

**PENGARUH PEMBERIAN Pb ASETAT PER ORAL TERHADAP
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN SEL SERTOLI
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

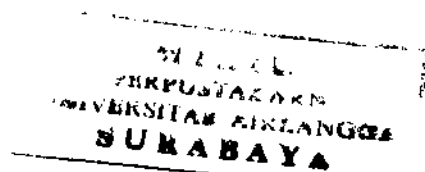
TKS 03/06
A/06
✓



MASAMAH ALMAHMUDAH

NIM : 090315001M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



**PENGARUH PEMBERIAN Pb ASETAT PER ORAL TERHADAP
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN SEL SERTOLI
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

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



Oleh :

MASAMAH ALMAHMUDAH

NIM : 090315001M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
TANGGAL 30 AGUSTUS 2006**

Telah diuji pada

Tanggal, 29 Agustus 2006

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. H. Agus Abadi, dr., Sp.OG.(K)

Anggota : 1. Dr. Hudi Winarso, dr., M.Kes., Sp.And.

2. Dr. Wurlina Meles, drh., MS.

3. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes.

4. Dr. Rina Judiwati, dr., MS.



UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur Alhamdulillah Robbil 'Alamain kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Hudi Winarso, dr., M.Kes., Sp.And., sebagai pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Wurlina Meles, drh., MS., sebagai pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan bimbingan dan saran.

Dengan selesainya tesis ini, maka kami ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. H. Fasichul Lisan, Apt., dan mantan rektor Prof. Dr. Med. H. Puruhito, atas kesempatan dan fasilitas dalam mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., atas kesempatan yang diberikan menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Prof. Dr. H. Agus Abadi, dr., Sp.OG(K), yang telah membantu dalam kelancaran proses pendidikan sampai terlaksananya ujian tesis.

Prof. Dr. Tjandrakirana, dr., M.Kes., Sp.And. yang telah memberikan saran dan masukan dengan tulus serta kesediaannya sebagai penguji.

Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes., selaku konsultan statistik yang telah memberikan arahan dan bimbingan hingga terselesaikannya tesis ini, serta kesediaannya sebagai penguji.

Direktur Politeknik Kesehatan Surabaya, Moh. Muchson, M.Sc.

Ketua Program Studi Keperawatan Soetomo Surabaya, Dwi Adji Norontoko, S.Kep.Ns. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.

Para Dosen Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi atas ilmu pengetahuan yang diberikan dan teman-teman Program Pendidikan Magister angkatan 2003, Siti Mustoeja, dr., M.Kes., Jean Syeny Rondowuwu, dr., M.Kes., Ni Ketut Alit Armuni, S.Kp. atas dukungan dan perhatiannya selama pembelajaran di Program Pascasarjana.

Rekan-rekan Dosen Prodi Keperawatan Soetomo Surabaya atas segala dukungannya.

Akhirnya kepada suamiku, H. Suprpto, B.Sc. dan ketiga anak-anak kami, Nurhayati Indah Mayarini, dr., Nuria Devi Maharani dan Nur Isa Bagus Pradana atas kesabaran dan keikhlasannya menemani dan mendukung hingga terselesaikannya program pendidikan ini.

Saya menyadari tesis ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun saya harapkan dari segala pihak. Semoga tesis ini bermanfaat bagi semua pihak. Amin.

Surabaya, 29 Agustus 2006
Penulis,

Masamah Almahmudah



RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Plumbum (Pb) Asetat per Oral terhadap Jumlah Sel Spermatogenik dan Sel Sertoli pada Mencit (*Mus Musculus*) Jantan

