLIKULOGENESIS PADA OVARIUM
MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



**LULUK WIDARTI
090415428/M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL
ASETAT TERHADAP BERAT DAN
FOLIKULOGENESIS PADA OVARIUM
MENCIT (*Mus musculus*)**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

oleh:

**LULUK WIDARTI
090415428/M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

Tanggal 12 September 2006

iii

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 12 SEPTEMBER 2006

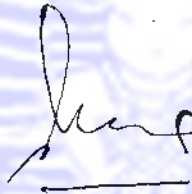
Oleh:

Pembimbing Ketua



Dr Bambang Poernomo S, Drh, MS
NIP. 130701131

Pembimbing



Hendy Hendarto, dr, SpOG (K)
NIP. 140207243

Mengetahui:

KPS S2 Ilmu Kesehatan Reproduksi



Prof Dr H Agus Abadi, dr, SpOG (K)
NIP. 130422849

Telah diuji pada
Tanggal 12 September 2006
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof Dr H Agus Abadi, dr, SpOG (K)
Anggota : 1. Dr Bambang Poernomo S, drh, MS
2. Hendy Hendarto, dr, SpOG (K)
3. Dr Paulus Liben, dr, MS
4. Muhammad Cholil Munif, dr



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah, hanya dengan rahmat Allah SWT yang Maha Pengasih yang telah memberikan berkahNya dan kemudian sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr Bambang Poernomo S, drh., MS selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran-saran yang berharga selama penelitian dan penulisan tesis.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr Hendy Hendarto, SpOG, (K) selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran-saran yang berguna selama penelitian dan penulisan tesis.

Terima kasih sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Prof Dr Agus Abadi, SpOG (K) sebagai ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi yang telah banyak memberikan semangat, perhatian, dan bimbingan semenjak awal kuliah sampai dengan penyelesaian tesis ini.

Terima kasih dan penghargaan saya sampaikan kepada Dr Paulus Liben, dr, MS dan dr Muhammad Cholil Munif selaku penguji yang telah memberikan masukan-masukan yang berharga demi penyempurnaan tesis ini.

Menyadari bahwa tesis ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan peran berbagai pihak maka ucapan terima kasih yang setulusnya saya ucapkan kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof Dr Fasichul Lisan, Apt dan mantan rektor Prof Med H Purihito, dr, SpBTKV atas kesempatan serta fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program magister.
2. Direktur Program Studi Pascasarjana Universitas Airlangga Prof DR H Muhammad Amin, dr, Spp(K) atas kesempatan yang diberikan untuk menjadi mahasiswa program magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Ajik Azmijah, SU, Drh. yang telah banyak membantu memberi masukan untuk pengamatan.
4. Ayah Almarhum dan Ibu tercinta atas dedikasi dan pengorbanan serta dorongan dan bimbingan bahkan nasihat-nasihat yang berharga dalam membentuk jalan kehidupan saya sampai pada kesempatan mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana.
5. Teman-teman S-2 Ilmu Kesehatan Reproduksi yang telah membantu selama penelitian dan penulisan tesis ini.
6. Suamiku, kakak, adik, saudara tercinta atas dukungan do'a, moril, dan materiil selama saya mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

7. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, penulis sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan, serta mohon kritik dan saran demi kesempurnaan penyusun tesis ini.

Surabaya, September 2006



RINGKASAN

PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL ASETAT TERHADAP BERAT DAN FOLIKULOGENESIS PADA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)

LULUK WIDARTI

Timbal (Pb) diketahui tidak mempunyai kegunaan bagi tubuh kita melainkan sangat beracun dan dapat terjadi penumpukan dalam tubuh. Sumber timbal diantaranya adalah air yang tercemar oleh limbah industri dan air yang melewati saluran air yang pipanya mengandung timbal. Pemaparan timbal dalam dua bentuk yaitu organik dan inorganik. Bentuk organik misalnya Tetra Methyl Lead yang dapat berasal dari limbah perindustrian, asap kendaraan, insektisida, asap rokok, tumbuh-tumbuhan yang tumbuh di tanah yang mengandung tinggi timbal. Sebagian besar timbal dalam bentuk ini dapat diserap melalui kulit, akan tetapi unsur timbal dan senyawa timbal inorganik diserap secara ditelan atau dihirup.

Penyerapan melalui saluran gastrointestinal sangat bervariasi, tergantung pada usia misalnya anak-anak mengabsorpsi rata-rata 50% dari yang mereka makan, akan tetapi pada usia dewasa hanya sekitar 10 – 20% dari yang mereka makan. Timbal sebagai racun memiliki ikatan di membran sel dan mitokondria, melakukan intervensi dengan mitokondria, oksidatif fosforasi. Timbal juga mempengaruhi sodium potasium dan kalsium ATP-A-SE pumps yang mempertahankan konsentrasi gradien ion-ion. Timbal juga berikatan dengan kation, terutama kalsium, besi dan seng. Hal ini mempengaruhi ikatan dengan pompa sodium – potasium – adenosin triphosphate ($\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{A} + \text{P}$). Manifestasi klinis keracunan timbal disebut plumbisme. Keracunan akut timbal ditandai oleh rasa haus dan lidah terasa logam, *nausea* dan muntah, kolik, diare, konstipasi.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian timbal asetat terhadap berat dan folikulogenesis pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini berupa penelitian eksperimen laboratorium dengan rancangan penelitian berupa *post test only control group design* sejumlah 65 mencit betina berusia sekitar 8 minggu (strain balb/c) dibagi menjadi 5 kelompok, berisi 13 mencit kelompok 1 dijadikan kelompok kontrol, kelompok 2 diberikan timbal asetat 25 mg/kg BB perhari, kelompok 3 diberikan 50 mg/kg BB perhari, kelompok 4 diberikan 75 mg/kg BB perhari, kelompok 5 diberikan 100 mg/kg BB perhari. Dalam pelaksanaan pemberian perlakuan per oral menggunakan sonde selama 30 hari. Pengamatan yang dilakukan adalah menimbang berat ovarium dan menghitung jumlah folikel.

Hasil perhitungan berat ovarium dengan uji anova menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (F hitung = 5,004, P = 0,002) dengan P < 0,05 dan hasil uji LSD untuk menunjukkan adanya pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan adalah K1 dan K4 (P =

0,019), K1 dan K5 ($P = 0,001$), K2 dan K4 ($P = 0,014$), K2 dan K5 ($P = 0,001$), K3 dan K4 ($P = 0,046$), K3 dan K5 ($P = 0,004$).

Hasil perhitungan folikel primer dan sekunder tidak ada perbedaan yang bermakna $P > 0,05$. Hasil perhitungan jumlah folikel tersier dengan uji anova menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (F hitung = 6,931, $P = 0,0001$) dengan $P < 0,05$.

Hasil uji LSD untuk menunjukkan adanya pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan adalah K1 dan K4 ($P = 0,028$), K1 dan K5 ($P = 0,0001$), K2 dan K4 ($P = 0,010$), K2 dan K5 ($P = 0,0001$), K3 dan K4 ($P = 0,003$), K3 dan K5 ($P = 0,0001$).

Hasil penghitungan jumlah folikel de Graaf dengan uji anova menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (F hitung = 33,545, $P = 0,0001$) dengan $P < 0,05$ dan hasil uji LSD untuk menunjukkan adanya pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan adalah K1 dan K3 ($P = 0,0001$), K1 dan K4 ($P = 0,0001$), K1 dan K5 ($P = 0,000$), K2 dan K3 ($P = 0,043$), K2 dan K4 ($P = 0,000$), K2 dan K5 ($P = 0,0001$), K3 dan K4 ($P = 0,004$), K3 dan K5 ($P = 0,0001$), K4 dan K5 ($P = 0,0001$).

Uji Korelasi membuktikan bahwa terdapat korelasi negatif yang bermakna antar dosis timbal asetat terhadap berat ovarium ($r = -0,463$), jumlah folikel tersier ($r = -0,474$) dan jumlah folikel de Graaf ($r = -0,824$), namun tidak ada pengaruh dosis timbal asetat terhadap jumlah folikel primer dan sekunder.

Penelitian ini telah membuktikan bahwa pemberian timbal asetat dapat mempengaruhi penurunan berat ovarium, jumlah folikel tersier dan de Graaf.

SUMMARY

THE EFFECT OF PLUMBUM ACETATE ON WEIGHT AND FOLLICULOGENESIS OF MICE'S (*Mus musculus*) OVARY

LULUK WIDARTI

Plumbum (Pb) Acetate or lead has no known biological function, and is highly toxic and accumulates in human being. Lead's sources are: leaded points, water channeled through old water distribution systems, painting, making the glaze for ceramics, and making stained glass levels of lead. Exposure to organic lead substances such as tetra ethyl and tetra methyl lead may occur in some industries, an antiknock (tetraethyl lead) additive to gasoline, some insecticides, and is found in cigarette smoke, foodstuff (particularly green leafy vegetables) growing on soil where lead is present.

Elemental lead and inorganic lead compounds are absorbed by ingestion or inhalation, but organic lead compounds e.g. tetraethyl lead may also be absorbed by skin contact. Gastrointestinal absorption of lead varies with the age of the individual; children absorb around 50% of what they ingest, but adults only absorb 10-20% of what they ingest.

Lead is toxic as it has an affinity for cell membranes and mitochondria, and interferes with mitochondria oxidative phosphorylation. It also affects sodium, potassium and calcium ATP-ase pumps, which maintain the cells concentration gradients of these ions. Lead also interacts with essential cations, particularly calcium, iron and zinc; it interferes with the sodium - potassium - adenosine triphosphate (Na^+/K^+ - ATP) pump; and it alters cellular and mitochondria membranes, thereby increasing cellular fragility.

The clinical manifestations of lead toxicity are called plumbism. Acute lead poisoning may have effects on the following systems: Alimentary system: thirst and metallic taste, nausea and vomiting, colic, diarrhea, constipation; Central nervous system: parasthesia, muscle pain, fatigue, convulsions, cardiovascular system: hypotension, circulatory collapse; Blood: severe anemia (acute haemolytic crisis); Renal system: Oliguria, a generalized dysfunction proximal tubular. Negative effect on the reproductive system, causing low sperm count and abnormal sperm morphology on men and infertility, menstrual irregularity, spontaneous abortion, decreased libido in women.

The purpose of this study is to know how the effect of plumbum acetate (lead) administration on weight and folliculogenesis of mice's (*Mus musculus*) ovary.

The design is Post Test Only Control Group Design was a laboratory experimental study using Post Test Only Control Group Design. A number of 65 female 8 weeks old BALB/C strain mice (*Mus musculus*) were divided into five groups, each comprising 13 mice. Group 1 served as control group, group 2 was given plumbum acetate 25 mg/BW/day, group 3 was given 50 mg/BW/day, group

4 was given 75 mg/BW/day, group 5 was given 100 mg/BW/day. Treatment is given orally using sonde for 30 days.

Result of ovary weight with anova test show there is significant difference between control group and treatment group (F count = 5.004; P = 0.002) P < 0.005). LSD result are K1 and K4 (P = 0.019), K1 and K5 (P = 0.001), K2 and K4 (P = 0.014), K2 and K5 (P = 0.001), K3 and K4 (P = 0.046), K3 and K5 (P = 0.004).

Result of primary and secondary follicles there is no significant difference P>0.05. Result of tertiary follicle with ANOVA test show there is significant difference between control group and treatment group (F count = 6.931, P = 0.000) P < 0.05. LSD result are K1 and K4 (P = 0.028), K1 and K5 (P = 0.001), K2 and K4 (P = 0.010), K2 and K5 (P = 0.000), K3 and K4 (P = 0.003), K3 and K5 (P = 0.000).

Result of Graaffian follicle with ANOVA test show there is significant between control group and treatment group (F count = 33.545; P = 0.000) with P < 0.05. LSD result are K1 and K3 (P = 0.000), K1 and K4 (P = 0.000), K1 and K5 (P = 0.000), K2 and K3 (P = 0.000), K2 and K4 (P = 0.000), K2 and K5 (P = 0.000), K3 and K4 (P = 0.004), K3 and K5 (P = 0.000), K4 and K5 (P = 0.000).

Correlation test prove that there is significant negative correlation between doze plumbum and ovary weight ($r = -0.463$), count of tertiary follicle ($r = -0.474$) and count of Graaffian follicle ($r = -0.824$). But there is no effect of plumbum doze with the count of primary and secondary follicle.

This study prove that exposure plumbum acetate can effect decreasing of ovary weight , count of tertiary and Graaffian follicles.

ABSTRACT**THE EFFECT OF PLUMBUM ACETATE ON WEIGHT AND FOLLICULOGENESIS OF MICE'S (*Mus musculus*) OVARY****Luluk Widarti**

Plumbum Acetate or lead is a heavy metal classified B3 (danger and poison) that used and found in daily. Accumulated plumbum may effect to organs. This study is to determine the effect of plumbum administration on weight and folliculogenesis of mice's ovary. This is a laboratory experimental study with *Post Test Only Control Group* Design. 65 mice (*mus musculus*) strain BALB/C is divided into five groups. First group as a control, and others are given plumbum: 25mg/kgBW, 50mg/kgBW, 75mg/kgBW, and 100mg/kgBW per day for one month.

Result is significantly between control and treatment groups for ovary weight with ANOVA test ($p=0.002$). LSD result are K1 and K4 ($p=0.019$), K1 and K5 ($p=0.001$), K2 and K4 ($p=0.0014$), K2 and K5 ($p=0.001$), K3 and K4 ($p=0.046$), K3 and K5 ($p=0.004$). result of primary and secondary follicle, there are no significant difference $p>0.005$.

Result of tertiary follicle with ANOVA test there is significant difference between control group and treatment groups ($p=0.000$). LSD result are K1 and K4 ($p=0.028$), K1 and K5 ($p=0.001$), K2 and K4 ($p=0.010$), K2 and K5 ($p=0.000$), K3 and K4 ($p=0.003$), K3 and K5 ($p=0.000$). Result of Graaffian follicle with ANOVA test, there is significant difference between control and treatment groups ($p=0.000$). LSD result are K1 and K3 ($p=0.000$), K1 and K4 ($p=0.000$), K1 and K5 ($p=0.000$), K2 and K3 ($p=0.043$), K2 and K4 ($p=0.000$), K2 and K5 ($p=0.000$), K3 and K4 ($p=0.004$), K3 and K5 ($p=0.000$), K4 and K5 ($p=0.000$). In conclusion plumbum administration can effect on weight and the count of tertiary and Graaffian follicles of mice's ovary.

Key words: plumbum acetate, poison, ovary, follicle.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima kasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan Tentang Timbal	7
2.1.1 Sumber timbal	7
2.1.2 Penyebaran timbal di lingkungan.....	9
2.1.3 Distribusi timbal di dalam tubuh.....	14
2.1.4 Toksikologi timbal bagi tubuh	15
2.2 Tinjauan Tentang Mencit.....	17
2.2.1 Biologi mencit.....	17
2.2.2 Organ reproduksi mencit	19
2.2.3 Siklus estrus mencit.....	19
2.3 Histologi Ovarium.....	21
2.4 Folikulogenesis	22
2.5 Kandungan Cairan Folikel	25
2.6 Hormon Ovarium	28
2.7 Hormon Gonadotrophin.....	29
2.8 Anatomi dan Fisiologi Ovarium.....	30
2.8.1 Ovarium dan oogenesis	30
2.8.2 Folikel primordial.....	30
2.8.3 Folikel sekunder	31
2.8.4 Folikel tersier	31
2.8.5 Proses pematangan folikel	32
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	
DAN HIPOTESIS PENELITIAN	33
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	33
3.2 Hipotesis	36

BAB 4	MATERI DAN METODE PENELITIAN	37
4.1	Rancangan Penelitian	37
4.2	Populasi Sampel dan Besar Sampel	38
4.3	Variabel Penelitian	38
4.3.1	Klasifikasi variabel.....	38
4.3.2	Definisi operasional variabel	39
4.3.3	Jenis mencit.....	40
4.4	Bahan dan Alat Penelitian.....	41
4.4.1	Bahan penelitian.....	41
4.4.2	Alat penelitian	42
4.5	Tempat dan Waktu Penelitian	42
4.6	Prosedur Pengambilan Data.....	42
4.6.1	Pembuatan larutan timbal asetat.....	42
4.6.2	Prosedur penelitian.....	43
4.6.3	Pengambilan ovarium	47
4.6.4	Pengamatan.....	49
4.6.5	Pembuatan preparat histologi.....	49
4.7	Analisa Data.....	49
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	50
5.1	Data Penelitian	50
5.2	Analisis dan Hasil Penelitian	53
5.2.1	Hasil analisis deskriptif	53
5.2.2	Hasil uji normalitas	56
5.2.3	Hasil uji homogenitas	57
5.2.4	Hasil uji anova.....	57
5.2.5	Hasil uji manova.....	58
5.2.6	Analisis komparasi ganda LSD berat ovarium <i>mus musculus</i>	58
5.2.7	Analisis komparasi ganda LSD folikel primer <i>mus musculus</i>	59
5.2.8	Analisis komparasi ganda LSD folikel de graaf <i>mus musculus</i>	60
5.2.9	Pengaruh dosis timbal asetat terhadap berat ovarium, jumlah folikel primer, jumlah folikel sekunder, jumlah folikel tersier dan de graaf	60
BAB 6	PEMBAHASAN	64
BAB 7	PENUTUP	73
7.1	Kesimpulan	73
7.2	Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Data Biologi Mencit	18
Tabel 2.2 Konsentrasi Hormon Dalam Cairan Folikel Fase Proestrus	26
Tabel 5.1 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier, Folikel de Graaf	50
Tabel 5.2 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier, Folikel de Graaf	51
Tabel 5.3 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier, Folikel de Graaf	51
Tabel 5.4 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier, Folikel de Graaf	52
Tabel 5.5 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier, Folikel de Graaf	52
Tabel 5.6 Statistik Deskriptif Variabel Tergantung Menurut Kelompok	53
Tabel 5.7 Hasil Uji Normalitas Distribusi Data	56
Tabel 5.8 Uji Homogen Berat Badan <i>Mus musculus</i>	57
Tabel 5.9 Tes Multivariat Variabel Tergantung	57
Tabel 5.10 Tes Univariat Variabel Tergantung	58
Tabel 5.11 Tingkat Signifikan LSD Berat Ovarium <i>Mus musculus</i>	59
Tabel 5.12 Tingkat Signifikan LSD Folikel Tersier	59
Tabel 5.13 Tingkat Signifikan LSD Folikel De Graaf	60
Tabel 5.14 Analisis Regresi Berat Ovarium	61
Tabel 5.15 Analisis Regresi Folikel Primer	61
Tabel 5.16 Analisis Regresi Folikel sekunder	62
Tabel 5.17 Analisis Regresi Folikel tersier	62
Tabel 5.18 Analisis Regresi Folikel de Graaf	63

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar	2.1	Hapusan Vagina <i>Mus musculus</i> di bawah mikroskop 21
Gambar	2.2	Perubahan-perubahan morfologik yang terjadi pada folikel ovarium selama pertumbuhan dan perkembangannya..... 23
Gambar	2.3	Diagram Bangunan Khas Folikel de Graaf 24
Gambar	3.1	Bagan Kerangka Konseptual..... 33
Gambar	4.1	Rancangan Penelitian..... 37
Gambar	4.2	Mencit dalam kandang..... 43
Gambar	4.3	Mencit dalam timbangan..... 44
Gambar	4.4	Botol-botol perlakuan dan sonde..... 44
Gambar	4.5	Cara memberi sonde pada mencit..... 45
Gambar	4.6	Bagan kerangka operasional penelitian pengaruh timbal asetat terhadap berat dan jumlah folikel pada mencit..... 46
Gambar	4.7	Pembiusan mencit..... 47
Gambar	4.8	Peralatan bedah mencit 48
Gambar	4.9	Ovarium dalam cawan petri 48
Gambar	6.1	Pompa sodium potasium 67

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Ovarium 78
Lampiran 2	Data Kasar Hasil Penelitian 81
Lampiran 3	Hasil Uji Penelitian..... 84
Lampiran 4	Gambaran Histopatologi Mencit 102



DAFTAR SINGKATAN

ADP	=	Adenosin Diphosphat
ALAD	=	Amnolevulinik Acid Dehidrase
ASI	=	Air Susu Ibu
ATP	=	Adenosin Triphosphat
B3	=	Bahan Berbahaya dan Beracun
ISCH	=	Interstitial Cell Stimulating Hormone
FSH	=	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	=	Gonadotropin Relaxing Hormon
HE	=	Hematoxilin Eosin
LH	=	Luteinizing Hormone
PDAM	=	Perusahaan Daerah Air Minum
Pb	=	Plumbum / Timbal
PVC	=	Polly Venyl Clorida
USA	=	United State of America
WHO	=	World Health Organization
Zn	=	Zinc

BAB 1

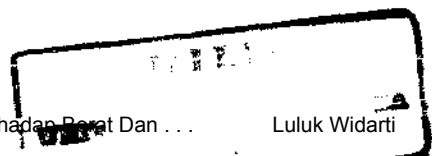
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembangunan bidang industri selalu meningkat, baik dalam jumlah maupun jenis dari tahun ke tahun. Pengolahan sumber daya alam secara besar-besaran memerlukan pabrik-pabrik berskala besar, antara lain; pabrik bahan baku untuk pembuatan sandang, pangan, rumah, kosmetik, pestisida, logam, bahan kimia dan masih banyak pabrik lainnya. Pabrik-pabrik tersebut menghasilkan limbah yang akan menimbulkan perubahan pada lingkungan, baik tanah, air maupun udara.

Menurut Hutagalung (1991) bahwa berbagai industri banyak memanfaatkan senyawa atau logam berat sehingga limbah industri banyak mengandung logam berat. Salah satu diantara limbah logam berat yang lain merupakan pencemar lingkungan adalah timbal (plumbum/lead/Pb). Hasil limbah industri yang terbuang ke sungai atau air mengalir, merupakan sumber pencemaran yang dapat menimbulkan dampak pencemaran, padahal berdasarkan catatan statistik tahun 2005 sampai dengan bulan Juli 2005 penduduk Surabaya mencapai 2.701.312 jiwa dan dari 51% terdapat wanita yang mengkonsumsi air PDAM yang berasal dari air yang sudah tercemar oleh limbah.

Limbah bahan berbahaya dan beracun (B₃) merupakan bahan yang sangat beracun bagi manusia dan makhluk hidup lainnya. Salah satu bentuk B₃ adalah timah hitam atau timbal (Plumbum = Pb) adalah salah satu logam berat termasuk



dalam klasifikasi B₃ yang memerlukan perhatian khusus karena dampak yang ditimbulkan terhadap kesehatan manusia (Sudarmaji, 1999).

Pencemaran air berupa limbah cair merupakan bentuk pencemaran yang paling merugikan masyarakat. Sungai Wonokromo di Surabaya bisa dijadikan contoh sungai yang telah terkontaminasi limbah. Pencemaran sungai Wonokromo di Surabaya karena limbah industri berdampak pada bahan baku air PDAM. Data pengamatan, menunjukkan bahwa kualitas air sungai Wonokromo termasuk dalam kategori C, itu berarti terjadi penurunan kualitas air yang seharusnya air sungai Wonokromo termasuk dalam kategori kualitas B. Sungai Surabaya yang digunakan sebagai bahan baku air minum juga dimanfaatkan sebagai buangan air limbah industri dan domestik, limbah yang dibuang ke sungai Surabaya sebesar 33.477 kg/hari, 86% berasal dari sektor industri (28.752 kg/hari) sisanya 8% berasal dari buangan domestik (2.597 kg/hari) dan 6% dari anak sungai (2.128 kg/hari). Salah satu limbah adalah timbal, konsentrasi timbal pada air minum umumnya kurang dari 10 µg/liter. Namun di beberapa tempat yang kandungan kalsium dan magnesiumnya rendah serta menggunakan tangki air dan jaringan pipa yang mengandung timbal, konsentrasinya dapat mencapai 2.000-3.000 µg/liter. Konsentrasi timbal lingkungan yang tinggi dapat dideteksi dari kandungan timbal yang tinggi di dalam darah (Rajak, 2006).