Masamah Almahmudah

Plumbum asetat (= lead, Pb, timah hitam, timbale) merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya dan beracun dan dapat berpengaruh terhadap sistem reproduksi pria. Pengaruh tersebut antara lain dapat menimbulkan kerusakan fungsi testis, menurunkan libido, mobilitas sel sperma, jumlah sel sperma dan kualitas sperma. Selain itu Plumbum dapat mengganggu spermatogenesis dan atropi testis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat per oral terhadap testis, khususnya terhadap berat testis, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah sel spermatosid, jumlah spermatid dan jumlah sel sertoli testis mencit (*mus musculus*) jantan Strain BALB-C.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Empat puluh ekor mencit (*mus musculus*) jantan dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 8 ekor. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol (P1), kelompok 2 diberikan Pb asetat 25 mg/kg BB/hari (P2), kelompok 3 diberikan 50 mg/kg BB/hari (P3), kelompok 4 diberikan 75 mg/kg BB/hari (P4), kelompok 5 diberikan 100 mg/kg BB/hari (P5). Pemberian perlakuan secara per oral dengan menggunakan sonde selama 14 hari. Pengambilan data dilakukan pada akhir perlakuan.

Hasil penelitian uji beda dengan anova pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada berat testis F hitung = 1,551 ($p = 0,209$), sehingga berat testis tidak berbeda secara bermakna.

Hasil uji beda dengan anova pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada diameter tubulus seminiferus adalah ($p = 0,000$), hasil uji perbandingan ganda dengan HSD adalah P5 dan P1 ($p = 0,000$), P4 dan P1 ($p = 0,000$), P3 dan P1 ($p = 0,000$), P2 dan P1 ($p = 0,001$), P5 dan P2 ($p = 0,000$), P4 dan P2 ($p = 0,000$), P3 dan P2 ($p = 0,000$), P5 dan P3 ($p = 0,000$), P4 dan P3 ($p = 0,000$), P5 dan P4 ($p = 0,000$), sehingga ada perbedaan secara bermakna antar semua kelompok.

Hasil uji beda dengan anova pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada tebal epitel tubulus seminiferus adalah ($p = 0,000$), hasil uji perbandingan ganda dengan HSD adalah P5 dan P1 ($p = 0,000$), P4 dan P1 ($p = 0,000$), P3 dan P1 ($p = 0,000$), P2 dan P1 ($p = 0,012$), P5 dan P2 ($p = 0,000$), P4 dan P2 ($p = 0,000$), P3 dan P2 ($p = 0,357$), P5 dan P3 ($p = 0,000$), P4 dan P3 ($p = 0,000$), P5 dan P4 ($p = 0,970$), sehingga ada perbedaan secara bermakna antar kelompok kecuali antara P2 dan P3 dan antara P4 dan P5.

Hasil uji beda dengan anova pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jumlah spermatisid adalah ($p = 0,000$), hasil uji perbandingan ganda dengan HSD adalah P5 dan P1 ($p = 0,000$), P4 dan P1 ($p = 0,000$), P3 dan P1 ($p = 0,000$), P2 dan P1 ($p = 0,001$), P5 dan P2 ($p = 0,000$), P4 dan P2 ($p = 0,000$), P3 dan P2 ($p = 0,000$), P5 dan P3 ($p = 0,000$), P4 dan P3 ($p = 0,000$), P5 dan P4 ($p = 0,000$), sehingga ada perbedaan secara bermakna antar kelompok.

Hasil uji beda dengan uji t pada jumlah spermatid (karena variasi data antar kelompok tidak homogen) P5 dan P1 didapatkan ($p = 0,000$), P4 dan P1 didapatkan ($p = 0,000$), P3 dan P1 didapatkan ($p = 0,000$), P2 dan P1 didapatkan ($p = 0,000$), P5 dan P2 didapatkan ($p = 0,000$), P4 dan P2 didapatkan ($p = 0,000$), P3 dan P2 didapatkan ($p = 0,000$), P5 dan P3 didapatkan ($p = 0,000$), P4 dan P3 didapatkan ($p = 0,001$), P5 dan P4 didapatkan ($p = 0,000$), sehingga ada perbedaan secara bermakna pada masing-masing kelompok.