Masuknya timbal ke dalam tubuh biasanya melalui oral atau mulut seperti makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh timbal, melalui inhalasi atau pernafasan seperti asap pabrik buangan limbah, dan melalui kontak dengan kulit (Darmono, 1995; Anonymous, 1996). Logam berat timbal dalam segala bentuk bersifat racun dan membahayakan kesehatan tubuh, sebab keracunan timbal

bersifat kumulatif dan menyebabkan toksisitas pada organ tubuh, seperti hati, ginjal, otak, kelenjar endokrin, organ reproduksi, tulang dan rongga mulut (Palar, 1994; Darmono, 1995; Robbins, 1999).

Khusus untuk organ reproduksi ini dapat menyebabkan kondisi infertilitas. Berdasarkan penelitian epidemiologi di lapangan, angka infertilitas pasangan suami istri diperkirakan 10% - 15%. Infertilitas dalam perkawinan pada waktu lama akan menjadi masalah, karena ada keyakinan keadaan ini akan mengancam keutuhan rumah tangga. Penelitian mengenai hal ini menemukan bahwa (1) pasangan yang tidak memiliki anak kemungkinan akan mengalami perceraian, (2) pihak perempuan selalu dicap sebagai orang yang tidak berguna, (3) pandangan infertilitas menghabiskan banyak waktu dan biaya untuk pengobatan mereka (Hull dan Tukiran, 1996). Padahal, masalah kemandulan ini tidak hanya menyangkut kesehatan fisik semata-mata, tetapi juga berdampak psikologis dan sosial bagi pasangan yang mengalaminya (Sundari, 1999). Dampak psikologi ini paling banyak dialami kaum perempuan, karena pergaulan dengan sesama kaum ibu yang rata-rata mungkin sudah memiliki anak. Bahkan di beberapa daerah dan budaya, kemandulan sering merupakan pemicu terjadinya ketidakharmonisan rumah tangga yang berakibat pada perceraian.

Adapun penyebab infertilitas dan perkiraan angka kejadiannya adalah sebagai berikut:

1. Faktor suami 40% meliputi: penurunan produksi spermatozoa, obstruksi saluran, kegagalan inseminasi ke vagina dan semen abnormal.

2. Faktor istri meliputi: faktor ovulasi (20%), faktor tuba dan pelvik (20%), faktor servik dan uterus (10%), faktor vagina (<5%), faktor imunologik (<5%) faktor nutrisi dan metabolik (5%) (Prabowo, 1990)

Salah satu gangguan ovulasi terjadi apabila terdapat gangguan lokal pada ovarium. Interaksi beberapa hormon di dalam ovarium sangat penting untuk pertumbuhan folikel dominan. Menurut pernyataan Mc. Murry *et al.* (1995) bahwa kerusakan akibat pemberian timbal 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 ada sekresi estrogen dalam ovarium dan disertai tidak terjadi ovulasi.

Berdasarkan penelitian sebelumnya dari Sari Lutfia bahwa pemberian timbale asetat dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dapat mempengaruhi histologi hepar mencit yaitu mempengaruhi sel hepatosit, peneliti akan membuktikan pada organ lain yaitu ovarium terutama berat ovarium dan folikulogenesis ovarium. Atas dasar berbagai kenyataan di atas maka akan diteliti tentang pengaruh timbal terhadap pertumbuhan folikel mencit betina (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian terapan yang dikerjakan secara eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan coba mencit sebagai model karena perawatannya mudah, biaya sedikit, mencit sering dipakai penelitian tentang organ reproduksi, organ-organ mencit bisa mewakili orga pada manusia dan mencit cocok untuk penelitian toksisitas akut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian timbal asetat secara oral menurunkan berat ovarium mencit?
2. Apakah pemberian timbal asetat secara oral menurunkan jumlah folikel mencit?
3. Apakah makin besar dosis timbal asetat makin menurun berat ovarium dan makin sedikit jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal asetat secara oral terhadap pertumbuhan folikel ovarium mencit.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian dosis timbal asetat terhadap berat ovarium mencit.
2. Membuktikan pengaruh pemberian dosis timbal asetat terhadap jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit.
3. Menentukan dosis timbal asetat (25 mg/kg berat badan, 50 mg/kg berat badan, 75 mg/kg berat badan atau 100 mg/kg berat badan) yang menurunkan berat ovarium dan mengurangi jumlah folikel ovarium mencit.

4. Membuktikan adanya hubungan antara peningkatan pemberian dosis timbal asetat dengan penurunan berat ovarium dan jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat mengungkap bentuk gangguan reproduksi mencit betina secara komprehensif akibat pemaparan timbal.
2. Dari hasil penelitian ini akan didapat informasi ilmiah bahwa timbal mempunyai efek terhadap gangguan reproduksi mencit betina.
3. Menentukan dosis minimal timbal asetat terhadap gangguan reproduksi mencit betina.
4. Memberikan informasi kepada masyarakat dan pengusaha industri agar lebih bijaksana dalam menangani limbah timbal, karena efek toksisitas terhadap organ reproduksi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Timbal

Timbal merupakan logam lunak berwarna abu-abu kebiruan yang mempunyai nomor atom 82, berat atom 207,21, jari-jari atom 1,75 Amstrong dan berat jenis 11,3437. Timbal dapat meleleh pada suhu $327,502^{\circ}\text{C}$. Sedangkan titik didih pada tekanan atmosfer sebesar 1620°C (Achmadi, 1990).

Timbal organik dapat berupa garam nitrat [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$], klorat, karbonat (2PbCO_3). Timbal dalam bentuk komponen organik yang stabil seperti tetraethyl-timbal [$(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$] dan tetrametyl-timbal [$(\text{CH}_3)_4\text{Pb}$] dipakai secara luas sebagai *additive* bahan bakar kendaraan bermotor, karena keduanya merupakan cairan. komponen yang stabil terbentuk apabila timbal terikat langsung pada atom karbon (Palar, 1994).

Timbal asetat merupakan senyawa timbal yang mudah larut dalam air. Timbal asetat sering dipakai sebagai pelapis logam, pengering cat, dan tinta. Selain itu juga dipakai untuk antifouling cat dan insektisida, sedangkan bentuk tetrametil-timbal ditambahkan pada bahan bakar untuk memperbaiki efisiensi mesin dan mengurangi konsumsi bahan bakar pada mobil (Clayton *et al*, 1994)

2.1.1 Sumber Timbal

Timbal yang ada di alam dapat diperoleh dari berbagai sumber yaitu timbal yang terdapat secara alami, ditemukan pada:

a) Batu

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

b) Tanah

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

c) Air

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

d) Udara

Dalam keadaan alamiah menurut studi Patterson, kadar timbal di udara sebesar 0,0006 µg/m³. Sedangkan penelitian di daerah tanpa penghuni di pegunungan California (USA), menunjukkan kadar timbal sebesar 0,008 µg/m³.

e) Tanaman

Timbal secara alami terdapat pada semua tanaman, konsentrasi normal pada buah dan gandum diperkirakan sekitar 0,1-1,0 mg/kg berat kering. Menurut Warran dan Delavault, kadar timbal pada dedaunan adalah 2,5 mg/kg berat daun kering.

Pengaruh sumber timbal alami terhadap konsentrasi timbal di lingkungan sangat kecil, oleh karena itu dampaknya bagi manusia dari sumber alami dapat diabaikan (Darmono, 1995).

Timbal yang terdapat di lingkungan merupakan hasil dari kegiatan berikut :

a) Tambang

Timbal dihasilkan dari tambang, terdapat pada berbagai mineral seperti galena (PbS), cerrusite ($PbCO_3$), dan anglesite ($PbSO_4$). Galena merupakan sumber utama timbal, terdapat sebagai endapan yang bergabung dengan mineral lain, terutama mengandung zinc (Zn).

b) Peleburan dan pemurnian

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

2.1.2 Penyebaran Timbal di Lingkungan

Timbal lebih tersebar luas dari pada kebanyakan logam toksik yang lain. Kadar timbal dalam lingkungan semakin meningkat karena proses penambangan, peleburan, pemurnian, dan berbagai penggunaan dalam industri.

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

Derajat pencemaran timbal berbeda pada setiap kota, tergantung pada kepadatan lalu lintas dan sebagian besar timbal mengkontaminasi daerah dekat jalan raya. Hewan dan tumbuhan yang hidup disekitar tempat pencemaran akan mengandung kadar timbal lebih tinggi sebagai hasil paparan terhadap sumber pencemaran.

Pada tahun 1990 diperkirakan ± 300.000 ton dari pembakaran timbal additif pada bahan bakar kendaraan bermotor, yang masuk ke dalam lingkungan $\pm 70\%$ setelah pembakaran, dan sisanya terperangkap dalam knalpot kendaraan.

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

Penggunaan utama timbal dalam industri, yaitu sebagai tambahan bahan bakar dan pigmen cat walaupun sudah mulai dikurangi penggunaannya, tetapi sebagai bahan produksi kabel dan aki mobil masih tetap dipakai sampai saat ini. Air minum dapat tercemar oleh timbal karena penggunaan pipa berlapis timbal dan pipa PVC. Sumber utama asupan timbal adalah makanan yang bisa menyumbang 100-300 $\mu\text{g/hari}$. Bayi dan anak kecil mungkin terpapar pada tingkat yang lebih tinggi dari pada orang dewasa, karena kebiasaannya menjilat, mengunyah, atau memakan benda di sekitarnya (Lu, 1995).

Jenis makanan yang mempunyai kandungan timbal cukup tinggi antara lain makanan kemasan kaleng berlapis timbal atau keramik berlapis timbal. Susu yang di proses memiliki kandungan timbal lebih tinggi dibandingkan ASI maupun susu segar. Konsentrasinya bisa mencapai 5-12 $\mu\text{g/l}$, sehingga jika informasi ini benar, maka susu merupakan sumber timbal bagi bayi. Kontaminasi air minum, makanan, dan minuman yang dihasilkan dari pemakaian pipa timbal, pipa PVC, keramik mengkilap dan kaleng yang dilapisi timbal di bawah kondisi tertentu dapat membahayakan kesehatan manusia (WHO, 1991).

Timbal juga dapat ditemukan pada peluru, senapan berburu dan dalam pestisida, khususnya timbal arsenat. Pada pekerja yang berhubungan dengan timbal selama penimbangan, peleburan, dan bermacam-macam proses pabrik yang menggunakan timbal, ternyata tertinggi melalui inhalasi. Konsentrasi timbal di udara pada lingkungan kerja peleburan dan pabrik aki melebihi 1000 $\mu\text{g/m}^3$.

Pencemaran timbal yang ditimbulkan manusia mempengaruhi kandungan timbal terhadap lingkungan. Konsentrasi timbal di udara, pada daerah perkotaan kemungkinan mencapai 5-50 kali dari daerah-daerah pedesaan. Semakin jauh dari daerah perkotaan, maka semakin rendah konsentrasi timbal di udara.

Pengangkutan dan penyebaran timbal baik dari sebaran yang diam atau bergerak ke media lingkungan terutama melalui atmosfer, dimana pelepasan yang besar terjadi ke dalam air dan tanah. Proses mekanisme perpindahan timbal dari udara ke biota dapat secara langsung maupun tak langsung. Pada tanaman perpindahan secara langsung lewat permukaan atas, sedangkan perpindahan tak langsung melalui tanah (WHO, 1991).

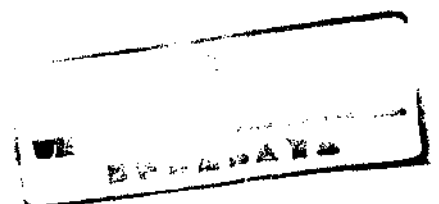
Timbal berpindah dengan cepat dari air ke dalam tanah, air dapat menembus tanah dan lumpur, tetapi materi organik memiliki kemampuan besar dalam mengikat timbal, sehingga konsentrasi timbal di dalam air biasa dan air minum pada umumnya rendah.

Minyak pelumas yang terkontaminasi timbal alkil lebih dari 50% merupakan hasil dari pembakaran dan kotoran pada selubung oli mesin yang mengandung 1% timbal, dibuang dan merupakan sarana penyebaran timbal. Bahkan bahan timbal yang didaur ulang pun masih juga akan merupakan limbah toksik (WHO, 1991).

Timbal masuk kedalam tubuh manusia melalui bermacam-macam cara yaitu:

1. Melalui pernapasan

Udara ambient di pinggiran kota di negara barat dapat mencapai kadar timbal sebesar $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dan di dalam kota biasa mencapai kadar $1-10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Dalam keadaan sangat ramai dengan kendaraan bermotor kadar di udara ambient bisa mencapai $14-25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Mukono, 2002) dan sebagian besar yang terhirup melalui pernapasan masuk kedalam pembuluh darah paru. Tingkat penyerapan pembuluh dipengaruhi oleh ukuran partikel dan volume udara yang dihirup. Timbal yang berbentuk uap, gas dan partikel timbal yang berukuran $0,001-10 \mu\text{m}$ akan diserap melalui saluran nafas (Lu, 1995). Partikel berukuran $0,1-1,0 \mu\text{m}$ akan mengendap terutama di alveoli atau daerah yang lebih dalam dari sistem tracheo bronchial, sedangkan partikel yang lebih besar mengendap di nasopharynx. Lebih dari 90% timbal yang diserap akan



berikatan dengan darah dari paru, kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh (Palar, 1994;Siswanto, 1994).

2. Melalui makanan

Jenis makanan yang dikonsumsi manusia juga mengandung timbal secara alami. Pada ikan dan binatang laut, mengandung timbal sebesar 0,2-2,5 mg/kg, pada daging atau telur mengandung timbal sebesar 0-0,37mg/kg, padi-padian mengandung timbal sebesar 0-1,39 mg/kg dan sayur-sayuran mengandung timbal 0-1,3 mg/kg, sehingga perlu diperhatikan menu makanan yang di konsumsi setiap hari.

Pada setiap $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$, timbal yang masuk kedalam tubuh manusia melalui mulut, akan menghasilkan timbal darah sebesar 6-10 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Hasil penelitian Isidora (1990), menunjukkan bahwa kadar timbal dalam darah penduduk di desa Losari Kecamatan Taman Sidoarjo telah melampaui nilai 80 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ darah, sebanyak 10 orang dari 41 responden atau sebesar kurang lebih 25% (mukono ,2002).

Timbal dikeluarkan dari tubuh manusia melalui air seni (76%), saluran pencernaan makanan (16%) dan sisanya melalui kulit, rambut, dan kuku (8%) (Filov, 1993; Lu, 1995; Lajis, 1996; Katzung, 2001).

3. Melalui kulit

Senyawa timbal organik selain diserap melalui saluran napas juga diserap oleh kulit, sebagai contoh *tetraethyl* timbal dan *tetramethyl* timbal. Hal ini disebabkan karena kedua senyawa tersebut larut minyak dan lemak (Palar, 1994), dalam bentuk kosmetik (astringent) untuk membersihkan wajah (Filov, 1993).

2.1.3 Distribusi Timbal di dalam Tubuh

Bentuk kimia senyawa timbal mempengaruhi metabolisme timbal didalam tubuh. Senyawa timbal organik lebih mudah diserap oleh tubuh melalui lapisan kulit atau mukosa, dibandingkan dengan senyawa timbal anorganik. Senyawa timbal yang biasa diserap oleh tubuh, hanya sekitar 5-10% dari jumlah timbal yang masuk lewat makanan, dan sebesar 30% yang melalui udara, ternyata 15% dari timbal yang masuk mengendap dalam jaringan tubuh, sedangkan sisanya dibuang bersama feces dan urine. (Palar, 1994; Mukono, 2002) tetapi dari data otopsi, timbal cenderung terlokalisasi dan terakumulasi dalam tulang.

Keracunan timbal dikenal sejak dahulu, gejala akut dari keracunan ini antara lain : rasa lemah, lelah, gangguan tidur, sakit kepala, nyeri otot dan tulang, sembelit, nyeri perut dan kehilangan nafsu makan (Filov, 1993; Lu, 1995; Lajis, 1996; Katzung, 2001; Mukono, 2002), sedangkan terjadinya gejala akut dari keracunan timbal adalah sebagai berikut :

1. Pada saluran pencernaan terjadi kejang pada usus besar, mual, muntah, nafsu makan kurang, dan sembelit.
2. Pada saluran perkemihan, terjadinya peradangan pada ginjal, kadar asam urat dalam darah meningkat, air seni mengandung glukosa, kadar asam amino dalam air seni meningkat, kadar urea dalam darah meningkat.
3. Pada sistem saraf pusat, terjadi peradangan pada selaput otak, akumulasi cairan cerebrospinal ditandai gejala demam, sakit kepala, leher terasa kaku dan demam, tremor, halusinasi, menurunnya kecerdasan dan kebutaan akibat atrofi saraf penglihatan.
4. Pada system reproduksi dapat terjadi penurunan tingkat kesuburan.

5. Gejala lain akibat keracunan timbal adalah garis hitam pada gigi, kulit menjadi pucat, berat badan menurun, badan lemah, kelumpuhan pada otot pergelangan kaki dan tangan.

2.1.4 Toksikologi Timbal Bagi Tubuh

Timbal suatu elemen yang pada umumnya terdapat pada tanah, air, udara dan makanan (Stokinger, 1992). Timbal masuk ke dalam tubuh melalui dua cara utama yaitu saluran pencernaan dan saluran pernafasan (Calesnick, 1990). Selain itu timbal masuk ke dalam tubuh makhluk hidup juga dapat melalui kulit dan membran mukosa, khususnya komponen timbal organik misalnya tetraetil timbal (Agustin, 1999).

Timbal yang terabsorpsi saluran pernafasan sebesar 30 – 50% tertahan di paru-paru dan sangat mudah terabsorpsi, khususnya timbal dalam bentuk tetraetil timbal, timbal dioksida (PbO) (Agustin, 1999). Penyerapan melalui saluran pernafasan tergantung pada ukuran partikel dan volume udara yang terhirup (WHO, 1997). Polusi timbal yang terdapat di udara terutama gas kendaraan yang paling banyak mengkontaminasi berat udara, disamping itu partikel di udara berasal dari sumber lain seperti pabrik-pabrik 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 timbal yang dalam bentuk asetat trihidrat ($Pb(C_2H_3O_2)3H_2O$), sulfide (PbS), putih ($Pb(OH)_2$, $2PbCO_3$), merah (Pb_3O_4), nitrat, klorat dan klorida (Worker *et al*, 1957; Agustin 1999). Penyerapan melalui cara ini agak lambat jika dibandingkan melalui saluran pernafasan (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, 1996).

Timbal didistribusikan terutama di jaringan setelah terabsorpsi. Timbal tersebut sebanyak 95% dapat ditemukan di dalam tulang (Gilman, 1995). 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 saraf, 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.

Keracunan timbal dapat bersifat akut maupun kronis (Gilman, 1985) keracunan timbal secara kronis pada hewan disebabkan oleh terhirupnya timbal karbonat dengan debu bisa juga melalui makanan yang terkontaminasi seperti pellet (Grollman dan Grollman, 1990).

Pemberian timbal 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 menurun (Kempinas *et al.*, 1994). Penelitian yang lain dilakukan oleh Gernochova dan Komrad (1994) mengenai pengaruh timbal nitrat terhadap sel Leydig mencit. Timbal 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).

2.2 Tinjauan Tentang Mencit

2.2.1 Biologi Mencit

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, subfamily *Murinae*, family *Muridae*, order *Rodentia*. Mencit yang sudah dipelihara di laboratorium sebenarnya masih satu famili dengan mencit liar. Sedangkan mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Peningkatan temperatur tubuh tidak mempengaruhi tekanan darah, sedangkan frekuensi jantung, *cardiac output* berkaitan dengan ukuran tubuhnya. Hewan ini memiliki karakter yang

lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Traktus respiratorius terdiri dari tiga bagian yaitu:

1. anterior : nostril, cavum nasalis, nasopharynx
2. intermediate : larynx, trachea, hronchi
3. posterior : paru-paru kiri dan kanan, paru kiri terdiri dari satu lobus dan paru kanan terdiri dari empat lobus.

Tiga kelenjar saliva yakni submaksilaris (submandibularis), parotid dan sublingualis yang terdapat di bagian ventral daerah leher terdapat pada mencit. Lambung mencit seperti pada tikus, terbagi dalam glandular dan non glandular.

Di antara spesies-spesies hewan lainnya, mencitlah yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak.

Tabel 2.1 Data Biologi Mencit

Berat	
Jantan (gram)	: 20 – 40
Betina (gram)	: 18 – 35
Lama Hidup (tahun)	: 1 – 3
Temperatur tubuh ($^{\circ}\text{C}$)	: 36,5
Kebutuhan air	: ad libitum
Kebutuhan makanan (g/hari)	: 4 – 5
Pubertas (hari)	: 28 – 49
Lama kebuntingan (hari)	: 17 - 21
Mata membuka (hari)	: 12 – 13
Tekanan darah	
Systolik (mmHg)	: 133 – 160
Diastolik (mmHg)	: 102 – 110
Frekuensi respirasi (per menit)	: 163
Tidal volume (ml)	: 0,18 (0,09 – 0,38)

Sumber: Data biologi mencit (Fox, 1984)

2.2.2 Organ Reproduksi Mencit

Organ reproduksi adalah alat tubuh individu yang berfungsi untuk memperbanyak diri dalam usaha mempertahankan kelestarian jenisnya (Arief, 1993). Menurut Toelihere (1991) organ reproduksi hewan betina tidak hanya menghasilkan sel telur yang penting untuk individu baru, tetapi juga menyediakan lingkungan untuk individu tersebut dan memberi makan untuk tumbuh selama masa-masa permulaan hidupnya. Fungsi ini dijalankan oleh organ reproduksi primer dan sekunder.

Organ reproduksi primer yaitu ovarium, sedangkan alat reproduksi sekunder antara lain tuba fallopi, uterus, servik, vagina, dan vulva. Selain itu masih ada kelenjar susu yang dianggap sebagai alat kelamin pelengkap, karena sangat erat hubungannya dengan proses reproduksi dan paling penting untuk memberi makan individu baru.

Organ reproduksi sekunder tersebut merupakan saluran reproduksi betina yang berfungsi menerima sel telur yang diproduksi oleh ovarium, menampung semen yang dipancarkan oleh alat kelamin jantan, sebagai tempat pertemuan spermatozoa dan ovum, dan untuk tempat pertumbuhan makhluk baru sampai saat dilahirkan (Poernomo dkk, 2001)

2.2.3 Siklus Estrus Mencit

Mencit adalah binatang yang mempunyai siklus reproduksi poliestrus artinya dapat terjadi siklus estrus beberapa kali dalam satu bulan, satu siklus estrus berlangsung 4 – 5 hari. Siklus estrus ini akan berulang secara periodik dengan jarak waktu tertentu kecuali bila mencit tersebut bunting (Hafez, 1993). Pada mencit ovulasi tidak dipengaruhi oleh adanya kopulasi, tetapi ovulasi terjadi

secara berkala menurut interval tertentu biasanya terjadi 2 – 3 jam dari mulainya fase estrus. Gejala estrus timbul disebabkan oleh kadar estrogen yang tinggi dalam darah pada fase folikuler. Berdasarkan pemeriksaan hapusan vagina akan tampak perubahan dari siklus estrus mencit yang dapat dibagi dalam empat fase, yaitu:

1. Fase Proestrus

Fase ini ditandai dengan adanya perubahan tingkah laku serta alat kelamin luar. Perubahan tingkah laku secara umum dapat terlihat pada mencit betina yang mulai menerima pejantan walaupun belum melakukan kopulasi. Pada preparat terlihat adanya sel-sel epitel vagina yang berinti, bentuk seperti koma memanjang dan pada akhir periode ini inti sel-sel epitel terlihat tidak jelas dan ovulasi akan segera terjadi. Fase ini berlangsung selama 12 jam.