Hasil uji beda dengan anova pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jumlah sel sertoli adalah ($p = 0,000$), hasil uji perbandingan ganda dengan HSD adalah P5 dan P1 ($p = 0,000$), P4 dan P1 ($p = 0,000$), P3 dan P1 ($p = 0,000$), P2 dan P1 ($p = 0,000$), P5 dan P2 ($p = 0,000$), P4 dan P2 ($p = 0,000$), P3 dan P2 ($p = 0,000$), P5 dan P3 ($p = 0,000$), P4 dan P3 ($p = 0,000$), P5 dan P4 ($p = 0,000$), sehingga ada perbedaan secara bermakna antar kelompok.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian Pb asetat per oral tidak berpengaruh terhadap berat testis, akan tetapi berpengaruh terhadap diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatisid, jumlah spermatid dan jumlah sel sertoli pada testis menciit.

Saran : perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap hormon androgen (testosteron) dan gonadotropin (FSH dan LH).

SUMMARY

THE EFFECT OF PLUMBUM ACETATE (LEAD) PER-ORAL ADMINISTRATION ON AMOUNT OF SPERMATOGENIC AND SERTOLI CELLS OF MICE (*Mus Musculus*) SHOWN

Masamah Almahmudah

Plumbum acetate (Pb; lead; timbale) is a heavy metal classified B3 (danger and poison) acetate (= lead, Pb, timah hitam, timbale) can influence on male reproduction organ. The influent can destroy testis function, decrease of libido, decreased of sperm cells mobility. On the other hand, Plumbum can disturb spermatogenesis and atrophy of testis.

The purpose this study was to know how the effect of Plumbum acetate (Lead) per-oral administration on histology testis of mice (*mus musculus*) Strain BALB-C, especially on weight of testis, diameter and thickness of tubulus seminiferus ephitel, amount of spermatocid, spermatid and sertoli cells.

The study was experimental laboratories research using Post Test Only Control Group Design. A number of forty male 4 weeks old BALB/C strain mice (*mus musculus*) were divided into five groups, each consist of 8 mice. Group 1 served as control group (P1), group 2 (P2) was given Plumbum acetate (=Lead; Pb. acetate) 25mg/BW/day, group 3 (P3) was given 50mg/BW/day, group 4 (P4) was given 75mg/BW/day, group 5 (P5) was given 100mg/BW/day (P5). Treatment using tube for 14 days.

The result of discriminates test using ANOVA on the dependent variable for weight of testis was $p = 0,209$ between control group and treatment groups so that no significantly different.

The result of discriminates test using ANOVA on the dependent variable for diameter of tubulus seminiferus was $p = 0,000$ between control group (P1) and treatment groups (P2, P3, P4 and P5). The result for HSD were P5 and P1 ($p = 0,000$), P4 and P1 ($p = 0,000$), P3 and P1 ($p = 0,000$), P2 and P1 ($p = 0,001$), P5 and P2 ($p = 0,000$), P4 and P2 ($p = 0,000$), P3 and P2 ($p = 0,000$), P5 and P3 ($p = 0,000$), P4 and P3 ($p = 0,000$), P5 and P4 ($p = 0,000$), there was significantly different among the groups.

The result of discriminates test using ANOVA on the dependent variable for thickness of tubulus seminiferus was $p = 0,000$ between control group and treatment groups. The result for HSD were P5 and P1 ($p = 0,000$), P4 and P1 ($p = 0,000$), P3 and P1 ($p = 0,000$), P2 and P1 ($p = 0,012$), P5 and P2 ($p = 0,000$), P4 and P2 ($p = 0,000$), P3 and P2 ($p = 0,357$), P5 and P3 ($p = 0,000$), P4 and P3 ($p =$

0,000), P5 and P4 ($p = 0,000$), there was significantly different among between the groups, except between P2 and P3, and between P4 and P5.