2. Fase Estrus

Pada fase ini terlihat penurunan aktifitas berlari, mencit lebih tenang, daun telinga menunjukkan reaksi seperti gemetar dan mau menerima pejantan. Perubahan pada alat kelamin luar, epitel vagina menebal, terdapat lapisan epitel diatas permukaan vagina. Fase ini berlangsung selama 12 jam.

3. Fase Metestrus

Ciri-ciri fase ini adalah mencit betina tidak mau menerima pejantan, terlihat lapisan epitel terlepas dari mukosa vagina. Pada preparat ulas vagina terdapat lendir kental, sel epitel mempunyai beberapa lekosit. Fase ini berlangsung 21 jam.

4. Fase Diestrus

Pada fase ini betina tidak mau menerima pejantan, sedangkan mukosa vagina kembali pada keadaan normal dengan lapisan epitel yang menipis. Pada

preparat ulas vagina terlihat banyak sel leukosit dan sel epitel dengan inti yang jelas. Fase ini berlangsung selama 57 jam (Poernomo dkk, 2001).

Estrus pada mencit pertama kali terjadi umumnya pada umur 35 hari, biasanya estrus mulai antara jam 4 sore dan jam 10 malam. Betina kawin dalam tiga jam pertama dari periode estrus. Periode kebuntingannya berlangsung selama 19 sampai 21 hari (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).



Gambar 2.1 Hapusan Vagina *Mus Musculus* Di Bawah Mikroskop (Hafez, 1990)

2.3 Histologi Ovarium

Ovarium terletak di dalam cavum abdominalis. Ovarium mendapat suplai darah dari arteria ovarium dan satu cabang arteria utero-ovarium serta diinervasi oleh saraf-saraf 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).

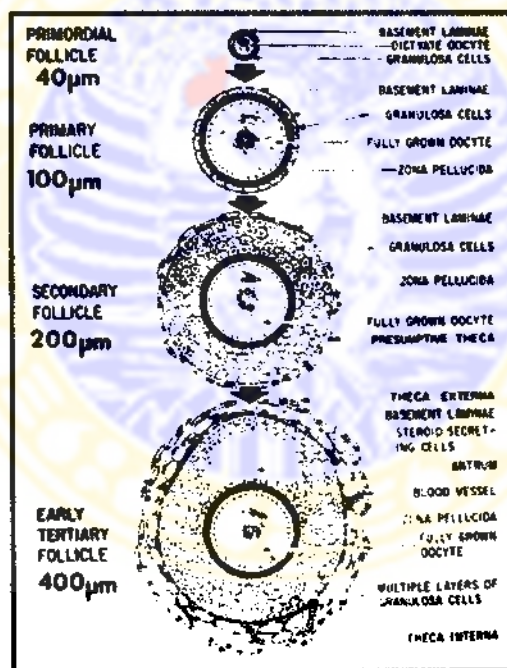
Ovarium diliputi oleh epitel kuboid (germinal) selapis dan di bawahnya terdapat tunika albugenia yang terdiri atas jaringan fibrosa padat. Menurut Priedkalns (1992), secara histologis ovarium dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu korteks dan medula. Korteks merupakan daerah tepi yang lebar dan dibalut 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 saraf dan pembuluh limfe serta jaringan ikat fibro elastis yang tidak teratur (Leeson *et al.*, 1993; Hardjopranjoto, 1995).

2.4 Folikulogenesis

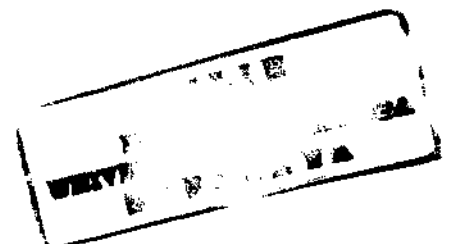
Menurut Hardjopranjoto (1995) folikogenesis adalah suatu perkembangan folikel yang terjadi pada ovarium berbagai hewan mamalia, yang terdiri dari perkembangan jumlah lapisan sel granulosa, folikel, sel tuba interna dan eksterna

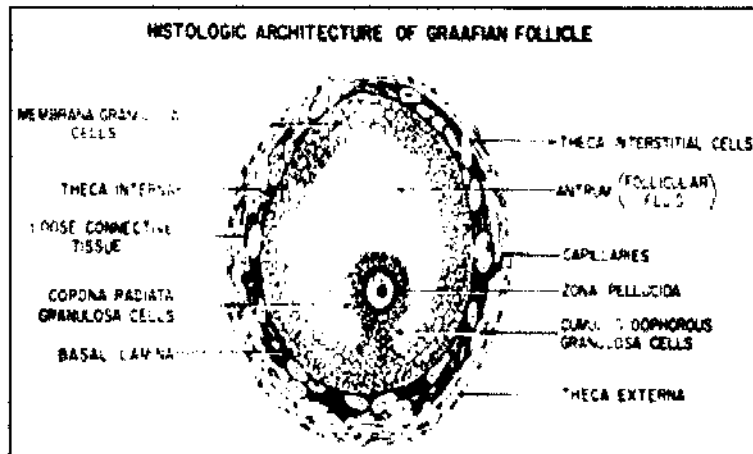
dan posisi telur disekeliling kumulus ooforusnya serta peningkatan volume cairan rongga folikel. Aktivitas ovarium yang terpenting terletak di bagian kortek, karena pada bagian ini terjadi perkembangan folikel. Perkembangan folikel menjadi masak tergantung adanya FSH dari kelenjar hipofisa anterior. Selama siklus birahi normal, sekresi FSH mendorong folikel menjadi tumbuh dan masak.

Folikel mencapai kematangannya tergantung dari berbagai hal yaitu bangsa, umur, keadaan sekeliling. Perkembangan folikel harus melalui beberapa tingkatan yaitu folikel primer, sekunder, tersier dan folikel de Graaf. Perkembangan folikel dapat dilihat pada Gambar 2.2 dan 2.3.



Gambar 2.2 Perubahan-perubahan morfologik yang terjadi pada folikel ovarium selama pertumbuhan dan perkembangannya (Erickson, Gregory, 1988)





Gambar 2.3 Diagram bangunan khas folikel de Graaf (Erickson, 1988)

Folikel primer terdiri dari satu bakal sel telur dan selapis folikuler kecil dan terletak dibawah tunika albugenia (Toelihere, 1988)

Folikel sekunder berkembang ke arah pusat stroma kortek sewaktu kelompok sel-sel folikuler yang memperbanyak diri membentuk suatu lapisan multiseluler sekeliling vitelus (Toelihere, 1981). Apabila di luar membran vitelina sudah terbentuk lagi membran yang lebih tebal, yang disebut zona pelusida, maka folikel ini telah sempurna untuk disebut folikel sekunder (Partodihardjo, 1992).

Perkembangan folikel sekunder yang ditandai dengan banyaknya sel-sel granulosa, sehingga folikel tampak lebih besar dan letaknya lebih jauh dari permukaan disebut folikel tersier. Pertumbuhan sel-sel granulosa yang terdapat pada permukaan folikel lebih cepat, sehingga dibagian dalam terjadi ruangan yang disebut antrum folikuli, terisi cairan folikel yang kaya akan protein dan estrogen (Ismudiono, 1996). Cairan ini mempengaruhi pembesaran folikel seakan-akan

mendesak sel-sel ke tepi dan merupakan suatu pemadatan (Salisbury and Van Demark, 1995). Perkembangan folikel primer sampai folikel tersier terjadi pada hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada hewan mengalami siklus birahi (Ismudiono, 1996).

Pertumbuhan folikel tersier menjadi folikel de Graaf oleh beberapa peneliti dikatakan hanya terjadi proses pemasakan saja, sebab hanya berbeda dalam besarnya membran granulosa membentuk suatu gundukan disekitar ovum yang disebut kumulus ooforus. Lapisan yang paling dalam disebut korona radiata, terdiri atas sel-sel folikel silindris tersusun secara radial pada seluruh permukaan zona pelusida. Sel-sel korona radiata membentuk prosesus melalui zona pelusida ke membran vitelindari ovum yang merupakan suplai material kuning telur kepada ovum (Frandsen, 1992). Sel granulosa dilapisi oleh teka folikuli, terdiri dari teka eksterna yang fibrous dan teka interna yang faskuler, selapis membran basah dan selapis tenunan pengikat. Estrogen diduga disekresikan langsung oleh sel-sel teka interna ke dalam folikel melalui suatu lapisan dasar (membrana propia) yang memisahkan teka interna dari membran granulosa (Toilehere, 1991).

2.5 Kandungan Cairan Folikel

Cairan folikel ovarium mengandung tiga macam hormon steroid utama yaitu estrogen, progesteron dan androgen serta hormon non steroid seperti inhibin dan relaksin (Hafez, 1993).

Hormon steroid selain diproduksi oleh ovarium juga terdapat pada testis plasenta dan kortek adrenal. Lebih lanjut Fortune dan Hansel (1995) memberikan

gambaran tentang konsentrasi hormon yang ada dalam cairan folikel fase proestrus (lihat Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Konsentrasi hormon dalam cairan folikel fase proestrus (Fortune dan Hansel,1985)

Diameter Tubulus (cm)	Hormon	Kons. Hormon (ng/ml)
± 1,54	Estradiol	± 1082,8
	Testosteron	± 149,6
	Progesteron	± 24,6
	FSH	± 0,24
	LH	± 1,48

Pada mamalia, sedikitnya telah ditemukan delapan estrogen yaitu estradiol 17 β , estron, estriol, 16 epiestrol, 16 hidroxyestron, equilin, equilenin dan hippulin (Toelihere, 1981). Estradiol 17 β mempunyai potensi paling besar diantara hormon estrogen lainnya (Ismudiono, 1996).

Fungsi fisiologis estrogen pada hewan betina adalah menstimulir pertumbuhan alat kelamin, menyebabkan birahi, menyebabkan pertumbuhan sifat-sifat kelamin sekunder. Pada aksi metabolik tubuh, estrogen menambah sintesis dan sekresi hormon pertumbuhan sehingga dapat menstimulir pertumbuhan sel-sel dalam tubuh, akibatnya peningkatan berat badan (Hardjopranto, 1995).

Menurut Frandson (1992) *growth hormone* mempunyai pengaruh penting, di dalam meningkatkan sintesis protein, hal ini disebabkan karena berperan dalam peningkatan transpor asam amino melintas membran sel serta meningkatkan pengikatan asam-asam amino hingga terbentuk protein. Estrogen juga merangsang

kortek adrenal untuk mensintesa dan melepaskan zat-zat yang bersifat androgen. Androgen ini menyebabkan terjadinya anabolisme protein dalam tubuh disertai dengan peningkatan retensi nitrogen (Partodihardjo, 1992). Penyuntikan estrogen, secara cepat akan dimetabolisme oleh tubuh dengan waktu paruh hanya beberapa hari (Roche *and* Quirke, 1992).

Estrogen ini sama dengan estrogen endogen, dalam darah sebagian besar terikat kuat dengan globulin pengikat hormon kelamin (*sex hormone binding globulin*), sebagian lagi berikatan tidak kuat dengan albumin dan sebagian kecil terdapat dalam keadaan bebas (Suberman, 1995). Estrogen tidak disimpan dalam tubuh tetapi disingkirkan melalui inaktivasi dan eliminasi ke dalam urin dan feses. Hati merupakan organ utama dalam memetabolisir estrogen, proses ini berlangsung pada membran lipofilik dari retikulum endoplasma sel hati (Roche *and* Quirke, 1992).

Progesteron memiliki potensi paling kuat, terdiri dari 21 atom karbon dan termasuk kelompok steroid. Progesteron merupakan substansi intermedia dari sintesis androgen ataupun estrogen dan disekresikan oleh sel-sel luteal dari korpus luteum. Regulasi sekresi hormon progesteron belum diketahui dengan baik, tetapi diduga terutama oleh pengaruh LH pada hewan domestik (Ismudiono, 1996)

Nama umum hormon jantan adalah androgen. Di dalam tubuh terdapat empat macam yaitu testosteron, androsteron, actiocholanolon dan dehydro-epi-androsteron. Keempat androgen tersebut, testosteron berpotensi sangat tinggi dibanding yang lain. Androgen berfungsi mengelola tanda-tanda sekunder misalnya bentuk badan, jengger, warna, bulu dan libido. Androgen mempunyai daya retensi nitrogen dalam tubuh, sehingga dapat meningkatkan penambahan

berat badan karena adanya peningkatan deposit protein (Turner *and* Bagnara, 1998).

Hipofisa anterior mensekresikan hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH. Hormon-hormon ini aksi utamanya bekerja pada gonad. Pada hewan betina, FSH berfungsi merangsang pertumbuhan folikel, sedangkan LH membantu terjadinya ovulasi dan pengawalan pertumbuhan tunas luteal untuk membentuk korpus luteum. Pada hewan jantan, FSH mengawali terjadinya spermatogenesis, sedangkan LH mengawali produksi hormon testosteron (Salisbury *and* Demark, 1985).

Inhibin diproduksi oleh sel sertoli pada hewan jantan dan pada betina oleh sel granulosa. Inhibin dapat menghambat pelepasan FSH dari hipofisa anterior tanpa mempengaruhi pelepasan LH. Mekanisme pengaturan pelepasannya belum diketahui (Ismudiono, 1996)

2.6 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, 1995).

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).

2.7 Hormon Gonadotropin

Kelenjar hipofisis anterior mensekresikan 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 inti maupun pertumbuhan dan proliferasi dari sel (Guyton, 1996).

FSH yang juga disebut *Follicitrophin* 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 *Luteotrophin* dan *Intersititial 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 intersititial 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 meningkatkan jumlah progesteron (Guyton, 1996).

2.8 Anatomi dan Fisiologi Ovarium

2.8.1 Ovarium dan oogenesis

Pada wanita dewasa berat sebuah ovarium adalah 7-14 gram, besarnya kurang lebih seibu jari tangan, berwarna abu-abu, dan pada permukaannya terdapat benjolan-benjolan kistik yang besarnya 3-8 mm. Pada umur sekitar 25 tahun ovarium mencapai panjang 2,5 – 5,0 cm, lebar 1,5 – 3,0 cm, tebal kira-kira 0,6 – 1,5 cm, dengan berat rata-rata sekitar 7,2 – 14,6 g. Tunika albugenia membungkus ovarium, dan di bawahnya terdapat lapisan korteks bersama dengan parenkim inti (folikel-folikel premerdial).

Pertumbuhan ovarium dalam masa pranatal sebagian besar dikendalikan oleh FSH janin. FSH ini dibentuk oleh adenohipofisis janin dalam jumlah yang sangat besar antara minggu ke 16 – 24. Jumlah folikel wanita pada waktu lahir terus berkurang sampai usia dewasa. Dari sejumlah yang terbentuk dalam siklus hanya satu yang mencapai ovulasi, yaitu yang dalam pertumbuhannya paling jauh berkembang, sedangkan yang lain lambat laun mengalami atresia.

2.8.2 Folikel Primordial

Folikel primordial mengandung oosit yang kecil, yang dikelilingi oleh lapisan-lapisan sel-sel granulosa yang tipis dan tersusun. Pada tahap ini belum ada sel-sel teka. Folikel-folikel kecil ini terletak dekat korteks ovarium (tunika albugenia), dan ini merupakan kira-kira 97% dari seluruh folikel yang ada pada wanita muda, diameternya berkisar sekitar 0,005 mm.

2.8.3 Folikel Sekunder

Tahap pertama terbentuknya folikel tidak tergantung pada pengaruh gonadotropin. Folikel sekunder atau folikel praantral untuk pertumbuhannya bergantung pada hormon seks.

Pada membran dasar yang mengelilingi lapisan sel-sel granulosa terbentuk satu lapisan sel-sel stroma yang terdiri dari sel-sel teka. Dengan masuknya pembuluh-pembuluh darah ke dalam sel-sel teka, maka pemeliharaan dari folikel terjamin.

Tahap pertama perkembangan folikel, sampai mencapai folikel de Graaf, berlangsung melalui berbagai tahap. Pertama-tama perkembangan tersebut tidak tergantung pada fase dari siklus haid, melainkan berkembang terus menerus, sampai atresia. Baru setelah tahap tersier dicapai, yaitu selama fase folikuler, pertumbuhan folikel yang berikutnya menjadi folikel matang secara sinkron berhubung erat dengan perubahan-perubahan di endometrium. Perubahan yang terjadi di endometrium ini bergantung pada pengaruh hormon.

2.8.4 Folikel tersier (folikel de Graaf)

Di bawah pengaruh gonadotropin terutama FSH, sel-sel granulosa yang terdapat di dalam folikel sekunder cepat sekali menjadi banyak. Ovum berpindah dari tengah ke pinggir antrum, sambil dikelilingi oleh kumulus ooforus, yang menjulang ke dalam zalir (ruang kosong di celah jaringan). Dalam tahap ini folikel mencapai diameter 0,5 cm dan yang dengan mata telanjang dapat dilihat, disebut folikel tersier atau folikel de Graaf. Dari folikel de Graaf ini hanya yang besar dan yang paling baik dalam pertumbuhannya yang berhasil menjadi matang dan siap berovulasi, yang pada saat itu diameternya mencapai 25 mm.

2.8.5 Proses Pematangan Folikel

Ovum-ovum yang akan mencapai tahap ovulasi dikelilingi oleh kumulus ooforus, memisahkan diri dari lapisan granulosa dan bebas mengembang dalam cairan. Masuknya pembuluh-pembuluh darah yang berasal dari teka ke dalam lapisan granulosa sesaat sebelum ovulasi merupakan prasyarat sebelum dapat berubah menjadi korpus luteum. Pada waktu itu folikel mengandung protein dan zat-zat lain dalam jumlah yang besar, seperti FSH, LH, prolaktin, estradiol, progesteron dan androgen, serta bermacam penghambat yang berasal dari sel-sel granulosa. Penghambatan ini mengatur kerja dari gonadotropin secara lokal. Di sini yang penting ialah penghambat pematangan oosit, yang merupakan suatu oliogopeptida. Penghambatan ini berperan menunda meiosis dalam tahap profase pada pembelahan pematangan pertama.

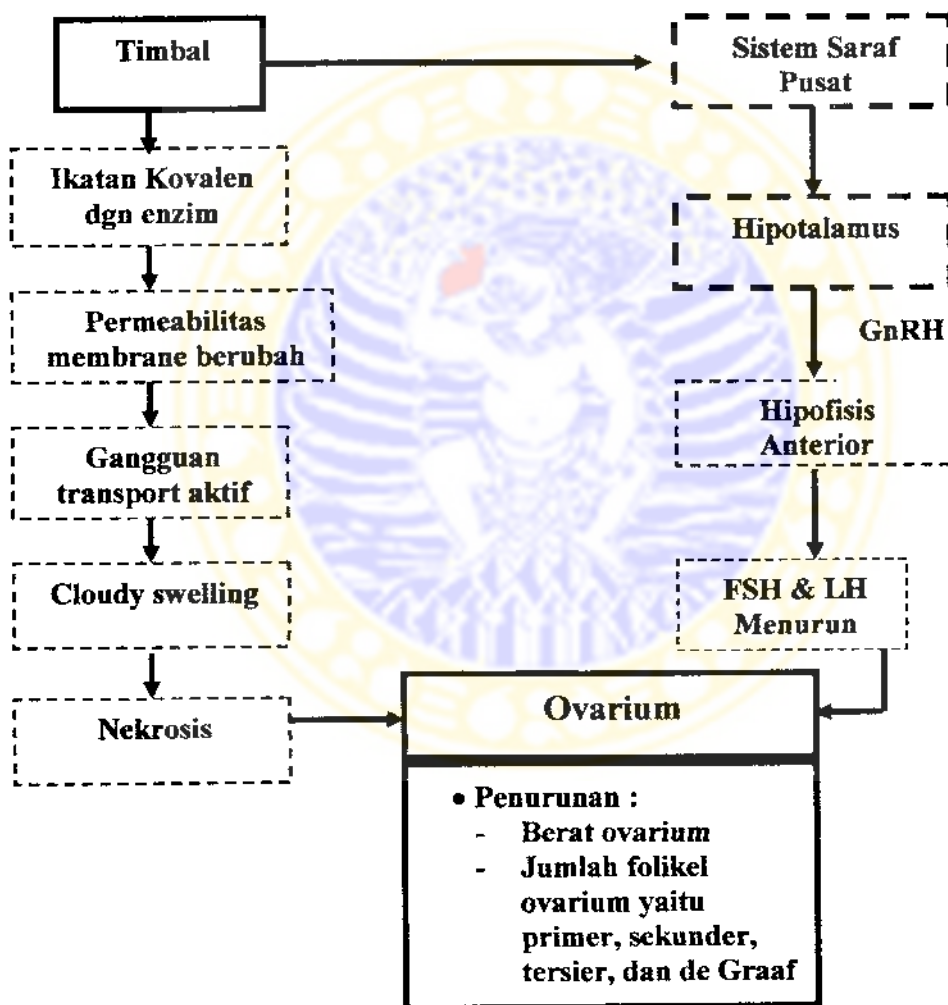
Dua hari sebelum ovulasi, di bawah pengaruh meningkatnya kadar LH praovulasi di dalam serum, folikel de Graaf terus membesar sehingga zalir di dalamnya dapat mencapai volume 6,5 ml. Pada saat inilah folikel-folikel yang siap untuk pecah menonjol di permukaan ovarium seperti kerucut. Proliferasi sel-sel granulosapun berakhir. Walaupun demikian, setelah ovulasi, folikel de Graaf yang lain masih dapat terus menerus berkembang dan bahkan kelak mencapai besar maksimum pada tahap luteal. Tetapi seluruhnya akan mengalami atresia, sehingga merupakan kelompok jaringan yang meleburkan diri dan diganti oleh jaringan ikat.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Kerangka konseptual untuk penelitian ini dapat digambarkan dalam bentuk skema sebagai berikut :



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

Timbal dalam segala bentuk bersifat racun yang berbahaya bagi kesehatan tubuh, sebab keracunan timbal bersifat kumulatif dan berpengaruh buruk terhadap sistem saraf, sistem ginjal, sistem reproduksi, sistem endokrin dan jantung yang masing-masing memberikan efek yang berbeda (Palar, 1994).

Karena timbal berpengaruh pada fungsi saraf pusat maka dampaknya akan melemahkan reproduksi, yaitu langsung mempengaruhi pusat saraf endokrin, atau dengan mempengaruhi sistem saraf simpatis dalam menstimulasi pelepasan hormon gonadotropin (Lataillade *et.al.*, 1993).

Kegiatan fisiologis kelenjar ovarium sangat tergantung kepada aktivitas kelenjar hipofisa anterior. Hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa 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, 1989).

Menurut Mattison dan Thomford (1989) yang dibenarkan oleh Wilson dan Leigh (1998) melaporkan bahwa pemberian garam timbal pada mencit betina akan menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi. Garam timbal tersebut akan menghambat pelepasan FSH dan LH sehingga akan menyebabkan atrofi pada ovarium mencit.

Kedua hormon yang disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior yaitu FSH dan LH merupakan molekul glikoprotein yang sangat mudah berikatan dengan logam berat yaitu timbal (Turner, 1998). 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 tidak dapat 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.

Pemaparan timbal asetat menyebabkan terjadinya ikatan kovalen dengan enzim. Ikatan kovalen tersebut pada akhirnya menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran. Jika permeabilitas membran berubah, maka pompa ion dalam hal ini sodium pump akan mengalami gangguan dalam mengatur transportasi glukosa, asam amino, serta nutrisi-nutrisi yang lain serta gangguan dalam absorpsi air. Sel akan menghisap cairan untuk menyamakan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel (Kumar, 2004). Hal ini menyebabkan volume sel meningkat dan juga akan meningkatkan tekanan hidrostatik dengan kata lain mengakibatkan pembengkakan sel atau bengkak keruh (Cloudy Swelling). Jika keadaan ini berlangsung cukup lama maka sel akan mengalami kematian (nekrosis) (Kumar, 2004).

Dari fenomena di atas, maka perlu dibuktikan apakah pemberian timbal asetat dapat mempengaruhi berat ovarium dan jumlah jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf.

3.2 Hipotesis

1. Pemberian timbal asetat secara oral menurunkan berat ovarium mencit.
2. Pemberian timbal asetat secara oral menurunkan jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf ovarium mencit.
3. Ada hubungan antara peningkatan pemberian dosis timbal asetat dengan penurunan berat ovarium dan jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf pada mencit.



BAB 4

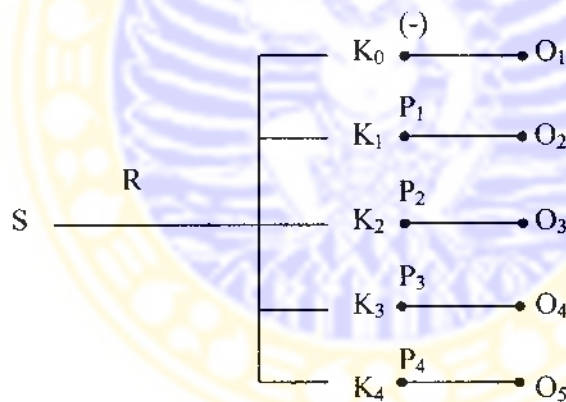
MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

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

Rancangan yang dipergunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* (Zainuddin, 1998). Subyek penelitian dibagi dalam 5 (lima) kelompok secara random, satu kelompok sebagai kontrol dan kelompok sisanya diberikan Pb Asetat dengan kadar yang berbeda, dan pengukuran variabel dilakukan pada akhir penelitian. Pada awal penelitian dilakukan *Control by Design* dengan menghomogenkan sampel penelitian.

Skema rancangan penelitian yang dipakai:



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S = Sampel
- R = randomisasi
- K₀ = kelompok kontrol (hanya diberikan aquadest steril)
- K₁ – K₄ = kelompok perlakuan
- P₁ = perlakuan 1 (diberikan Pb Asetat dosis 25 mg/kg BB)
- P₂ = perlakuan 2 (diberikan Pb Asetat dosis 50 mg/kg BB)
- P₃ = perlakuan 3 (diberikan Pb Asetat dosis 75 mg/kg BB)
- P₄ = perlakuan 4 (diberikan Pb Asetat dosis 100 mg/kg BB)
- O₁ – O₅ = pengamatan

Rancangan percobaan adalah *Completely Randomized Design*, dengan 5 kali perlakuan dan 13 kali ulangan.

4.2 Populasi Sampel dan Besar Sampel

Populasi penelitian ini adalah mencit betina, umur 8 minggu, berat sekitar 20-30 gram. Dari populasi tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai sampel penelitian. Besar sampel minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus Widodo (1994)

$$n = (z\alpha + z\beta)^2 QD^2 / \delta^2$$

$$n = (z\alpha + z\beta)^2$$

$$n = (1,96 + 1,28)^2$$

$$n = 10,49 \text{ dibulatkan } 11 \text{ per kelompok}$$

keterangan :

n = besar sampel

z α = harga standar α 0,05 = 1,96

z β = harga standar β 0,01 = 1,28

QD = simpangan baku

δ = beda mean kelompok kontrol dan perlakuan

Besar sampel penelitian 11 per kelompok untuk menghindari kekurangan sampel karena kematian maka besar sampel masing-masing kelompok ditambah 2 ekor atau (20%). Jadi jumlah sampel perkelompok adalah 13 ekor, sehingga sampel keseluruhan adalah 65 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah

1. Variabel bebas (independent Variabel)

Timbal asetat dengan dosis 25 mg/kg berat badan, 50 mg/kg berat badan, 75 mg/kg berat badan, 100 mg/kg berat badan.

2. Variabel tergantung (Dependent Variabel)

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah:

1. Berat ovarium mencit.
 2. Jumlah folikel primer.
 3. Jumlah folikel sekunder.
 4. Jumlah folikel tersier.
 5. Jumlah folikel de Graaf.
3. Variabel kendali: jenis mencit, umur mencit, kesehatan mencit, jenis makanan dan minuman, perawatan dan sanitasi kandang dan pembuatan preparat histologis.
4. Variabel moderator: berat mencit

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

1. Timbal asetat

Timbal asetat yang dipergunakan adalah Plumbum Asetat

2. Berat ovarium adalah berat ovarium kanan dan kiri yang ditimbang dengan timbangan digital merk Adventure buatan USA yang ditentukan dalam gram.
3. Jumlah folikel primer adalah banyaknya folikel yang ditandai dengan oosit diselaputi selapis sel folikel bentuk kubus. Terbentuk selaput oosit dibawah lapisan folikel yang dikenal dengan zona pellucida. Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang pada pembesaran 100 X.

4. Jumlah folikel sekunder adalah banyaknya folikel yang ditandai dengan adanya oosit diselaputi 3-5 lapis sel folikel bentuk kubus disebut stratum granulosum. Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang pada pembesaran 100 X.
5. Jumlah folikel tersier adalah banyaknya folikel yang ditandai dengan banyaknya volume stratum granulosum jadi lebih besar dari folikel sekunder, terbentuk celah pada beberapa tempat. Celah berisi cairan disebut antrum. Sel jaringan ikat stroma yang melingkup menyusun diri membentuk dua lapisan disebelah luar stratum granulosa : 1) sebelah dalam : Theca interna; dan 2) sebelah luar : theca eksterna. Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang pada pembesaran 100 X.
6. Jumlah folikel de Graaf adalah banyaknya folikel matang yaitu oosit dengan selaput sel folikel yang terdiri dari beberapa lapis dalam cumulus oophorus, satu tonjolan stratum granulosum ke antrum. Antrum kini jadi satu dan lebih luas dari pada folikel tersier. Rongganya berisi cairan yang disebut liquor folliculi. Lapisan sel folikel yang menyelaputi oosit disebut corona radiata. (wildam yatim 1996). Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang pada pembesaran 100 X.

4.3.3 Jenis Mencit : *Mus musculus*

Umur mencit : 8 minggu

Kesehatan mencit dapat diamati dari morfologi dan berat badannya:

- a. Morfologi : gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih & tanpa luka, mata terang & tidak sayu.
- b. Berat badan sekitar 20 – 30 gram

Jenis makanan : pellet CP 511

Jenis minuman : Aqua

Perawatan mencit:

- a. Pemberian makanan pellet 10 g/ekor/hari
- b. Pemberian minuman secara *ad libitum* 1 liter/3 hari untuk 10 ekor.
- c. Penggantian sekam untuk alas tidur 2 hari sekali.

Sanitasi kandang:

- a. Dibersihkan tiap hari
- b. Suhu sesuai suhu ruang
- c. Cukup ventilasi dan sinar matahari
- d. Tidak lembab

Pembuatan preparat: menggunakan teknik pewarnaan H-E

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

1. Timbal asetat trihidrat
2. Aquades
3. Pellet CP511 dan aqua, serta sekam untuk alas tidur.
4. Ether
5. Untuk pembuatan preparat: zat warna giemsa 10%, Methanol, NaCl fisiologis 0,9%, larutan formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan absolute), Xylol, paraffin, Canada Balsem, dan Haemotoxyline HE.

4.4.2 Alat Penelitian

1. Kandang kotak plastik tertutup kawat sebanyak 5 buah, dilengkapi tempat makan dan botol minum.
2. Timbangan digital merek Adventure buatan USA
3. *Syringe* dispossable ukuran satu ml dengan sonde
4. Obyek glass, cover glass, mikrotom, mikroskop, alat fotografi dan film.

4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di kandang hewan laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Pelaksanaan penelitian ini berlangsung selama 1 bulan mulai bulan Juni sampai bulan Juli 2006.

4.6 Prosedur Pengambilan Data

4.6.1 Pembuatan Larutan Timbal Asetat

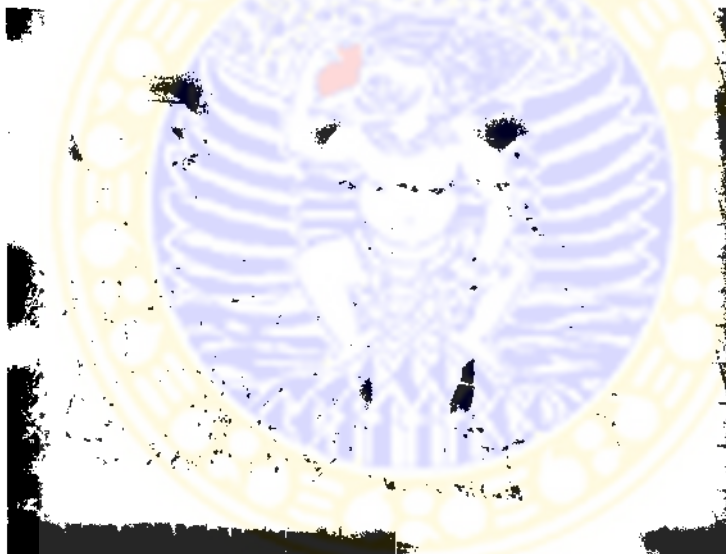
- a. Pada dosis timbal 25 mg/kg BB. Untuk pembuatan larutan ditimbang 25 mg timbal asetat lalu ditambahkan 10 ml aqua kemudian kocok. Larutan ini diberikan pada hewan coba sebanyak 0,1 ml/10 gr BB/hari.
- b. Pada dosis timbal 50 mg/kg BB. Untuk pembuatan larutan ditimbang 50 mg timbal asetat lalu ditambahkan 10 ml aqua kemudian kocok. Larutan ini diberikan pada hewan coba sebanyak 0,1 ml/10 gr BB/hari.
- c. Pada dosis timbal 75 mg/kg BB. Untuk pembuatan larutan ditimbang 75 mg timbal asetat lalu ditambahkan 10 ml aqua kemudian kocok. Larutan ini diberikan pada hewan coba sebanyak 0,1 ml/10 gr BB/hari.

- d. Pada dosis timbal 100 mg/kg BB. Untuk pembuatan larutan ditimbang 100 mg timbal asetat lalu ditambahkan 10 ml aqua kemudian kocok. Larutan ini diberikan pada hewan coba sebanyak 0,1 ml/10 gr BB/hari.

4.6.2 Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan Hewan Coba

Hewan coba sebelum digunakan dalam penelitian diaklimatisasi selama satu minggu di rumah hewan percobaan laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Setelah itu baru diberi perlakuan.



Gambar 4.2 Mencit dalam kandang

2. Tahap Perlakuan

65 ekor mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan. Setiap perlakuan diperlukan 13 ekor mencit yang berada dalam kandang dari bak plastik. Setelah itu semua hewan uji diberi perlakuan sesuai kelompok perlakuannya, diberi tanda dan ditimbang 1 kali saja. Perlakuan pemberian

larutan timbal asetat dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, 100 mg/kg BB. Diberikan 0,1 ml/10 gram BB/hari dilakukan peroral selama 30 hari.



Gambar 4.3 Mencit dalam timbangan



Gambar 4.4 Botol-botol perlakuan dan sonde



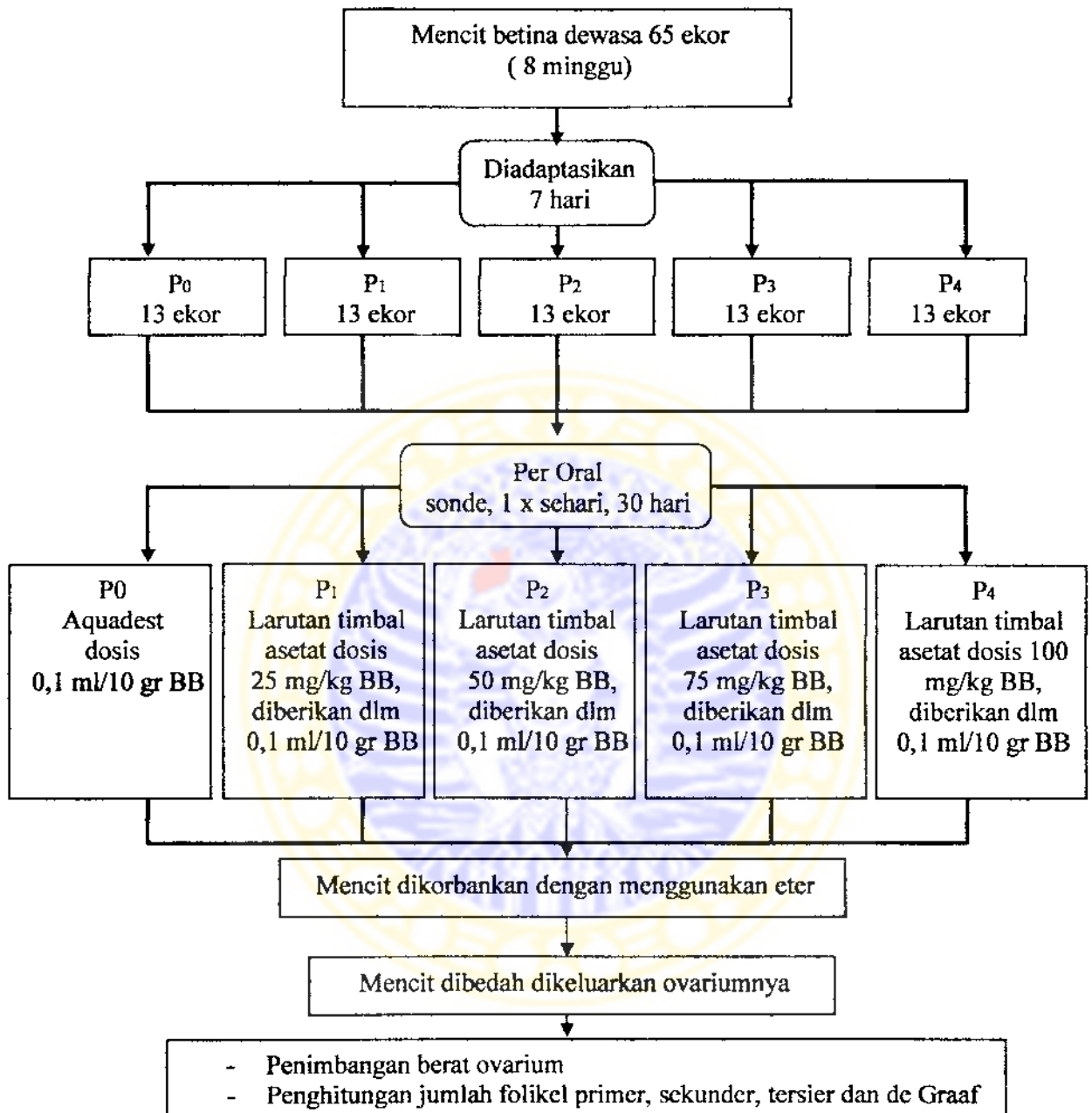
Gambar 4.5 Pemberian larutan timbal asetat dengan sonde pada mencit

Kelompok-kelompok perlakuan tersebut adalah:

- P_0 = kelompok kontrol diberi aqudest.
- P_1 = kelompok perlakuan diberi larutan timbal asetat secara oral dengan dosis 25 mg/kg BB dan diberikan 0,1 ml/10 gram BB/hari selama 30 hari.
- P_2 = kelompok perlakuan diberi larutan timbal asetat secara oral dengan dosis 50 mg/kg BB dan diberikan 0,1 ml/10 gram BB/hari selama 30 hari.
- P_3 = kelompok perlakuan diberi larutan timbal asetat secara oral dengan dosis 75 mg/kg BB dan diberikan 0,1 ml/10 gram BB/hari selama 30 hari.
- P_4 = kelompok perlakuan diberi larutan timbal asetat secara oral dengan dosis 100 mg/kg BB dan diberikan 0,1 ml/10 gram BB/hari selama 30 hari.

Prosedur pengambilan data tersebut dilengkapi dengan skema penelitian yang tercantum pada gambar.

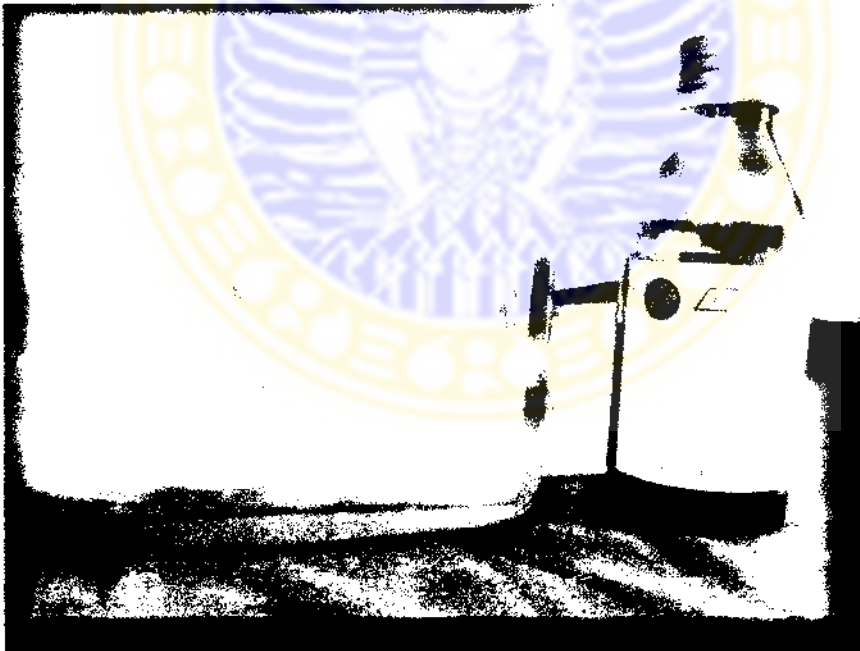
Kerangka Operasional



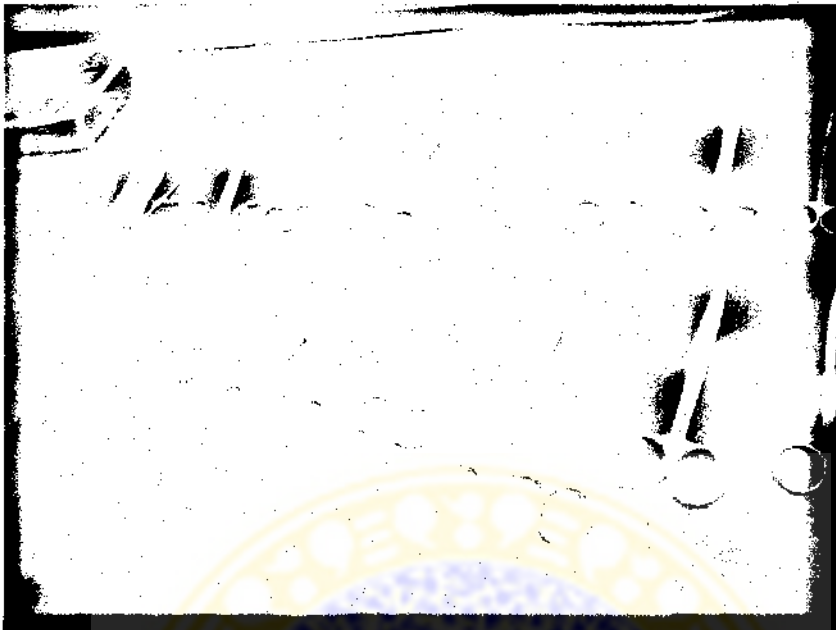
Gambar 4.6 Bagan kerangka operasional penelitian pengaruh timbal asetat terhadap berat dan jumlah folikel pada mencit.

4.6.3 Pengambilan Ovarium

Pengambilan ovarium dilakukan setelah perlakuan terhadap hewan coba berakhir. Mencit dikorbankan dengan cara menggunakan eter kurang lebih 5 ml untuk tiap ekor dituang ke kapas dan dimasukkan dalam stoples pembiusan. Kurang lebih 1 menit mencit sudah mati yang ditandai dengan mata meredup, reflek pupil tidak ada, denyut jantung berhenti dengan cara menekan di bagian kepala dan anggota badan tidak bergerak. Ovarium diambil dengan membedah mencit dengan cara abdominal. Lalu diambil ovarium kanan dan kiri, setelah dibersihkan dari lemak yang melekat kemudian ditimbang dengan timbangan digital elektrik merek Adventure (gram), setelah itu ovarium diletakkan di cawan petri.



Gambar 4.7 Pembiusan mencit



Gambar 4.8 Peralatan bedah mencit



Gambar 4.9 Ovarium dalam cawan petri

4.6.4 Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah berat ovarium dan jumlah folikel ovarium mencit. Berat ovarium diamati dengan cara ditimbang (gram) dengan timbangan digital elektrik merek adventure, sedangkan folikel ovarium tersebut terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf. Perhitungan dilakukan pada lima lapangan pandang dengan pembesaran 100 X, dari setiap preparat histologis ovarium mencit, kemudian semua tingkatan folikel ovarium dihitung lalu diambil rata-ratanya.

4.6.5 Pembuatan Preparat Histologi

Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat ini adalah dengan menggunakan metode parafin dan teknik pengecatannya dengan pewarnaan H-E (Hematoxylin-Eosin). Teknik pembuatan sediaan dan pewarnaan tercantum dalam Lampiran 1 hal 77.

4.7 Analisis Data

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan statistik deskriptif untuk mengetahui gambaran karakteristik variabel, uji homogenitas untuk mengetahui apakah kondisi sebelum perlakuan sama untuk seluruh kelompok, uji normalitas distribusi untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berasal dari populasi yang normal, uji manova untuk menganalisis perbedaan setiap variabel, dan uji regresi.

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada *Mus musculus* sebanyak 65 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok perlakuan sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 13 ekor. Perlakuan diberikan selama 30 hari dan selama perlakuan tidak ada *Mus musculus* yang mati, sehingga pengamatan dapat dilakukan secara lengkap.

Data yang didapat dari hasil penelitian berupa berat badan hewan coba (g), berat ovarium (g), jumlah foikel primer, jumlah folikel sekunder, jumlah folikel tersier dan jumlah folikel de Graaf, dapat dilihat pada tabel 5.1 sampai dengan tabel 5.5, sedangkan hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 2 hal 81

Tabel 5.1 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier dan Folikel De Graaf.

Ulangan (n)	Dosis Timbal Asetat 0 mg/kg Berat Badan					
	BB	B Ova	Fol Prim	Fol Sek.	Fol Ters	Fol De gr
1	20	0,223	11,00	9,00	9,00	6,00
2	20	0,182	28,00	13,00	7,00	5,00
3	20	0,284	14,00	10,00	6,00	4,00
4	21	0,365	16,00	11,00	8,00	6,00
5	21	0,329	68,00	23,00	11,00	6,00
6	20	0,244	52,00	24,00	11,00	6,00
7	22	0,182	27,00	16,00	10,00	6,00
8	20	0,234	24,00	14,00	11,00	5,00
9	21	0,175	14,00	12,00	8,00	6,00
10	21	0,361	13,00	11,00	6,00	5,00
11	22	0,088	38,00	26,00	10,00	4,00
12	22	0,169	19,00	12,00	11,00	4,00
13	22	0,208	54,00	30,00	10,00	3,00

Keterangan : BB → Berat Badan (gram)
 B Ova → Berat Ovarium (gram)
 Fol. Prim → Folikel Primer
 Fol Sek → Folikel Sekunder
 Fol. Ters → Folikel Tersier
 Fol. De Gr → Folikel de Graf

Tabel 5.2 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier dan Folikel De Graaf.