The result of discriminates test using ANOVA on the dependent variable for amount of spermatocyte cells was $p = 0,000$ between control group and treatment groups. The result for HSD are P5 and P1 ($p = 0,000$), P4 and P1 ($p = 0,000$), P3 and P1 ($p = 0,000$), P2 and P1 ($p = 0,001$), P5 and P2 ($p = 0,000$), P4 and P2 ($p = 0,000$), P3 and P2 ($p = 0,000$), P5 and P3 ($p = 0,000$), P4 and P3 ($p = 0,000$), P5 and P4 ($p = 0,000$), there was significantly different between control group and treatment groups.

The result of discriminates test using T test on the dependent variable for amount of spermatid cells were P5 and P1 ($p = 0,000$), between P4 and P1 ($p = 0,000$), P3 and P1 ($p = 0,000$), P2 and P1 ($p = 0,000$), P5 and P2 ($p = 0,000$), P4 and P2 ($p = 0,000$), P3 and P2 ($p = 0,000$), P5 and P3 ($p = 0,000$), P4 and P3 ($p = 0,001$), P5 and P4 ($p = 0,000$), there was significantly different between control group and treatment groups.

The result of discriminates test using ANOVA on the dependent variable for amount of sertoli cells was $p = 0,000$ between control group and treatment groups. The result for HSD are P5 and P1 ($p = 0,000$), P4 and P1 ($p = 0,000$), P3 and P1 ($p = 0,000$), P2 and P1 ($p = 0,000$), P5 and P2 ($p = 0,000$), P4 and P2 ($p = 0,000$), P3 and P2 ($p = 0,000$), P5 and P3 ($p = 0,000$), P4 and P3 ($p = 0,000$), P5 and P4 ($p = 0,000$), there was significantly different between control group and treatment groups.

In conclusion, lead could caused significantly effect for diameter and thickness of tubulus seminiferus epithel, amount of spermatocite, spermatid and sertoli cells, but no significantly different for weight of testis.

Suggestion: more research for androgen hormone (testosterone) and gonadotropin hormone (FSH and LH).

ABSTRACT

The Effect of Plumbum (Pb) Acetate per Oral on The Spermatogenic Cells and Sertoli Cells in Male Mice (*Mus Musculus*)

Masamah Almahmudah

Plumbum (Pb) Asetat or lead is a heavy metal classified B3 (danger and poison) that used and found in daily. Accumulated Pb may effect to organs. The objective of this study was to evaluate the effect of Pb asetat on testicular weight, diameter and thickness of testicular seminiferous tubule epithelium, count of spermatocyte cells, spermatoid and sertoli cells in male mice. This was a laboratory experimental study with completely randomized design.

The fourthy male mice (*Mus musculus*) was devided into five groups (P1, P2, P3, P4, P5). Each groups consists of eight male mice in random. The first group was given aquadest (control group), and others was given Pb Acetate : 25 mg/ 50 mg/ 75 mg/ 100 mg/kg BW/ day for 2 weeks.

The result was decreased the weight of testis, decreased of diameter and thickness of testicular seminiferus tubule epithelium, decreased the count of spermatocit and spermatid, and sertoli cells.

The differences between group of treatment and control was statistically significant ($p < 0,005$).

In conclusion was no influence Pb to weight of testis. But Pb make influenced to diameter and thickness of testicular seminiferous tubule epithelium, the account of spermatocite, spermatid, and sertoli cells.

Key words: Plumbum (Pb) Acetate, weight of testis, diameter and thickness of seminiferous tubule epithelium, spermatocite cells, spermatid cells, sertoli cells.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terimakasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstrak	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR DIAGRAM	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tentang Plumbum	7
2.1.1 Sumber Plumbum	8
2.1.2 Penyebaran Plumbum di Lingkungan	10
2.1.3 Distribusi Plumbum di Dalam Tubuh	15
2.2 Tinjauan Tentang Sistem Reproduksi Jantan	16
2.3 Spermatogenesis	17
2.4 Struktur Tubulus Seminiferus	20
2.5 Pengendalian Aktivitas Spermatogenesis	23
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	31
3.1 Kerangka Konseptual	31
3.2 Hipotesis Penelitian	34
BAB 4 METODE PENELITIAN	35
4.1 Rancangan Penelitian	35
4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi	37
4.3 Variabel Penelitian	38
4.3.1 Klasifikasi Variabel	38
4.3.2 Definisi Operasional	38
4.4 Bahan Penelitian	41