Ulangan (n)	Dosis Timbal Asetat 25 mg/kg Berat Badan					
	BB	B Ova	Fol Prim	Fol Sek.	Fol Ters	Fol De gr
1	20	0,233	18,00	15,00	8,00	4,00
2	20	0,300	21,00	14,00	9,00	4,00
3	20	0,193	8,00	7,00	5,00	3,00
4	20	0,322	12,00	11,00	9,00	5,00
5	21	0,233	17,00	14,00	10,00	5,00
6	21	0,242	25,00	20,00	11,00	4,00
7	21	0,227	17,00	14,00	9,00	8,00
8	21	0,360	17,00	14,00	10,00	6,00
9	22	0,219	56,00	23,00	8,00	6,00
10	22	0,178	26,00	14,00	9,00	5,00
11	22	0,226	31,00	19,00	8,00	3,00
12	22	0,185	37,00	20,00	8,00	5,00
13	21	0,166	50,00	27,00	10,00	5,00

Tabel 5.3 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier dan Folikel De Graaf.

Ulangan (n)	Dosis Timbal Asetat 50 mg/kg Berat Badan					
	BB	B Ova	Fol Prim	Fol Sek	Fol Ters	Fol De gr
1	20	0,225	23,00	22,00	9,00	5,00
2	20	0,261	16,00	14,00	9,00	5,00
3	21	0,302	26,00	19,00	8,00	4,00
4	20	0,245	20,00	13,00	9,00	5,00
5	21	0,265	31,00	16,00	7,00	4,00
6	22	0,294	24,00	10,00	7,00	5,00
7	21	0,253	18,00	11,00	5,00	4,00
8	22	0,178	33,00	20,00	9,00	6,00
9	20	0,238	22,00	12,00	5,00	2,00
10	21	0,133	27,00	13,00	8,00	5,00
11	21	0,121	27,00	18,00	6,00	4,00
12	22	0,260	48,00	22,00	10,00	6,00
13	22	0,146	35,00	17,00	9,00	2,00

Keterangan : BB → Berat Badan (gram)
 B Ova → Berat Ovarium (gram)
 Fol. Prim → Folikel Primer
 Fol Sek → Folikel Sekunder
 Fol. Ters → Folikel Tersier
 Fol. De Gr → Folikel de Graf

Tabel 5.4 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier dan Folikel De Graaf.

Ulangan (n)	Dosis Timbal Asetat 75 mg/kg Berat Badan					
	BB	B Ova	Fol Prim	Fol Sek.	Fol Ters	Fol De gr
1	21	0,331	19,00	9,00	5,00	3,00
2	21	0,178	16,00	10,00	7,00	3,00
3	21	0,135	49,00	22,00	9,00	5,00
4	22	0,167	14,00	8,00	7,00	3,00
5	22	0,205	43,00	19,00	8,00	5,00
6	20	0,208	51,00	22,00	9,00	5,00
7	20	0,159	67,00	15,00	8,00	3,00
8	21	0,139	62,00	20,00	8,00	7,00
9	20	0,219	31,00	19,00	7,00	5,00
10	22	0,114	24,00	16,00	8,00	3,00
11	21	0,145	37,00	18,00	6,00	2,00
12	21	0,108	41,00	22,00	7,00	5,00
13	21	0,166	30,00	16,00	5,00	2,00

Tabel 5.5 Data Kasar Hasil Penelitian Berat Badan, Berat Ovarium, Folikel Primer, Folikel Sekunder, Folikel Tersier dan Folikel De Graaf.

Ulangan (n)	Dosis Timbal Asetat 100 mg/kg Berat Badan					
	BB	B Ova	Fol Prim	Fol Sek	Fol Ters	Fol De gr
1	21	0,240	56,00	25,00	7,00	5,00
2	20	0,202	44,00	20,00	6,00	4,00
3	21	0,171	42,00	15,00	7,00	4,00
4	21	0,103	28,00	14,00	5,00	5,00
5	21	0,214	36,00	10,00	5,00	2,00
6	22	0,153	21,00	9,00	5,00	4,00
7	22	0,089	30,00	14,00	6,00	3,00
8	22	0,147	25,00	16,00	7,00	4,00
9	23	0,136	22,00	15,00	5,00	4,00
10	22	0,195	24,00	17,00	2,00	3,00
11	21	0,121	40,00	26,00	6,00	4,00
12	22	0,103	34,00	16,00	7,00	2,00
13	23	0,101	30,00	15,00	4,00	3,00

Keterangan : Kel. Dos. Pbas → Kelompok Dosis Pb Acetat
 BB → Berat Badan (gram)
 B Ova → Berat Ovarium (gram)
 Fol. Prim → Folikel Primer
 Fol Sek → Folikel Sekunder
 Fol. Ters → Folikel Tersier
 Fol. De Gr → Folikel de Graf

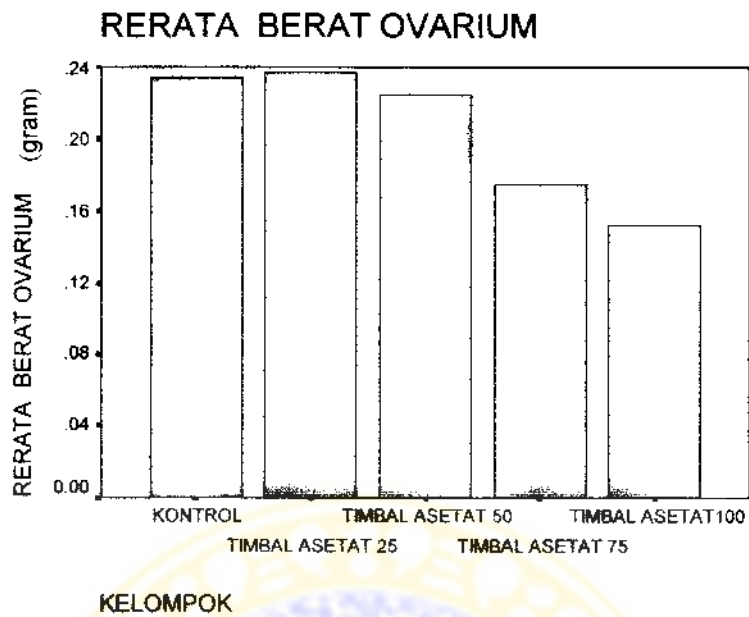
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

5.2.1 Hasil Analisis Deskriptif

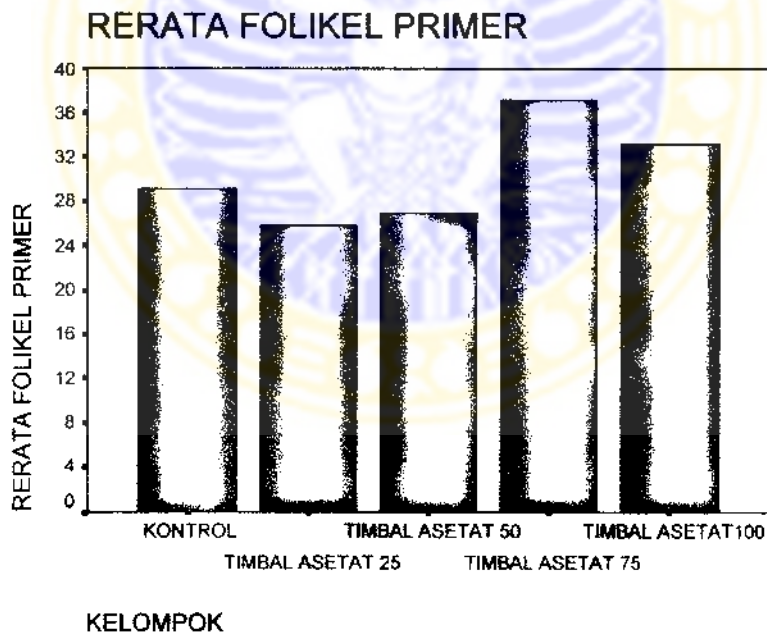
Hasil analisis deskriptif variable tergantung menurut kelompok dapat dilihat pada tabel 5.6 beserta diagram masing-masing perlakuan, sedangkan hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 3 hal 84 dan diagram hal 94.

Tabel 5.6 Statistik Deskriptif Variabel Tergantung Menurut Kelompok

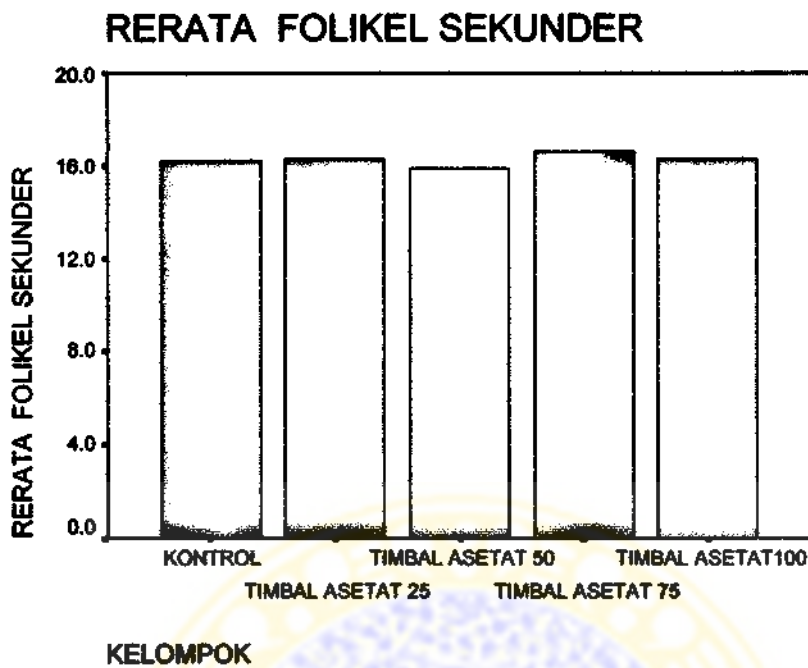
Kelompok	Statistik	Berat Badan (g)	Berat Ovarium (g)	Folikel Primer (per lapangan pandang)	Folikel Sekunder (per lapangan pandang)	Folikel Tersier (per lapangan pandang)	Folikel De Graaf (per lapangan pandang)
Kontrol	Mean	20,92	0,234	29,07	16,23	9,31	7,07
	SD	0,86	0,081	18,45	7,00	2,43	1,75
Timbal Asetat. 25	Mean	21,00	0,237	25,76	16,31	9,62	6,07
	SD	0,82	0,057	14,35	5,29	2,26	1,38
Timbal Asetat. 50	Mean	21,15	0,225	26,92	15,92	9,84	5,00
	SD	0,90	0,060	8,46	4,09	0,77	1,47
Timbal Asetat. 75	Mean	21,15	0,174	37,23	16,62	7,69	3,46
	SD	0,80	0,058	16,99	4,93	1,38	0,96
Timbal Asetat. 100	Mean	21,23	0,152	33,23	16,31	6,84	1,69
	SD	0,60	0,049	10,17	4,93	1,52	0,85



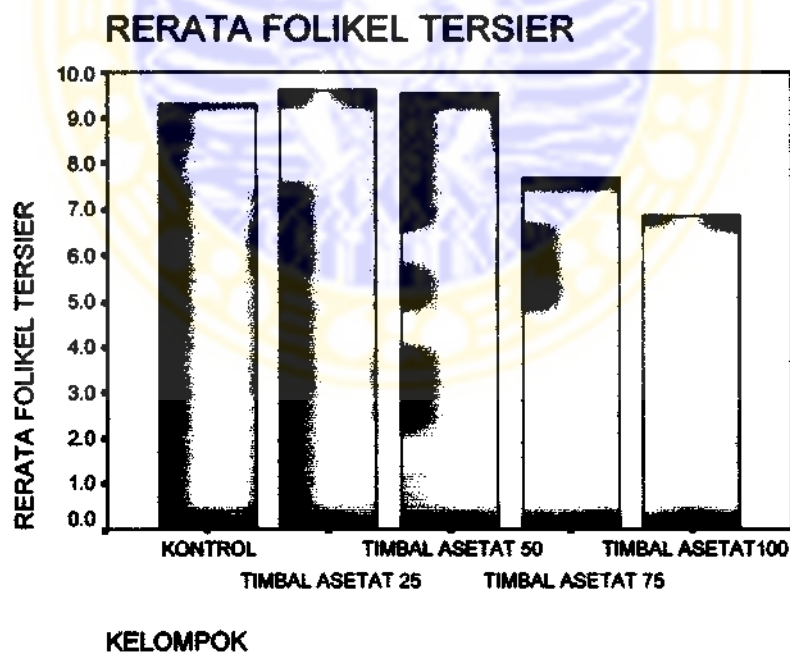
Gambar 5.1 Diagram batang rerata berat ovarium menurut kelompok



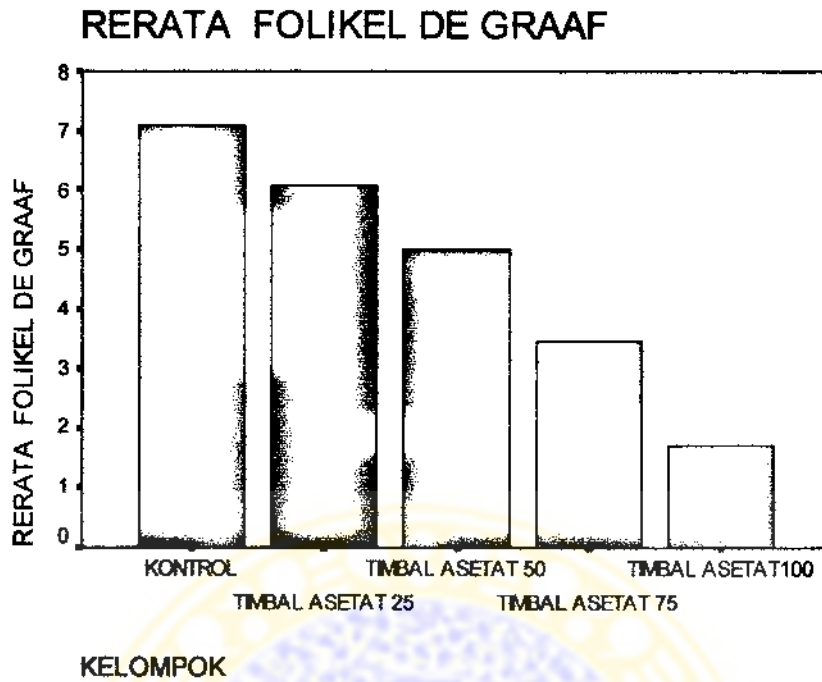
Gambar 5.2 Diagram batang rerata folikel primer menurut kelompok



Gambar 5.3 Diagram batang rerata folikel sekunder menurut kelompok



Gambar 5.4 Diagram batang rerata folikel tersier menurut kelompok



Gambar 5.5 Diagram batang rerata folikel de Graaf menurut kelompok

5.2.2 Hasil Uji Normalitas

Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov tercantum pada tabel 5.7, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 84 - 86.

Tabel 5.7 Hasil Uji Normalitas Distribusi Data (probabilitas)

Kelompok	Statistik	Berat Ovarium	Folikel Primer	Folikel Sekunder	Folikel Tersier	Folikel De Graaf
Kontrol	KS Z	0,520	0,777	0,867	0,512	0,692
	Probabil.	0,949	0,581	0,440	0,956	0,725
Timbal Asetat. 25	KS Z	0,852	0,670	0,768	0,804	0,613
	Probabil.	0,462	0,760	0,598	0,598	0,846
Timbal Asetat. 50	KS Z	0,730	0,680	0,530	0,946	1,248
	Probabil.	0,661	0,744	0,941	0,332	0,089
Timbal Asetat. 75	KS Z	0,617	0,377	0,538	0,555	0,800
	Probabil.	0,840	0,999	0,935	0,918	0,545
Timbal Asetat. 100	KS Z	0,534	0,588	0,783	0,839	0,923
	Probabil.	0,938	0,880	0,572	0,482	0,362

Hasil uji normalitas pada semua kelompok menunjukkan harga $p > 0,05$ yang berarti semua kelompok berdistribusi normal.

5.2.3 Hasil Uji Homogenitas

Uji homogenitas *Oneway Anova* dilakukan untuk mengetahui homogenitas sampel dengan menguji varian berat badan pada semua kelompok dapat dilihat pada tabel 5.8, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 87.

Tabel 5.8 Uji Homogenitas Berat Badan Mus musculus

ANOVA

BERAT BADAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.831	4	.208	.323	.862
Within Groups	38.615	60	.644		
Total	39.446	64			

Dari hasil uji homogenitas didapatkan hasil $p > 0,05$ yang berarti berat badan awal semua kelompok mempunyai varian yang homogen.

5.2.4 Hasil Uji Anova

Analisis secara univariat pada variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.9, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 90.

Tabel 5.9 Tes univariat variabel tergantung

Variabel tergantung	JK	df	MK	F	Sig.
BERAT OVARIUM	7,797E-02	4	1,949E-02	5,004	,002
FOLIKEL PRIMER	1169,292	4	292,323	1,447	,230
FOLIKEL SEKUNDER	3,169	4	,792	,028	,998
FOLIKEL TERSIER	82,062	4	20,515	6,494	,000
FOLIKEL DE GRAAF	236,708	4	59,177	33,545	,000

Dari hasil tes univariat, memperlihatkan berat ovarium, folikel tersier, dan folikel de Graaf menghasilkan signifikansi ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang nyata pada variabel tersebut.

5.2.5 Hasil Uji Manova

Hasil uji manova secara multivariat terhadap variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.10, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 93.

Tabel 5.10 Tes multivariat variabel tergantung

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hotelling's Trace	3,036	8,273	20,000	218,000	,000

Hasil uji menggunakan metode *Hotelling's Trace* menghasilkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan nyata pada variabel tergantung secara bersama diantara kelompok perlakuan.

5.2.6 Analisis Komparasi Ganda *LSD(Least Significant Difference)* Berat Ovarium *Mus musculus*

Analisis komparasi ganda *LSD* berat ovarium *Mus musculus* dapat dilihat pada tabel 5.11, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 92.

Tabel 5.11 Tingkat signifikansi *LSD* berat ovarium *Mus musculus*

K	0	25	50	75	100
0		d= -0,003/p=0,900	d=0,009/p=0,700	d=0,059/p=0,019*	d=0,082/p=0,001*
25			d=0,012/p=0,610	d=0,062/p=0,014*	d=0,085/p=0,001*
50				d=0,049/p=0,046*	d=0,072/p=0,004*
75					d=0,023/p=0,351

* menunjukkan perbedaan bermakna pada $p < 0,05$
Mulai ada efek pada dosis 75 mg/kg BB keatas

5.2.7 Analisis Komparasi Ganda *LSD* (*Least Significant Difference*) Folikel Tersier *Mus musculus*

Analisis komparasi ganda *LSD* folikel tersier *Mus musculus* dapat dilihat pada tabel 5.12, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 93.

Tabel 5.12 Tingkat signifikansi *LSD* folikel tersier

K	0	25	50	75	100
0		d=-0,308/p=0,661	d=-0,231/p=0,742	d=1,615/p=0,024	d=2,462/p=0,001*
25			d=0,007/p=0,913	d=1,923/p=0,008*	d=2,769/p=0,000*
50				d=1,846/p=0,010*	d=2,692/p=0,000*
75					d=0,046/p=0,230

Mulai ada efek pada dosis 75 mg/kg BB keatas

5.2.8 Analisis Komparasi Ganda *LSD*(Least Significant Difference) Folikel De Graaf *Mus musculus*

Analisis komparasi ganda *LSD* folikel de Graaf *Mus musculus* dapat dilihat pada tabel 5.13, sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 93.

Tabel 5.13 Tingkat signifikansi *LSD* folikel de Graaf

K	0	25	50	75	100
0		d=1,000/p=0,061	d=2,077/p=0,000*	d=3,615/p=0,000*	d=5,385/p=0,000*
25			d=1,077/p=0,043	d=2,615/p=0,000*	d=4,385/p=0,000*
50				d=1,538/p=0,004*	d=3,308/p=0,000*
75					d=1,769/p=0,001*

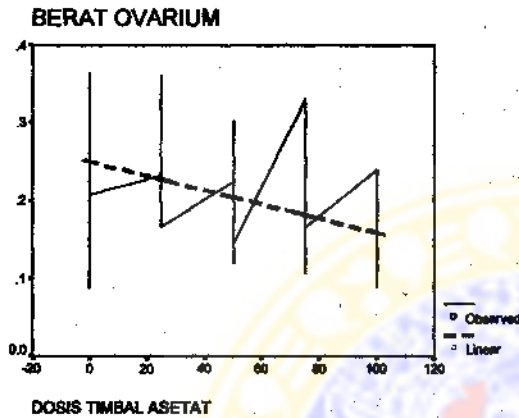
Mulai ada efek pada dosis 50 mg/kg BB keatas

5.2.9 Pengaruh Dosis Timbal Asetat Terhadap Berat Ovarium, Jumlah Folikel Primer, Jumlah Folikel Sekunder, Jumlah Folikel Tersier dan De Graaf

Untuk Mengetahui pengaruh berbagai dosis Pb asetat yang diberikan terhadap berat ovarium, jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf dilakukan analisis regresi linier Hasil analisis regresi linier sederhana didapatkan adanya pengaruh negatif yang bermakna antara dosis Pb asetat terhadap berat ovarium ($r = -0,463$), jumlah folikel tersier ($r = -0,474$) dan jumlah folikel de Graaf ($r = -,824$), namun tidak ada pengaruh dosis Pb asetat terhadap jumlah folikel primer dan sekunder (Tabel 5.14 s/d 5.18). Berdasarkan analisis regresi linier dapat diketahui bahwa pengaruh penambahan dosis Pb asetat yang terbesar pada jumlah folikel de Graaf oleh karena mempunyai harga r paling tinggi.

Tabel 5.14 Analisis regresi berat ovarium (hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 97)

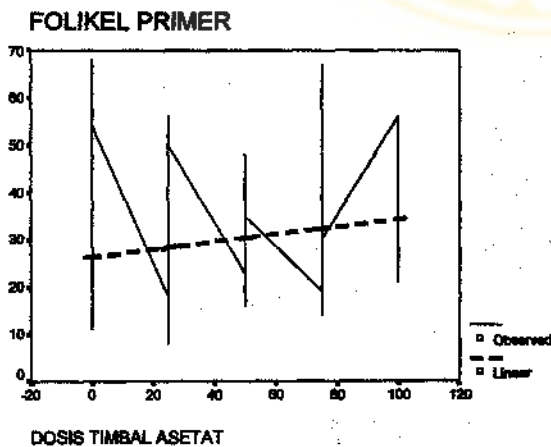
Variabel	B	SE B	T	Harga p	Harga r
Dosis timbal asetat	-0,0009	0,0002	-4,148	0,0001	-0,463
Konstanta	0,249	0,013	18,663	0,000	



gambar 5.6 Diagram liner berat ovarium

Tabel 5.15 Analisis regresi folikel primer (hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 98)

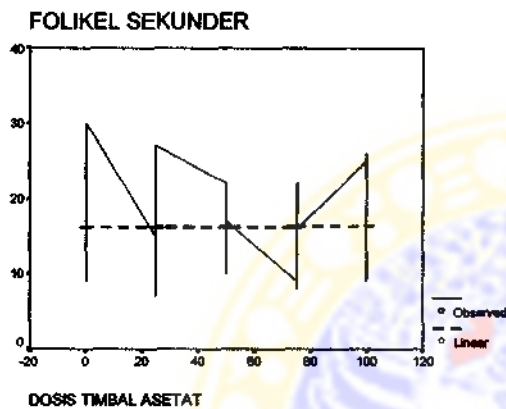
Variabel	B	SE B	T	Harga p	Harga r
Dosis timbal asetat	0,079	0,049	1,582	0,118	0,195
Konstanta	26,492	3,060	8,656	0,000	



Gambar 5.7 Diagram linear folikel primer

Tabel 5.16 Analisis regresi folikel sekunder (hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 99)

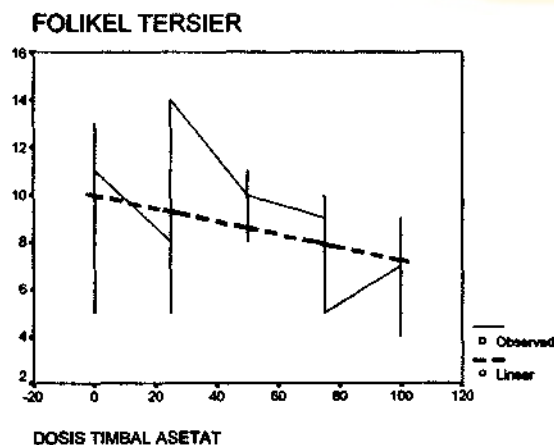
Variabel	B	SE B	T	Harga p	Harga r
Dosis timbal asetat	0,001	0,018	0,101	0,919	0,012
Konstanta	16,184	1,120	14,449	0,000	



Gambar 5.8 Diagram linear folikel sekunder

Tabel 5.17 Analisis regresi folikel tersier (hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 100)

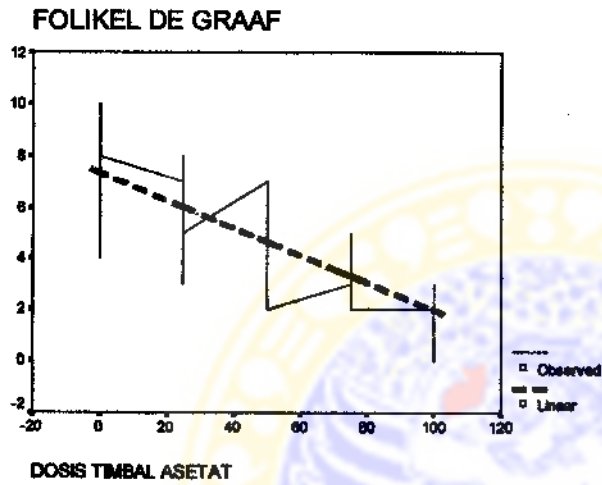
Variabel	B	SE B	T	Harga p	Harga r
Dosis timbal asetat	-0,027	0,006	-4,269	0,0001	-0,474
Konstanta	9,969	0,392	25,376	0,000	



Gambar 5.9 Diagram linear folikel tersier

Tabel 5.18 Analisis regresi folikel de Graaf (hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 hal 101)

Variabel	B	SE B	T	Harga p	Harga r
Dosis timbal asetat	-0,053	0,004	-11,567	0,000	-0,824
Konstanta	7,338	0,283	25,891	0,000	



Gambar 5.10 Diagram linear folikel de Graaf

BAB 6

PEMBAHASAN

Analisis hasil penelitian menunjukkan bahwa pemaparan timbal asetat berpengaruh terhadap berat ovarium dan jumlah folikel yang terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graaf. Timbal asetat merupakan salah satu logam berat yang termasuk bahan berbahaya dan beracun bagi manusia dan bagi makhluk hidup lainnya.

Pada penelitian ini difokuskan pada pengaruh pemberian timbal asetat terhadap berat ovarium dan jumlah folikel. Pengamatan dilakukan terhadap preparat permanen ovarium yang diwarnai dengan hematoxilin Eosin (HE). Pada penelitian ini digunakan satu kelompok kontrol yang datanya diambil bersamaan dengan dimulainya perlakuan. Data kelompok ini dibandingkan dengan kelompok kontrol setelah perlakuan. Hal ini diperlukan untuk melihat efek yang terjadi selama 30 hari perlakuan. Ternyata setelah 30 hari perlakuan terjadi penurunan berat ovarium dan penurunan jumlah folikel.

Pemberian timbal asetat secara oral pada mencit betina berpengaruh nyata terhadap penurunan rata-rata berat ovarium. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Mattison *and* Thomford (1989), Willson *and* Leigh (1988), Rezki (2003) tentang pengaruh timbal terhadap ovarium, ternyata dapat menyebabkan atrofi ovarium.

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

asetat dapat bersifat kumulatif. Ekskresi dari timbal asetat termasuk lambat dan cenderung menetap dalam tubuh. Timbal asetat dapat dengan mudahnya berikatan dengan ikatan kompleks dari protein. Enzim merupakan molekul protein yang mengkatalisis reaksi kimia tubuh. Enzim tidak dapat bekerja dengan optimal yang kemudian akan mengakibatkan metabolisme dan fungsi sel tubuh menjadi terganggu.

Timbal asetat mempunyai afinitas terhadap sistem enzim terutama enzim oksidase dan hormon serta dapat mengusir magnesium, kalsium atau kation bervalensi banyak lainnya dari ikatan kompleks dengan protein. Telah dilaporkan bahwa dalam konsentrasi rendah beberapa logam dapat menghambat efektivitas beberapa macam enzim yang berpengaruh terhadap sistem reproduksi (Darmono, 1995). Logam yang berikatan dengan enzim mengakibatkan denaturasi enzim selanjutnya berdampak pada sintesis hormon menurun. Apabila terjadi hambatan pada sekresi hormon FSH dan LH, maka akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium.

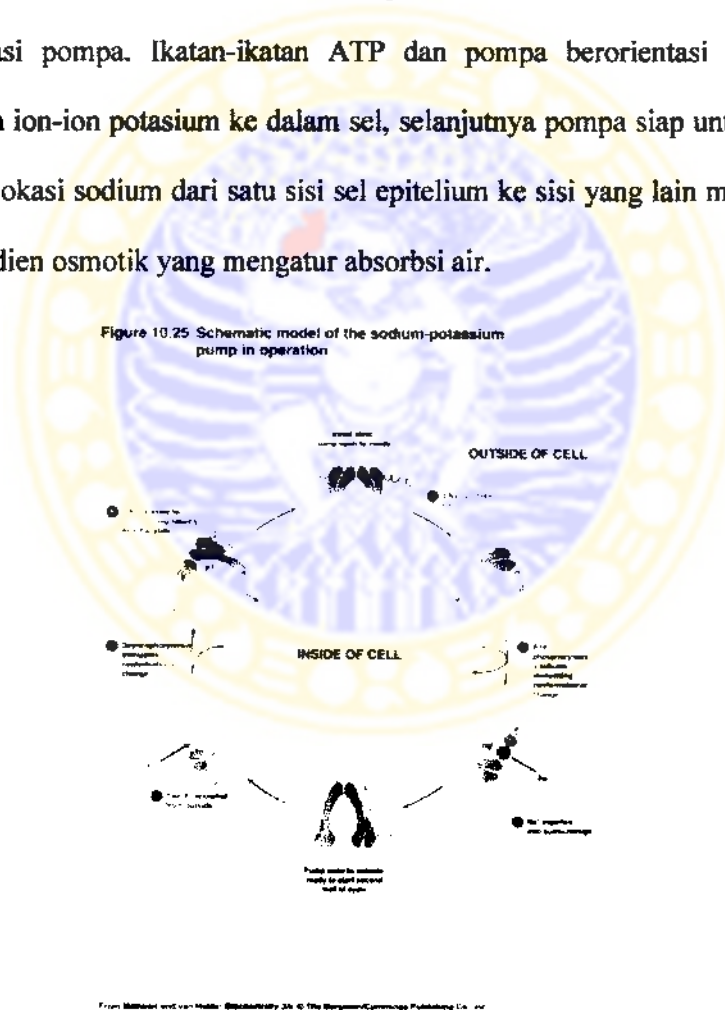
Hasil perhitungan berat ovarium pada kelompok kontrol dan keempat perlakuan didapatkan adanya penurunan rata-rata berat ovarium yang nyata ($p < 0,05$). Pada konsentrasi timbal 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB belum menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan dosis 75 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol. Tingkat penurunan berat ovarium mencit makin besar seiring dengan makin tingginya dosis 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. Ikatan kompleks proteinnya dirusak oleh timbal yang ada didalam darah harus mengalami transformasi enzimatik pada susunan jaringan sasaran sebelum hormon tersebut digunakan, sehingga pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium menjadi terhambat yaitu terjadinya penurunan jumlah folikel yang selanjutnya dapat menurunkan berat ovarium yang akhirnya menyebabkan atrofi ovarium.

Timbal dalam darah dapat mengganggu enzim oksidase dan akibatnya menghambat sistem metabolisme sel, salah satu diantaranya adalah menghambat sintesis Hb dalam sumsum tulang. Timbal menghambat enzim sulfidril untuk mengikat *Amino Levulinic Acid Dehidrase* (ALAD) menjadi porprobilinogen, serta protoforfirin IX menjadi Hb. Hal ini menyebabkan anemia dan adanya basofilik stipling dari eritrosit sehingga fungsi eritrosit terganggu. Di pihak lain dengan adanya fungsi eritrosit terganggu suplai oksigen ke jaringan ovarium berkurang. Keadaan tersebut menyebabkan timbulnya iskemi jaringan ovarium yang bila terus menerus akan menyebabkan terjadi nekrosis yang mempengaruhi jumlah sel ovarium sehingga terjadi atrofi ovarium pada akhirnya mempengaruhi berat ovarium yang akhirnya menyebabkan atrofi ovarium.

Timbal asetat juga mempengaruhi sistem oksidasi. Kekurangan oksigen yang terus menerus akan mempengaruhi sel dalam mempertahankan keseimbangan sel intraseluler dengan ekstraseluler. Sel harus selalu dalam konsentrasi rendah dari ion-ion sodium dan konsentrasi tinggi dari ion-ion potasium dalam sel (intraseluler). Di luar sel (ekstraseluler) ada sodium konsentrasi tinggi dan potasium konsentrasi rendah. Seperti diketahui bahwa transport aktif ion merupakan keadaan dengan ketergantungan terhadap energi dan

erat hubungannya dengan enzim membran, misalnya ATP-ase. Keseimbangan intraseluler ini dijaga oleh membran plasma melalui pengaturan transport sodium-potasium "active transport" disebut juga sebagai "sodium-potasium pump" atau pompa ion. Pompa dengan batas ATP mengikat tiga ion Na^+ intraseluler, ATP di hidrolisis untuk fosforilasi pompa pada residu tinggi dan selanjutnya melepaskan ADP. Sebuah perubahan penyesuaian dalam pompa memindahkan ion Na^+ keluar. Bentuk yang difosporilasi dari pompa mempunyai afinitas rendah untuk ion-ion sodium, jadi Na^+ dilepaskan. Pompa mengikat dua ion K^+ ekstraseluler menuju dephosporilasi pompa. Ikatan-ikatan ATP dan pompa berorientasi lagi untuk melepaskan ion-ion potasium ke dalam sel, selanjutnya pompa siap untuk bekerja lagi. Translokasi sodium dari satu sisi sel epitelium ke sisi yang lain menciptakan sebuah gradien osmotik yang mengatur absorpsi air.



Gambar 6.1 Pompa sodium potasium
(<http://en.wikipedia.org/wiki/NaKATPase>)

Adanya pemaparan timbal asetat menyebabkan terjadinya ikatan kovalen antara timbal asetat dengan gugus SH protein pada membran sel. Ikatan kovalen tersebut pada akhirnya menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran. Jika permeabilitas membran berubah maka pompa ion dalam hal ini sodium-potasium pump akan mengalami gangguan dalam mengatur transportasi glukosa, asam amino, serta nutrisi-nutrisi yang lain dan gangguan dalam absorpsi air karena gradien osmotik terganggu. Sel akan menghisap cairan untuk menyamakan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel, (Kumar, 2004). Dapat pula dikatakan bahwa natrium dan air masuk ke dalam sel dan kalium meninggalkan sel. Hal ini menyebabkan volume sel meningkat dan juga akan meningkatkan tekanan hidrostatik (disebut pembengkakan isoosmotik).

Akibatnya proses diatas, perubahan morfologis mengakibatkan pembengkakan sel atau bengkak keruh (*Cloudy Swelling*). Perubahan degeneratif semacam ini cenderung melibatkan sitoplasma sel, sedangkan nukleus mempertahankan integritas mereka selama sel tidak mengalami cedera lethal (Wilson, 1993). Keadaan ini bisa memberikan pengaruh berbahaya pada sebuah sel atau berlangsung cukup lama maka akan mencapai suatu titik dimana ia tidak lagi dapat mengkompensasi dan tidak dapat melangsungkan metabolisme, pada *point of no return*, proses-proses itu menjadi *irreversible* dan sel mengalami kematian (nekrosis) (Kumar, 2004). Nekrosis dapat didefinisikan sebagai perubahan morfologi akibat degradasi progresif. Nekrosis yang bisa terjadi akibat pemaparan timbal asetat yang terus menerus dapat menyerang kromatin yang lama-lama akan mengakibatkan lenyapnya inti (kariolisis). Pada saat sel mati, secara kimiawi terjadi perubahan, maka jaringan hidup yang bersebelahan

memberikan respon terhadap perubahan itu, dan menimbulkan reaksi peradangan akut. Bagian dari reaksi ini adalah pengiriman banyak leukosit atau sel darah putih ke daerah itu, dan membantu mencernakan sel-sel yang mati. Jadi dari enzim-enzim pencernaan mereka sendiri atau sebagai proses peradangan, maka sel-sel yang sudah mencapai *point of no return* mulai mengalami perubahan-perubahan morfologis.

Hasil perhitungan jumlah folikel primer dan folikel sekunder pada kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan tidak didapatkan adanya penurunan jumlah folikel yang nyata ($P > 0,05$). Hal ini dikarenakan perkembangan tahap pertama terbentuknya folikel tidak bergantung pada pengaruh gonadotropin. Mula-mula oosit berkembang sangat cepat mencapai besar yang sesungguhnya, sedangkan sel-sel granulosa dengan pembelahan mitosis membentuk bungkusan yang berapis-lapis. Bersamaan dengan pembentukan ini terbentuk pula zona pelusida di sekitar ovum.

Pada membran dasar yang mengelilingi lapisan sel-sel granulosa terbentuk satu lapisan sel-sel stroma yang terdiri dari sel-sel teka. Dengan masuknya pembuluh-pembuluh darah ke dalam sel-sel teka, maka pemeliharaan dari folikel primer dan sekunder terjamin (Baziad, 1994).

Folikel tersier yaitu folikel sekunder yang tumbuh lebih dewasa dan sel-sel granulosanya lebih banyak, seluruh folikel tampak lebih besar. Pada folikel tersier ini telah terbentuk suatu rongga yang disebut *vakuola call-exner* yang berisi cairan jernih (*liquor foliculli*) yang kaya dengan protein dan estrogen. Melalui analisis varian dapat diketahui adanya penurunan jumlah folikel tersier pada ovarium mencit yang nyata ($p < 0,05$). Penurunan jumlah folikel tersier tampak pada dosis

75 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB 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 masa sel yang disebut kumulus oophorus yang menonjol ke ruang *antrum folikuli* yang penuh dengan cairan folikel dan terus membesar seiring dengan perkembangan folikel sampai menjelang ovulasi (Yatim, 2003).

Dari hasil perhitungan folikel de Graaf di dapatkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Pada dosis 50 mg/kg BB sudah terdapat penurunan jumlah folikel de Graaf yang nyata dibanding dengan kontrol.

Penurunan jumlah folikel tersier dan de Graaf disebabkan adanya timbal yang mempengaruhi fungsi saraf pusat. Susunan saraf pusat terdiri atas otak dan medula spinalis yang dikelilingi dan dilindungi oleh tengkorak serta kolumna vertebralis dari tulang. Otak adalah pusat pengendali dari susunan saraf. Sel-sel saraf dalam otak setelah menampung pesan-pesan, berespon terhadap pesan-pesan tersebut. Bagian otak paling besar dan atas adalah cerebrum. Di sebelah dalam cerebrum terdapat talamus dan hipotalamus. Talamus adalah bagian otak yang merelai rangsangan sensoris ke korteks cerebi. Hipotalamus adalah bagian otak yang mengatur kebutuhan dasar tubuh seperti suhu badan, tidur, pencernaan, dan pelepasan hormon. (Tambayong, 2001).

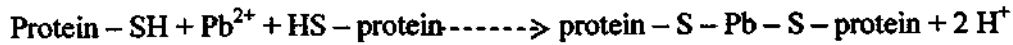
Toksisitas timbal pada sistem saraf pusat terjadi di sebagian besar otak yang terlihat pada hipotalamus. Timbal pertama berpengaruh pada pembuluh

darah yang mengalir ke otak, terlihat bahwa pembuluh kapiler darah dalam otak membesar atau mengecil dan juga terjadi nekrosis dan trombosis. (Darmono, 1995). Perubahan dalam neuron sebagai akibat sekunder dari pengaruh timbal pada pembuluh darah. Dengan adanya gangguan pembuluh darah pada neuron, maka fungsi neuron menurun.

Timbal berpengaruh terhadap sistem neurotransmitter. Timbal menghambat pelepasan asetilkolin untuk transmisi saraf, sehingga menyebabkan kurang berfungsinya peranan asetilkolin dalam neurotransmitter. Neurotransmitter hipotalamus, seperti halnya neurotransmitter lain dalam susunan saraf pusat, merupakan asam amino, bioamin, atau peptida simplek. Asam amino ini termasuk glutamat dan glisin mempunyai pengaruh pada sistem endrokrin dalam menstimulasi pelepasan hormon gonadotropin. (Greenspan *and* Baxter, 2000). Hormon gonadotropin dilepaskan oleh hipotalamus melalui ujung-ujung saraf neurosekretoris yang berdekatan pada peksus kapiler pada sistem portal ke hipofisis anterior sehingga *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) akan dikeluarkan oleh kelenjar hipofisis anterior selanjutnya melalui sirkulasi darah akan menuju organ sasarannya. Kadar hormon FSH dan LH dalam darah akan mempengaruhi pertumbuhan folikel. FSH berfungsi dalam menstimulasi pertumbuhan folikel sedangkan LH bekerja sama dengan FSH menstimulasi pematangan folikel.

Pertumbuhan folikel tersier dan folikel de Graaf bergantung pada stimulasi gonadotropin. Selain itu kerjasama FSH dan estradiol merangsang pembentukan reseptor-reseptor LH pada sel-sel granulosa. Reseptor-reseptor FSH hanya ditemukan pada sel-sel granulosa. Ikatan FSH pada reseptornya merangsang

sistesis enzim-enzim. Pemaparan timbal dapat menghambat kerja enzim, karena timbal dapat dengan mudah bereaksi dengan gugus sulfhidril (-SH) dalam sebuah protein;



Ikatan disulfid mampu membentuk struktur protein tiga dimensi, yang menentukan enzim itu aktif atau tidak. Perusakan batas-batas disulfid merusak enzim, 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 menghasilkan pengaruh, kemudian secara langsung terjadi penurunan sekresi FSH dan LH sehingga akan terjadi penurunan pada pertumbuhan dan perkembangan dari folikel ovarium kecil tersebut.

Berdasarkan uji korelasi terdapat korelasi negatif yang bermakna antara pemberian dosis dengan penurunan berat ovarium ($r = -0,463$) dan jumlah folikel tersier ($r = -0,474$) serta de Graaf ($-0,824$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis timbal yang diberikan, maka semakin turun berat ovarium dan semakin sedikit jumlah folikel tersier serta folikel de Graaf. Hal tersebut sesuai dengan teori Darmono (1995), timbal yang diserap tubuh akan didistribusikan dalam jaringan akan ditimbun dalam jaringan tertentu. Akumulasi dalam jangka waktu lama dan dosis yang tinggi berakibat negatif pada jaringan tertentu.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian timbal asetat secara oral memberikan pengaruh terhadap berat ovarium mencit.
2. Pemberian timbal asetat secara oral tidak berpengaruh terhadap jumlah folikel primer dan folikel sekunder, namun memberikan penurunan terhadap jumlah folikel tersier dan de Graaf pada mencit.
3. Pengaruh timbal pada berat ovarium dan folikel tersier terjadi mulai pemberian dosis 75 mg/kg berat badan ke atas, namun pada folikel de Graaf mulai 50 mg/kg berat badan ke atas, sedangkan pada dosis 25 mg/kg berat badan belum memberikan pengaruh pada semuanya dan tidak ada pengaruh pemberian timbal asetat pada folikel primer maupun folikel sekunder dengan dosis berapapun.
4. Tidak ada hubungan antara peningkatan pemberian dosis timbal asetat dengan penurunan jumlah folikel primer dan sekunder, namun ada hubungan antara peningkatan pemberian dosis timbal asetat dengan penurunan berat ovarium dan jumlah folikel tersier dan de Graaf pada mencit.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, paparan timbal asetat dengan dosis 75 mg/kg berat badan dalam waktu 30 hari dapat menyebabkan penurunan berat ovarium dan jumlah folikel tersier sedangkan pada folikel de Graaf terjadi penurunan mulai

dosis 50 mg/kg berat badan pada mencit sebagai model hewan coba. Hal ini kemungkinan juga bisa terjadi pada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi S, 1989. *Kimia dan Terapan Modern*. Jakarta: Mutiara Sumber Widya, hal 50 – 52.
- Agustin U, 1999. *Pencemaran Timbal (Pb) dan Upaya Pencegahannya*. Tesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Anonim, *Bias Jender Dalam Infertilitas*. www.kompas.com/kompas-cetak/0303/swara/151618.htm. Diakses tanggal 25 Maret 2006.
- Anonim, *Na⁺/K⁺-ATPase*. [Http://en.wikipedia.org/wiki/NaKATPase](http://en.wikipedia.org/wiki/NaKATPase). Diakses tanggal 21 Agustus 2006.
- Badzuard A, 2003. *Endokrinologi Ginekologi*. Edisi kedua, Jakarta: Media Aesculapius Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 106 – 159.
- Calesnick B. 1990. Heavy Metals and Antagonist. In: J.R. DiPalma and G.J. DiGegorio. *Basic Pharmacology in Medicine*. 3rd Edition. McGraw – Hill Publishing Company. New York, pp. 683 – 685.
- Clayton GD, Florence E, and Clayton, 1994. *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. 4th ed. Vol II. New York, pp. 220 -221.
- Darmono, 1995. *Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta: Universitas Indonesia, hal: 25-40
- Effendi H, 2003. *Telaah Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta: Kanisius, hal 189 – 191.
- Fardiaz S, 1992. *Polusi dari Air dan Udara*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Kanisius, hal 62 – 65.
- Fox RR and Laird CW, 1970. Sexual Cycles. In: E.S.E Hafez. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Philadelphia: Lea & Febiger, pp 107 – 122.
- Fox, J. G., B. J. Cohen and F. M. Loew. 1984. *Laboratory Animal Medicine*. San Diego: Academic Press.
- Hafez ESE, 1993. Female Reproductive Organs. In: C.D Klaassenm. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. 3th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, pp 74 – 105.

- Hafez ESE, 1993. Folliculogenesis, Egg Maturation and Ovulation. In: Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animal*. 6th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, pp 114 – 143.
- Hariono B, *Efek Pemberian Plumbum (Timah Hitam) Anorganik pada Tikus Putih (Rathus Norvegicus)*. ftp.vi.edv/bebas/v12/artikel/tgtanaman_obat/depkes_2/buku_05.pdf. Diakses tanggal 25 Maret 2006.
- Hutagalung HP, 1991. *Pencemaran Laut oleh Logam Berat*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oceanologi. Jakarta: LIPI, hal 46 – 56.
- Ismudiono, 1999. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Edisi kedua. Surabaya: Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- John B Sullivan and Gary R. Krieger, 1992. *Hazardous Materials Toxicology*. Maryland: Williams dan Wilkins, pp 835 – 840.
- Kempinas WGF and Melo VR. 1994. *Time Dependent Effect of Lead on Rat Reproductive Functions*. 14 (6): 427 – 433 Nov – Dec 1994.
- Klaassenm CD, 2001. Caseratt and Doull's Toxicology: *The Basic Science of Poisons*. 6th ed. New York: Mc Graw-Hill, pp 827-830.
- Llewellyn J, 2002. *Dasar-dasar Obstetri dan Ginekologi*, alih bahasa: Hadyanto. Jakarta: Hipokrates, hal 9 – 13.
- Lu FC, 1995. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia, hal 154-163.
- Lutsento S, Daoud S and Kaplan JH, *Identification of Two Conformationally Sensitive Cysteine Residues at The Extracellular Surface of The Na, K-ATPase α - Subunit*. www-jbc.stanford.edu/jbc. Diakses tanggal 24 Agustus 2006.
- McMurry ST, Lochmiller RL, Candra SAM and Qualls CW. 1995. *Sensitivity of Selected Immunological Hematological and Reproduction Parameters in The Cotton Rat to Subchronic Desase*. 31 : 2 April 1995.
- Palar H, 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: PT. Rineka Cipta, hal 45-51.
- Partodihardjo S, 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Edisi ke tiga. Jakarta: PT. Rineka Cipta, hal 22-29.
- Pudjiraharjo WJ, Poernomo H dan Machfoed MH, 1993. *Metode Penelitian dan Statistik Terapan*. Surabaya: Airlangga University Press, hal 23- 30.
- Poernomo B, dkk, 2004. *Penuntun Embriology*. Surabaya: Pustaka Melati, hal 38-41.