4.4.1	Bahan Perlakuan	41
4.4.2	Bahan Pemeriksaan	41
4.5	Instrumen Penelitian	41
4.5.1	Alat Untuk Pemeliharaan Mencit	41
4.5.2	Alat Untuk Pembiusan dan Pengambilan Jaringan Testis	42
4.5.3	Alat Untuk Pembuatan dan Pengecatan Sediaan Histologis Testis	42
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.7	Prosedur Pengumpulan Data	43
4.7.1	Prosedur Pelaksanaan Penelitian	43
4.7.2	Etika Penelitian	44
4.7.3	Pembuatan Preparat Histologis	44
4.7.4	Teknik Pengumpulan Data	45
4.8	Tehnik Analisa Data	45
BAB 5	HASIL DAN ANALISA DATA	47
5.1	Hasil Penelitian	47
5.1.1	Hasil Deskripsi Data	47
5.1.2	Hasil Pengujian Normalitas Distribusi Data	51
5.1.3	Homogeitas Varians	52
5.1.4	Pengaruh Pb Asetat terhadap Berat Testis	52
5.1.5	Pengaruh Pb Asetat terhadap Diameter Tubulus Seminiferus	54
5.1.6	Pengaruh Pb Asetat terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	55
5.1.7	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Spermatisid	57
5.1.8	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Spermatid	58
5.1.9	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Sertoli	59
BAB 6	PEMBAHASAN	61
6.1	Pengaruh Pb Asetat terhadap Berat Testis	61
6.2	Pengaruh Pb Asetat terhadap Diameter Tubulus Seminiferus	63
6.3	Pengaruh Pb Asetat terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	64
6.4	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Spermatisid	65
6.5	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Spermatid	67
6.6	Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Sertoli	68
BAB 7	PENUTUP	69
7.1	Kesimpulan	69
7.2	Saran	69
DAFTAR	KEPUSTAKAAN	70
LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1	Skema Perlakuan 36
Tabel 5.1	Rata-rata Berat Testis Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari..... 48
Tabel 5.2	Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari (micrometer)..... 48
Tabel 5.3	Rata-rata Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari (micrometer)..... 49
Tabel 5.4	Jumlah Rata-rata Spermatisid Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari 50
Tabel 5.5	Jumlah Rata-rata Spermatid Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari 50
Tabel 5.6	Jumlah Sel Sertoli Mencit Setelah Pemberian Pb Asetat per Oral Selama 14 hari 51
Tabel 5.7	Tingkat Signifikasi Perbedaan Antar Kelompok Diameter Tubulus Seminiferus dengan HSD..... 54
Tabel 5.8	Tingkat Signifikasi Perbedaan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Antar Kelompok dengan HSD 55
Tabel 5.9	Tingkat Signifikasi Perbedaan Jumlah Spermatisit Tubulus Seminiferus Antar Kelompok 57
Tabel 5.10	Tingkat Signifikasi Perbedaan Jumlah Spermatid Antar Kelompok 58
Tabel 5.11	Tingkat Signifikasi Perbedaan Jumlah Sel Sertoli Antar Kelompok 60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik yang terbentuk pada tiap tahap spermatogenesis (Gilbert, 1991)	19
Gambar 2.2 Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel tertentu (baris) A = Spermatogonium jenis A; In = Spermatogonium jenis antara; B = Spermatogonium jenis B; R = Spermatisit primer tahap Praleptoten; L = Spermatisit primer tahap leptoten; z = Spermatisit tahap zigoten; p = Spermatisit tahap pakiten; Di = Spermatisit tahap diploten; II = Spermatisit sekunder; Angka romawi menunjukkan tahap (jenis Asosiasi sel) dalam satu siklus epithelium (Tienhoven, 1983)	23
Gambar 2.3 Hubungan antara hipotalamus, hipofisis anterior dan testis dalam menunjukkan pengaruh memacu dan garis putus-putus pengaruh menghambat (Ganong, 1993)	24
Gambar 2.4 Kontrol Hipotalamik-pituitari dari release prolaktin. DA = Dopamin; PIF = Prolactin Inhibiting Factor; FSHRF = Follicle Stimulatong Hormone Releasing Factor; LHRF = Luteinizing Hormone Releasing Factor (Kruk and Pycock, 1983)	29
Gambar 3.1 Diagram alur kerangka konsep penelitian	33