- Rajak HL. *Kesan Plumbum pada Manusia*. www.kompas.com/kompas-cetak/0607/swara/161619.htm. Diakses tanggal 26 Maret 2006.
- Sugimoto M, Maeda S and Miyamoto H. 2000. *Development of Infantile Rat Ovaries Autotransplanted After Cryopreservation by Vitrification*. *Theriogenology*, 53 : 1093 – 1103.
- Toelihere MR, 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Angkasa Bandung, pp 133 – 165.
- Verralls S, 2002. *Anatomi dan Fisiologi: Terapan dalam Kebidanan*, Terjemah: Hartono. Jakarta: EGC, hal 161 – 179.
- Wang NS. *Enzyme Kinetics of Invertase Via Initial Rate Determination*. www.engr.umd.edu/~nsw/ench485/lab14.htm. Diakses tanggal 20 Agustus 2006.
- WHO, 1997. *Lead. Enviromental Health Criteria 3*. World Health Organisation.
- Wilson CA and Leigh AJ, 1998. Endocrine Toxicology of The Female Reproductive System. In : C.K. Atterwill and J.D. Flack. *Endocrine Toxicology*. Cambridge: Cambridge University Press, pp 313 – 352.
- Yatim W, 2003. *Biologi Modern: Biologi Sel*. Bandung: Tarsito, hal 258 – 262.
- Zainudin M, 2000. *Metodologi Penelitian*, Surabaya. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, hal 54-56.

Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Ovarium

1. Organ ovarium diviksasi dalam larutan formalin buffer 10% selama 24 jam.

2. proses pembuatan sediaan:

a. Dehidrasi

Untuk membersihkan jaringan dan untuk menarik air dari jaringan. Jaringan dicuci dengan air mengalir kurang lebih setengah jam. Kemudian dimasukkan berturut-turut kedalam alkohol 70% (2 jam). Alkohol 80 % (2 jam), alkohol 95% (2 jam), alkohol 96% (1 jam), alkohol absolut (1 jam).

b. Clearing (Penjernihan)

Untuk menjernihkan jaringan direndam dalam xilol I (1 jam), xilol II (2 jam), kemudian xilol III (2 jam)

c. Infiltrasi

Untuk menginfiltrasi jaringan, jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair, kemudian di oven setengah jam, selanjutnya dimasukkan kedalam parafin II dan dimasukkan lagi kedalam 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 dianginkan sehingga paraffin menjadi beku.

1. Pengirisan jaringan

Memotong jaringan sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop. Pemotongan diambil random, kemudian diambil lima lapangan pandang pada pembesaran

100 X. dengan ketebalan lima sampai enam micron. Selanjutnya dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 20-30 ° 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 ° C.

2. Pewarnaan

a. Deparafinisasi

Objek glass yang telah ada lapangan pandang pada pembesaran 100 X. jaringannya dimasukkan dalam xilol I (lima menit), xilol II (sepuluh menit)

b. Hidrasi

Dimasukkan kedalam alkohol 96% (2 menit), alkohol 95% (2 menit) dan alkohol 80 % (2 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 kedalam eosin satu persen selama satu menit.

e. Dehidrasi

Preparat berturut-turut dimasukkan dalam alkohol 80% (2 menit) dan alkohol 96% (2 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 2. Data Kasar Hasil Penelitian

No	Kel. Dos Pbas	BB	B Ova	Fol. Prim	Fol. Sek.	Fol. Ters	Fol. De gr
1	0	20	.223	11.00	9.00	9.00	6.00
2	0	20	.182	28.00	13.00	7.00	5.00
3	0	20	.284	14.00	10.00	6.00	4.00
4	0	21	.365	16.00	11.00	8.00	6.00
5	0	21	.329	68.00	23.00	11.00	6.00
6	0	20	.244	52.00	24.00	11.00	6.00
7	0	22	.182	27.00	16.00	10.00	6.00
8	0	20	.234	24.00	14.00	11.00	5.00
9	0	21	.175	14.00	12.00	8.00	6.00
10	0	21	.361	13.00	11.00	6.00	5.00
11	0	22	.088	38.00	26.00	10.00	4.00
12	0	22	.169	19.00	12.00	11.00	4.00
13	0	22	.208	54.00	30.00	10.00	3.00
1	25	20	.233	18.00	15.00	8.00	4.00
2	25	20	.300	21.00	14.00	9.00	4.00
3	25	20	.193	8.00	7.00	5.00	3.00
4	25	20	.322	12.00	11.00	9.00	5.00
5	25	21	.233	17.00	14.00	10.00	5.00
6	25	21	.242	25.00	20.00	11.00	4.00
7	25	21	.227	17.00	14.00	9.00	8.00
8	25	21	.360	17.00	14.00	10.00	6.00
9	25	22	.219	56.00	23.00	8.00	6.00
10	25	22	.178	26.00	14.00	9.00	5.00
11	25	22	.226	31.00	19.00	8.00	3.00
12	25	22	.185	37.00	20.00	8.00	5.00
13	25	21	.166	50.00	27.00	10.00	5.00
1	50	20	.225	23.00	22.00	9.00	5.00
2	50	20	.261	16.00	14.00	9.00	5.00
3	50	21	.302	26.00	19.00	8.00	4.00
4	50	20	.245	20.00	13.00	9.00	5.00
5	50	21	.265	31.00	16.00	7.00	4.00
6	50	22	.294	24.00	10.00	7.00	5.00
7	50	21	.253	18.00	11.00	5.00	4.00
8	50	22	.178	33.00	20.00	9.00	6.00
9	50	20	.238	22.00	12.00	5.00	2.00
10	50	21	.133	27.00	13.00	8.00	5.00
11	50	21	.121	27.00	18.00	6.00	4.00
12	50	22	.260	48.00	22.00	10.00	6.00
13	50	22	.146	35.00	17.00	9.00	2.00

Keterangan : Kel. Dos. Pbas → Kelompok Dosis Pb Acetat
BB → Berat Badan (gram)
B Ova → Berat Ovarium (gram)
Fol. Prim → Folikel Primer
Fol. Sek → Folikel Sekunder
Fol. Ters → Folikel Tersier
Fol. De Gr → Folikel de Graf

Lanjutan lampiran 2

No	Kel. Dos Pbas	BB	B Ova	Fol. Prim	Fol. Sek.	Fol. Ters	Fol. De Gr
1	75	21	.331	19.00	9.00	5.00	3.00
2	75	21	.178	16.00	10.00	7.00	3.00
3	75	21	.135	49.00	22.00	9.00	5.00
4	75	22	.167	14.00	8.00	7.00	3.00
5	75	22	.205	43.00	19.00	8.00	5.00
6	75	20	.208	51.00	22.00	9.00	5.00
7	75	20	.159	67.00	15.00	8.00	3.00
8	75	21	.139	62.00	20.00	8.00	7.00
9	75	20	.219	31.00	19.00	7.00	5.00
10	75	22	.114	24.00	16.00	8.00	3.00
11	75	21	.145	37.00	18.00	6.00	2.00
12	75	21	.108	41.00	22.00	7.00	5.00
13	75	21	.166	30.00	16.00	5.00	2.00
1	100	21	.240	56.00	25.00	7.00	5.00
2	100	20	.202	44.00	20.00	6.00	4.00
3	100	21	.171	42.00	15.00	7.00	4.00
4	100	21	.103	28.00	14.00	5.00	5.00
5	100	21	.214	36.00	10.00	5.00	2.00
6	100	22	.153	21.00	9.00	5.00	4.00
7	100	22	.089	30.00	14.00	6.00	3.00
8	100	22	.147	25.00	16.00	7.00	4.00
9	100	23	.136	22.00	15.00	5.00	4.00
10	100	22	.195	24.00	17.00	2.00	3.00
11	100	21	.121	40.00	26.00	6.00	4.00
12	100	22	.103	34.00	16.00	7.00	2.00
13	100	23	.101	30.00	15.00	4.00	3.00

Keterangan : Kel. Dos. Pbas → Kelompok Dosis Pb Acetat
 BB → Berat Badan (gram)
 B Ova → Berat Ovarium (gram)
 Fol. Prim → Folikel Primer
 Fol Sek → Folikel Sekunder
 Fol. Ters → Folikel Tersier
 Fol. De Gr → Folikel de Graf

Lanjutan lampiran 2.

Tabel 5.2 Statistik Deskriptif Variabel Tergantung Menurut Kelompok

Kelompok	Statistik	BB	BO	FOL_1	FOL_2	FOL_3	FOL dG
KONTROL	MEAN	20,92	0,234	29,07	16,23	9,31	7,07
	SD	0,86	0,081	18,45	7,00	2,43	1,75
TIMBAL ASET. 25	MEAN	21,00	0,237	25,76	16,31	9,62	6,07
	SD	0,82	0,057	14,35	5,29	2,26	1,38
TIMBAL ASET. 50	MEAN	21,15	0,225	26,92	15,92	9,84	5,00
	SD	0,90	0,060	8,46	4,09	0,77	1,47
TIMBAL ASET. 75	MEAN	21,15	0,174	37,23	16,62	7,69	3,46
	SD	0,80	0,058	16,99	4,93	1,38	0,96
TIMBAL ASET. 100	MEAN	21,23	0,152	33,23	16,31	6,84	1,69
	SD	0,60	0,049	10,17	4,93	1,52	0,85

Keterangan :

ASET = ASETAT
 BB = BERAT BADAN
 BO = BERAT OVARIUM
 FOL_1 = FOLIKEL PRIMER
 FOL_2 = FOLIKEL SEKUNDER
 FOL_3 = FOLIKEL TERSIER
 FOL dG= FOLIKEL de GRAF

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas Distribusi Data (probabilitas)

kelompok	Statistik	BO	FOL_1	FOL_2	FOL_3	FOL dG
KONTROL	KS Z	0,520	0,777	0,867	0,512	0,692
	Probabil.	0,949	0,581	0,440	0,956	0,725
TIMBAL ASET 25	KS Z	0,852	0,670	0,768	0,804	0,613
	Probabil.	0,462	0,760	0,598	0,598	0,846
TIMBAL ASET 50	KS Z	0,730	0,680	0,530	0,946	1,248
	Probabil.	0,661	0,744	0,941	0,332	0,089
TIMBAL ASET 75	KS Z	0,617	0,377	0,538	0,555	0,800
	Probabil.	0,840	0,999	0,935	0,918	0,545
TIMBAL ASET 100	KS Z	0,534	0,588	0,783	0,839	0,923
	Probabil.	0,938	0,880	0,572	0,482	0,362

Keterangan :

ASET = ASETAT
 BO = BERAT OVARIUM
 FOL_1 = FOLIKEL PRIMER
 FOL_2 = FOLIKEL SEKUNDER
 FOL_3 = FOLIKEL TERSIER
 FOL dG= FOLIKEL de GRAF

Means**Report**

KELOMPOK		BERAT BADAN	BERAT OVARIUM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF
KONTROL	Mean	20.92	.23415	29.0769	16.2308	9.3077	7.0769
	Std. Deviation	.86	8.172E-02	18.4502	7.0018	2.4285	1.7541
TIMBAL ASETAT 25	Mean	21.00	.23723	25.7692	16.3077	9.6154	6.0769
	Std. Deviation	.82	5.780E-02	14.3594	5.2976	2.2560	1.3821
TIMBAL ASETAT 50	Mean	21.15	.22469	26.9231	15.9231	9.5385	5.0000
	Std. Deviation	.90	6.048E-02	8.4603	4.0919	.7763	1.4720
TIMBAL ASETAT 75	Mean	21.15	.17492	37.2308	16.6154	7.6923	3.4615
	Std. Deviation	.80	5.822E-02	16.9909	4.9251	1.3775	.9674
TIMBAL ASETAT100	Mean	21.23	.15192	33.2308	16.3077	6.8462	1.6923
	Std. Deviation	.60	4.909E-02	10.1748	4.9394	1.5191	.8549

**NPar Tests untuk Uji Normalitas distribusi data
KELOMPOK = KONTROL**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BERAT OVARIUM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF
N		13	13	13	13	13
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.23415	29.0769	16.2308	9.3077	7.0769
	Std. Deviation	8.172E-02	18.4502	7.0018	2.4285	1.7541
Most Extreme Differences	Absolute	.144	.216	.240	.142	.192
	Positive	.144	.216	.240	.089	.192
	Negative	-.136	-.164	-.151	-.142	-.162
Kolmogorov-Smirnov Z		.520	.777	.867	.512	.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.949	.581	.440	.956	.725

- a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.
c. KELOMPOK = KONTROL

Lanjutan lampiran 3.

KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 25

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	BERAT OVARIUM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF	
N	13	13	13	13	13	
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.23723	25.7692	16.3077	9.6154	6.0769
	Std. Deviation	5.780E-02	14.3594	5.2976	2.2560	1.3821
Most Extreme Differences	Absolute	.236	.186	.213	.223	.170
	Positive	.236	.186	.213	.223	.138
	Negative	-.109	-.117	-.178	-.162	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z	.852	.670	.768	.804	.613	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.462	.760	.598	.538	.846	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 25

KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	BERAT OVARIUM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF	
N	13	13	13	13	13	
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.22469	26.9231	15.9231	9.5385	5.0000
	Std. Deviation	6.048E-02	8.4603	4.0919	.7763	1.4720
Most Extreme Differences	Absolute	.202	.189	.147	.262	.346
	Positive	.134	.189	.147	.218	.172
	Negative	-.202	-.098	-.085	-.262	-.346
Kolmogorov-Smirnov Z	.730	.680	.530	.946	1.248	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.661	.744	.941	.332	.089	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 50

Lanjutan lampiran 3.

KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 75**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BERAT OVARIVM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF
N		13	13	13	13	13
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.17492	37.2308	16.6154	7.6923	3.4615
	Std. Deviation	5.822E-02	16.9909	4.9251	1.3775	.9674
Most Extreme Differences	Absolute	.171	.105	.149	.154	.222
	Positive	.171	.105	.141	.154	.222
	Negative	-.125	-.086	-.149	-.154	-.173
Kolmogorov-Smirnov Z		.617	.377	.538	.555	.800
Asymp. Sig. (2-tailed)		.840	.999	.935	.918	.545

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = TIMBAL ASETAT 75

KELOMPOK = TIMBAL ASETAT100**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BERAT OVARIVM	FOLIKEL PRIMER	FOLIKEL SEKUNDER	FOLIKEL TERSIER	FOLIKEL DE GRAF
N		13	13	13	13	13
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.15192	33.2308	16.3077	6.8462	1.6923
	Std. Deviation	4.909E-02	10.1748	4.9394	1.5191	.8549
Most Extreme Differences	Absolute	.148	.163	.217	.233	.256
	Positive	.148	.163	.217	.152	.206
	Negative	-.118	-.115	-.166	-.233	-.256
Kolmogorov-Smirnov Z		.534	.588	.783	.839	.923
Asymp. Sig. (2-tailed)		.938	.880	.572	.482	.362

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = TIMBAL ASETAT100

Lanjutan lampiran 3.

Oneway untuk uji homogenitas berat badan**Descriptives**

BERAT BADAN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
KONTROL	13	20.92	.86	.24
TIMBAL ASETAT 25	13	21.00	.82	.23
TIMBAL ASETAT 50	13	21.15	.90	.25
TIMBAL ASETAT 75	13	21.15	.80	.22
TIMBAL ASETAT100	13	21.23	.60	.17
Total	65	21.09	.79	9.74E-02

ANOVA

BERAT BADAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.831	4	.208	.323	.862
Within Groups	38.615	60	.644		
Total	39.446	64			

General Linear Model**Between-Subjects Factors**

KELOMPOK	Value Label	N
.00	KONTROL	13
1,00	TIMBAL ASETAT 125	13
2,00	TIMBAL ASETAT 250	13
3,00	TIMBAL ASETAT 500	13
4,00	TIMBAL ASETAT100 0	13

Descriptive Statistics

	KELOMPOK	Mean	Std. Deviation	N
BERAT OVARIUM	KONTROL	,23415	8,1722E-02	13
	TIMBAL ASETAT 25	,23723	5,7797E-02	13
	TIMBAL ASETAT 50	,22469	6,0479E-02	13
	TIMBAL ASETAT 75	,17492	5,8222E-02	13
	TIMBAL ASETAT100	,15192	4,9086E-02	13
	Total	,20458	6,9785E-02	65
FOLIKEL PRIMER	KONTROL	29,0769	18,4502	13
	TIMBAL ASETAT 25	25,7692	14,3594	13
	TIMBAL ASETAT 50	26,9231	8,4603	13
	TIMBAL ASETAT 75	37,2308	16,9909	13
	TIMBAL ASETAT100	33,2308	10,1748	13
	Total	30,4462	14,4125	65
FOLIKEL SEKUNDER	KONTROL	16,2308	7,0018	13
	TIMBAL ASETAT 25	16,3077	5,2976	13
	TIMBAL ASETAT 50	15,9231	4,0919	13
	TIMBAL ASETAT 75	16,6154	4,9251	13
	TIMBAL ASETAT100	16,3077	4,9394	13
	Total	16,2769	5,1736	65
FOLIKEL TERSIER	KONTROL	9,3077	2,4285	13
	TIMBAL ASETAT 25	9,6154	2,2560	13
	TIMBAL ASETAT 50	9,5385	,7763	13
	TIMBAL ASETAT 75	7,6923	1,3775	13
	TIMBAL ASETAT100	6,8462	1,5191	13
	Total	8,6000	2,0600	65
FOLIKEL DE GRAF	KONTROL	7,0769	1,7541	13
	TIMBAL ASETAT 25	6,0769	1,3821	13
	TIMBAL ASETAT 50	5,0000	1,4720	13
	TIMBAL ASETAT 75	3,4615	,9674	13
	TIMBAL ASETAT100	1,6923	,8549	13
	Total	4,6615	2,3135	65

Lanjutan lampiran 3.

Multivariate Tests^c

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,977	475,859 ^a	5,000	56,000	,000
	Wilks' Lambda	,023	475,859 ^a	5,000	56,000	,000
	Hotelling's Trace	42,487	475,859 ^a	5,000	56,000	,000
	Roy's Largest Root	42,487	475,859 ^a	5,000	56,000	,000
KLP	Pillai's Trace	,928	3,564	20,000	236,000	,000
	Wilks' Lambda	,214	5,532	20,000	186,681	,000
	Hotelling's Trace	3,036	6,273	20,000	218,000	,000
	Roy's Largest Root	2,814	33,206 ^b	5,000	59,000	,000

a. Exact statistic

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

c. Design: Intercept+KLP



Lanjutan lampiran 3.

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	BERAT OVARIUM	7,797E-02 ^a	4	1,949E-02	5,004	,002
	FOLIKEL PRIMER	1169,292 ^b	4	292,323	1,447	,230
	FOLIKEL SEKUNDER	3,169 ^c	4	,792	,028	,998
	FOLIKEL TERSIER	82,062 ^d	4	20,515	6,494	,000
	FOLIKEL DE GRAF	236,708 ^e	4	59,177	33,545	,000
Intercept	BERAT OVARIUM	2,721	1	2,721	698,445	,000
	FOLIKEL PRIMER	60252,938	1	60252,938	298,165	,000
	FOLIKEL SEKUNDER	17220,985	1	17220,985	604,299	,000
	FOLIKEL TERSIER	4807,400	1	4807,400	1521,823	,000
	FOLIKEL DE GRAF	1412,446	1	1412,446	800,660	,000
KLP	BERAT OVARIUM	7,797E-02	4	1,949E-02	5,004	,002
	FOLIKEL PRIMER	1169,292	4	292,323	1,447	,230
	FOLIKEL SEKUNDER	3,169	4	,792	,028	,998
	FOLIKEL TERSIER	82,062	4	20,515	6,494	,000
	FOLIKEL DE GRAF	236,708	4	59,177	33,545	,000
Error	BERAT OVARIUM	,234	60	3,895E-03		
	FOLIKEL PRIMER	12124,769	60	202,079		
	FOLIKEL SEKUNDER	1709,846	60	28,497		
	FOLIKEL TERSIER	189,538	60	3,159		
	FOLIKEL DE GRAF	105,846	60	1,764		
Total	BERAT OVARIUM	3,032	65			
	FOLIKEL PRIMER	73547,000	65			
	FOLIKEL SEKUNDER	18934,000	65			
	FOLIKEL TERSIER	5079,000	65			
	FOLIKEL DE GRAF	1755,000	65			
Corrected Total	BERAT OVARIUM	,312	64			
	FOLIKEL PRIMER	13294,062	64			
	FOLIKEL SEKUNDER	1713,015	64			
	FOLIKEL TERSIER	271,600	64			
	FOLIKEL DE GRAF	342,554	64			

a. R Squared = ,250 (Adjusted R Squared = ,200)

b. R Squared = ,088 (Adjusted R Squared = ,027)

c. R Squared = ,002 (Adjusted R Squared = -,065)

d. R Squared = ,302 (Adjusted R Squared = ,256)

e. R Squared = ,691 (Adjusted R Squared = ,670)

Lanjutan lampiran 3.

Estimated Marginal Means KELOMPOK

Estimates

Dependent Variable	KELOMPOK	Mean	Std. Error
BERAT OVARIUM	KONTROL	,234	,017
	TIMBAL ASETAT 25	,237	,017
	TIMBAL ASETAT 50	,225	,017
	TIMBAL ASETAT 75	,175	,017
	TIMBAL ASETAT100	,152	,017
FOLIKEL PRIMER	KONTROL	29,077	3,943
	TIMBAL ASETAT 25	25,769	3,943
	TIMBAL ASETAT 50	26,923	3,943
	TIMBAL ASETAT 75	37,231	3,943
	TIMBAL ASETAT100	33,231	3,943
FOLIKEL SEKUNDER	KONTROL	16,231	1,481
	TIMBAL ASETAT 25	16,308	1,481
	TIMBAL ASETAT 50	15,923	1,481
	TIMBAL ASETAT 75	16,615	1,481
	TIMBAL ASETAT100	16,308	1,481
FOLIKEL TERSIER	KONTROL	9,308	,493
	TIMBAL ASETAT 25	9,615	,493
	TIMBAL ASETAT 50	9,538	,493
	TIMBAL ASETAT 75	7,692	,493
	TIMBAL ASETAT100	6,846	,493
FOLIKEL DE GRAF	KONTROL	7,077	,368
	TIMBAL ASETAT 25	6,077	,368
	TIMBAL ASETAT 50	5,000	,368
	TIMBAL ASETAT 75	3,462	,368
	TIMBAL ASETAT100	1,692	,368

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
BERAT OVARIVM	KONTROL	TIMBAL ASETAT 25	-3,077E-03	,024	,900
		TIMBAL ASETAT 50	9,462E-03	,024	,700
		TIMBAL ASETAT 75	5,923E-02	,024	,019
		TIMBAL ASETAT100	8,223E-02	,024	,001
	TIMBAL ASETAT 25	TIMBAL ASETAT 50	1,254E-02	,024	,610
		TIMBAL ASETAT 75	6,231E-02	,024	,014
		TIMBAL ASETAT100	8,531E-02	,024	,001
	TIMBAL ASETAT 50	TIMBAL ASETAT 75	4,977E-02	,024	,046
		TIMBAL ASETAT100	7,277E-02	,024	,004
	TIMBAL ASETAT 75	TIMBAL ASETAT100	2,300E-02	,024	,351
FOLIKEL PRIMER	KONTROL	TIMBAL ASETAT 25	3,308	5,576	,555
		TIMBAL ASETAT 50	2,154	5,576	,701
		TIMBAL ASETAT 75	-8,154	5,576	,149
		TIMBAL ASETAT100	-4,154	5,576	,459
	TIMBAL ASETAT 25	TIMBAL ASETAT 50	-1,154	5,576	,837
		TIMBAL ASETAT 75	-11,462	5,576	,044
		TIMBAL ASETAT100	-7,462	5,576	,186
	TIMBAL ASETAT 50	TIMBAL ASETAT 75	-10,308	5,576	,069
		TIMBAL ASETAT100	-6,308	5,576	,262
	TIMBAL ASETAT 75	TIMBAL ASETAT100	4,000	5,576	,476
FOLIKEL SEKUNDE R	KONTROL	TIMBAL ASETAT 25	-7,692E-02	2,094	,971
		TIMBAL ASETAT 50	,308	2,094	,884
		TIMBAL ASETAT 75	-,385	2,094	,855
		TIMBAL ASETAT100	-7,692E-02	2,094	,971
	TIMBAL ASETAT 25	TIMBAL ASETAT 50	,385	2,094	,855
		TIMBAL ASETAT 75	-,308	2,094	,884
		TIMBAL ASETAT100	-4,565E-15	2,094	1,000
	TIMBAL ASETAT 50	TIMBAL ASETAT 75	-,692	2,094	,742
		TIMBAL ASETAT100	-,385	2,094	,855
	TIMBAL ASETAT 75	TIMBAL ASETAT100	,308	2,094	,884

Based on estimated marginal means

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Lanjutan lampiran 3.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
FOLIKEL TERSIER	KONTROL	TIMBAL ASETAT 25	-,308	,697	,861
		TIMBAL ASETAT 50	-,231	,697	,742
		TIMBAL ASETAT 75	1,615	,697	,024
		TIMBAL ASETAT100	2,462	,697	,001
	TIMBAL ASETAT 25	TIMBAL ASETAT 50	7,692E-02	,697	,913
		TIMBAL ASETAT 75	1,923	,697	,008
		TIMBAL ASETAT100	2,769	,697	,000
	TIMBAL ASETAT 50	TIMBAL ASETAT 75	1,846	,697	,010
		TIMBAL ASETAT100	2,692	,697	,000
	TIMBAL ASETAT 75	TIMBAL ASETAT100	,846	,697	,230
FOLIKEL DE GRAF	KONTROL	TIMBAL ASETAT 25	1,000	,521	,060
		TIMBAL ASETAT 50	2,077	,521	,000
		TIMBAL ASETAT 75	3,615	,521	,000
		TIMBAL ASETAT100	5,385	,521	,000
	TIMBAL ASETAT 25	TIMBAL ASETAT 50	1,077	,521	,043
		TIMBAL ASETAT 75	2,615	,521	,000
		TIMBAL ASETAT100	4,385	,521	,000
	TIMBAL ASETAT 50	TIMBAL ASETAT 75	1,538	,521	,004
		TIMBAL ASETAT100	3,308	,521	,000
	TIMBAL ASETAT 75	TIMBAL ASETAT100	1,769	,521	,001

Based on estimated marginal means

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	,928	3,564	20,000	236,000	,000
Wilks' lambda	,214	5,532	20,000	186,681	,000
Hotelling's trace	3,036	8,273	20,000	218,000	,000
Roy's largest root	2,814	33,208 ^a	5,000	59,000	,000

Each F tests the multivariate effect of KELOMPOK. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

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

Lanjutan lampiran 3.

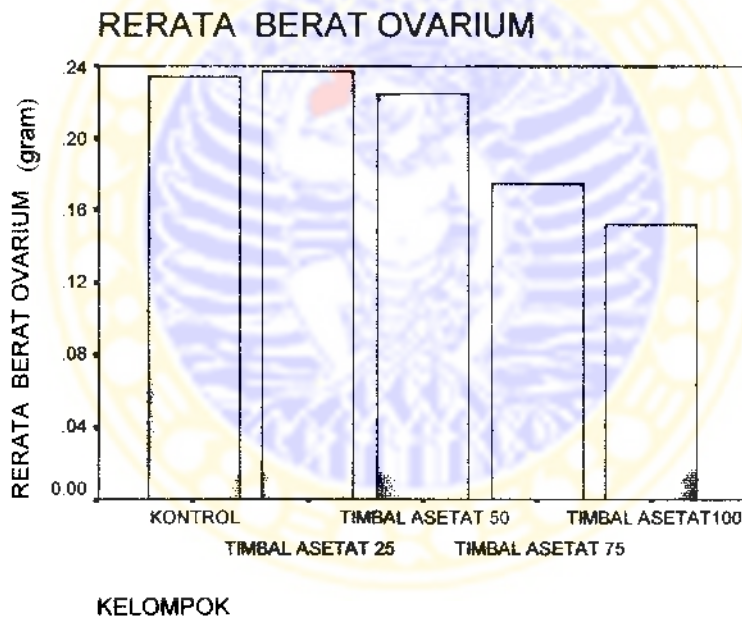
Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BERAT OVARIUM	Contrast	7,797E-02	4	1,949E-02	5,004	,002
	Error	,234	60	3,895E-03		
FOLIKEL PRIMER	Contrast	1169,292	4	292,323	1,447	,230
	Error	12124,769	60	202,079		
FOLIKEL SEKUNDER	Contrast	3,169	4	,792	,028	,998
	Error	1709,846	60	28,497		
FOLIKEL TERSIER	Contrast	82,062	4	20,515	6,494	,000
	Error	189,538	60	3,159		
FOLIKEL DE GRAF	Contrast	236,708	4	59,177	33,545	,000
	Error	105,846	60	1,764		

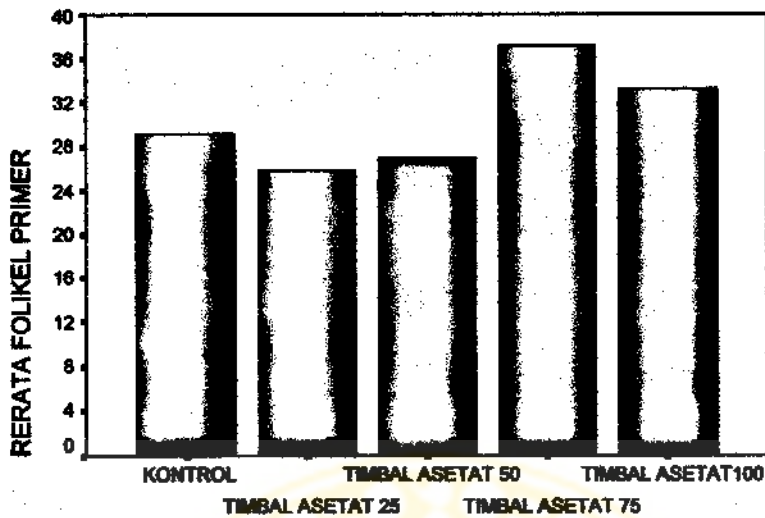
The F tests the effect of KELOMPOK. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Profile Plots

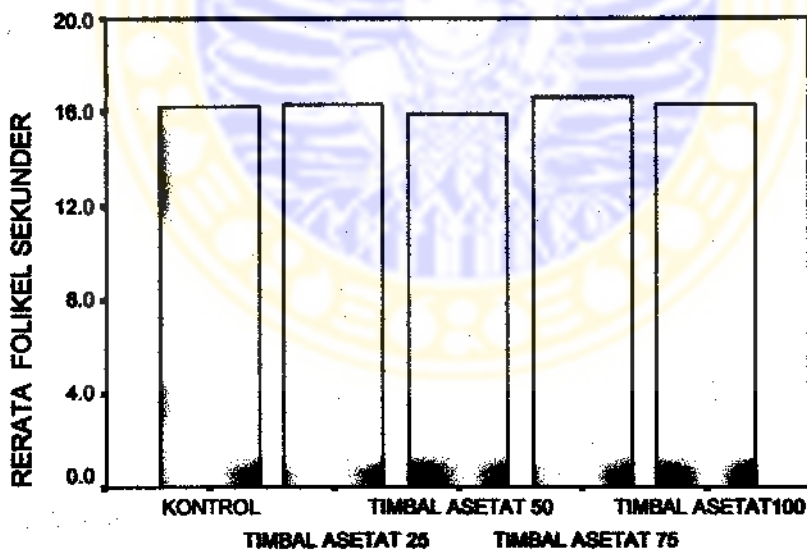
BERAT OVARIUM



Lanjutan lampiran 3.

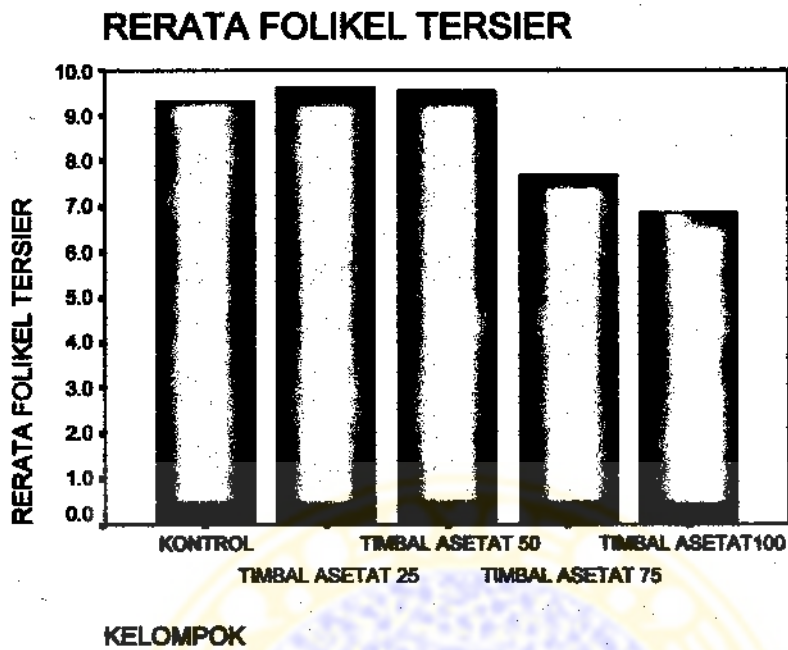
FOLIKEL PRIMER**RERATA FOLIKEL PRIMER**

KELOMPOK

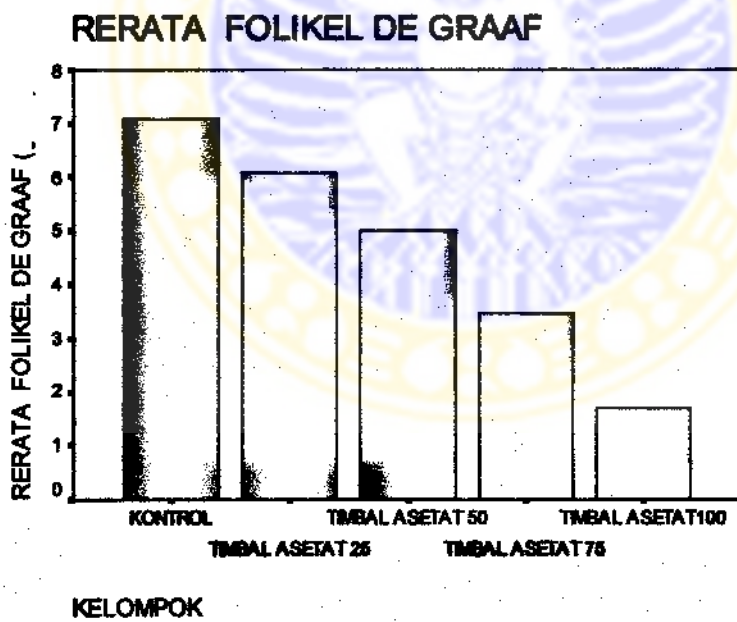
FOLIKEL SEKUNDER**RERATA FOLIKEL SEKUNDER**

KELOMPOK

FOLIKEL TERSIER



FOLIKEL DE GRAAF



Lanjutan lampiran 3.

Curve Fit

Dependent variable.. BO

Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,46313
 R Square ,21449
 Adjusted R Square ,20202
 Standard Error ,06234

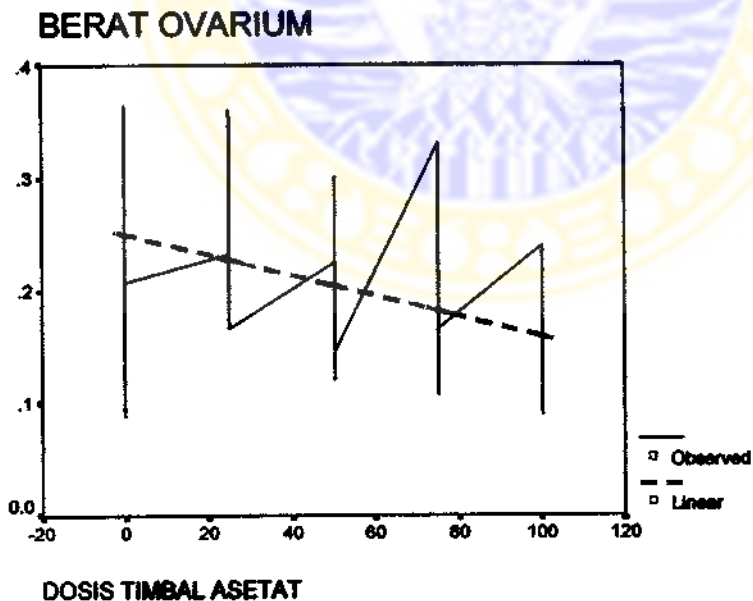
Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	,06685157	,06685157
Residuals	63	,24482622	,00388613

F = 17,20261 Signif F = ,0001

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig
DOS	-,000907	,000219	-,463130	-4,148	,0001
(Constant)	,249939	,013393		18,663	,0000



Lanjutan lampiran 3.

Dependent variable.. FOL_1

Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,19549
 R Square ,03822
 Adjusted R Square ,02295
 Standard Error 14,24613

Analysis of Variance:

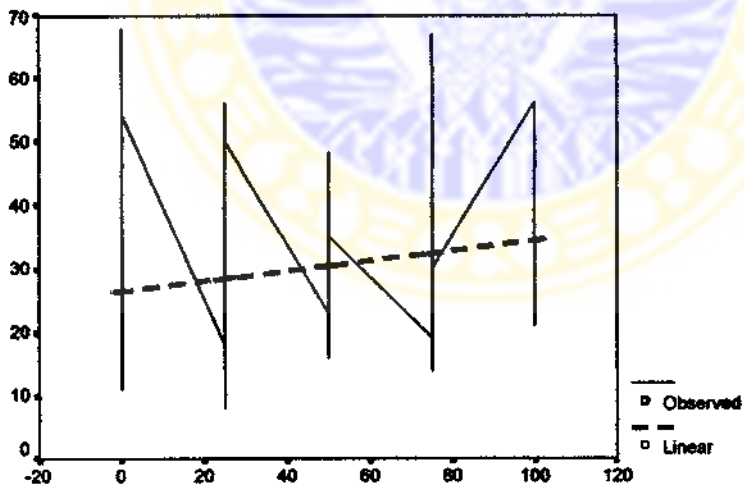
	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	508,069	508,06923
Residuals	63	12785,992	202,95226

F = 2,50339 Signif F = ,1186

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig
DOS	,079077	,049979	,195494	1,582	,1186
(Constant)	26,492308	3,060560		8,656	,0000

FOLIKEL PRIMER



DOSIS TIMBAL ASETAT

Lanjutan lampiran 3.

Dependent variable.. FOL_2

Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,01271
 R Square ,00016
 Adjusted R Square -,01571
 Standard Error 5,21405

Analysis of Variance:

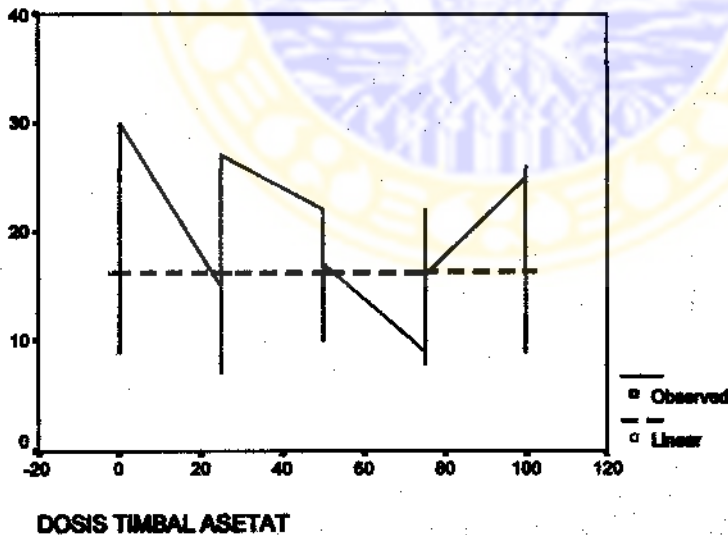
	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	,27692	,276923
Residuals	63	1712,73846	27,186325

F = ,01019 Signif F = ,9199

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig
DOS	,001846	,018292	,012714	,101	,9199
(Constant)	16,184615	1,120158		14,449	,0000

FOLIKEL SEKUNDER



Lanjutan lampiran 3.

Dependent variable.. FOL_3

Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,47365
R Square ,22434
Adjusted R Square ,21203
Standard Error 1,82865

Analysis of Variance:

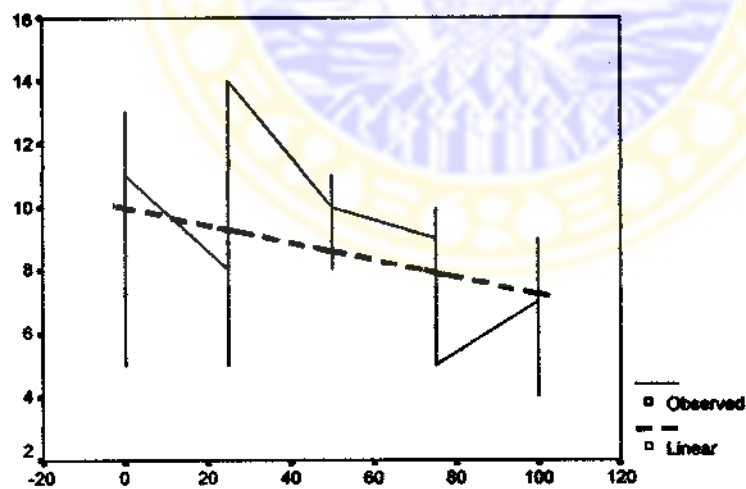
	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	60,93077	60,930769
Residuals	63	210,66923	3,343956

F = 18,22116 Signif F = ,0001

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig
DOS	-,027385	,006415	-,473646	-4,269	,0001
(Constant)	9,969231	,392857		25,376	,0000

FOLIKEL TERSIER



DOSIS TIMBAL ASETAT

Lanjutan lampiran 3.

Dependent variable.. FOL_DG

Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,82454
 R Square ,67987
 Adjusted R Square ,67479
 Standard Error 1,31934

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	232,89231	232,89231
Residuals	63	109,66154	1,74066

F = 133,79545 Signif F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable T	B	SE B	Beta	T	Sig
DOS	-,053538	,004629	-,824543	-11,567	,0000
(Constant)	7,338462	,283440		25,891	,0000

FOLIKEL DE GRAAF

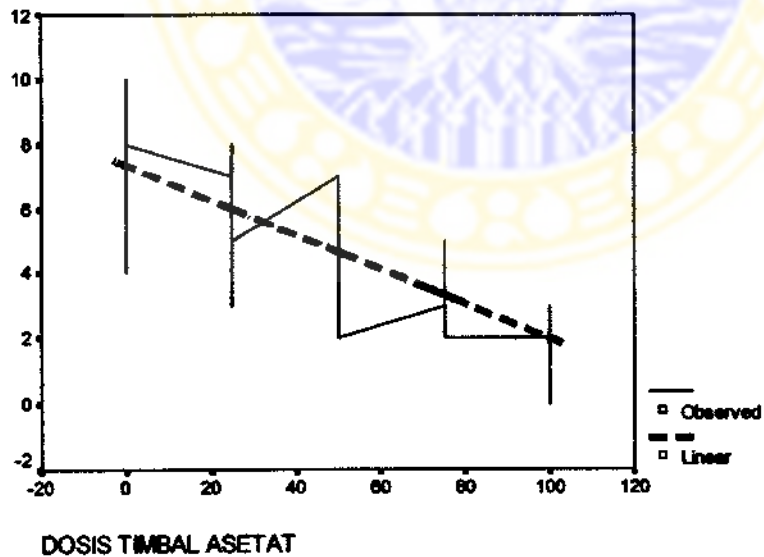


Foto Kelompok Kontrol



Gambar histopatologi ovarium dan folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit (*Mus musculus*)
Kelompok kontrol pembesaran 100 X, pewarnaan H.E.

**Foto Kelompok Perlakuan
Timbal asetat 25mg/kg/BB/hari**



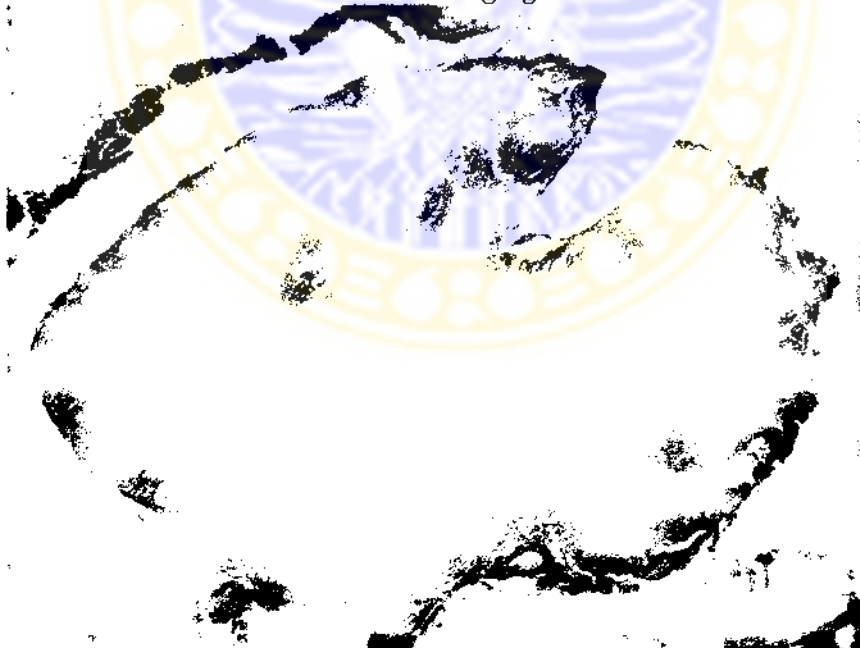
Gambar histopatologi ovarium dan folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit (*Mus musculus*)
Kelompok 25mg/kg/BB/hari, pembesaran 100 X, pewarnaan H.E.

**Foto Kelompok Perlakuan
Timbal asetat 50 mg/kg/BB/hari**



Gambar histopatologi ovarium dan folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit (*Mus musculus*)
Kelompok 50 mg/kg/BB/hari, pembesaran 100 X, pewarnaan H.E.

**Foto Kelompok Perlakuan
Timbal asetat 75 mg/kg/BB/hari**



Gambar histopatologi ovarium dan folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit (*Mus musculus*)
Kelompok 75 mg/kg/BB/hari, pembesaran 100 X, pewarnaan H.E.

Foto Kelompok Perlakuan

Timbal asetat 100 mg/kg/BB/hari



Gambar histopatologi ovarium dan folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf pada mencit (*Mus musculus*)
Kelompok 100 mg/kg/BB/hari, pembesaran 100 X, pewarnaan H.E.