DAFTAR DIAGRAM

	Halaman
Diagram 5.1 Diagram Rata-rata Berat Testis.....	53
Diagram 5.2 Diagram Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus Mencit terhadap Dosis Pb Asetat.....	55
Diagram 5.3 Diagram Rata-rata Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit terhadap Dosis Pb Asetat.....	56
Diagram 5.4 Diagram Rata-rata Jumlah Spermatisid Tubulus Seminiferus Mencit Terhadap Dosis Pb Asetat.....	58
Diagram 5.5 Diagram Rata-rata Jumlah Spermatid Tubulus Seminiferus Mencit Terhadap Dosis Pb Asetat.....	59
Diagram 5.6 Diagram Rata-rata Jumlah Sel Sertoli Tubulus Seminiferus Mencit Terhadap Dosis Pb Asetat.....	60



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pembuatan Preparat Histologis.....	74
Lampiran 2 Skema Pelaksanaan Perlakuan Penelitian.....	76
Lampiran 3 Berat Testis, Diameter dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit.....	77
Lampiran 4 Jumlah Spermatisid, Spermatid dan Sel Sertoli dalam Tubulus Seminiferus Mencit.....	78
Lampiran 5 Hasil Analisa Anova Satu Arah Pengaruh Pemberian Pb Asetat per Oral Terhadap Berat Testis, Diameter Tubulus Seminiferus, Tebal Epitel Tubulus Seminiferus, Jumlah Spermatisid dan Jumlah Sel Sertoli.....	79
Lampiran 6 Tingkat Signifikasi Perbedaan Antar Kelompok (HSD) Berat Testis, Diameter Tubulus Seminiferus, Tebal Epitel Tubulus Seminiferus, Jumlah Spermatisid dan Jumlah Sel Sertoli.....	81
Lampiran 7 Tingkat Signifikasi Perbedaan Jumlah Spermatid Rata-Rata Antar Kelompok dengan Uji T.....	85
Lampiran 8 Gambar Penampang Melintang dan Struktur Histologi Tubulus Seminiferus Kelompok Kontrol.....	90
Lampiran 9 Gambar Penampang Melintang dan Struktur Histologi Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Pb Asetat 25 mg/kgBB/hari.....	91
Lampiran 10 Gambar Penampang Melintang dan Struktur Histologi Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Pb Asetat 50 mg/kgBB/hari.....	92
Lampiran 11 Gambar Penampang Melintang dan Struktur Histologi Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Pb Asetat 75 mg/kgBB/hari.....	93
Lampiran 12 Gambar Penampang Melintang dan Struktur Histologi Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Pb Asetat 100 mg/kgBB/hari.....	94
Lampiran 13 Berita Acara Perbaikan Tesis.....	95

DAFTAR SINGKATAN

ABP	:	Androgen Binding Protein
ALAD	:	Asam Amino Levulinat Dehidratase
DHT	:	Dihydro Testosteron
FSH	:	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	:	Gonadotropin Releasing Hormone
HA	:	Hipofisis Anterior
HF	:	Hipofise
HSD	:	Honestly Significant Difference
HT	:	Hipotalamus
LH	:	Luteinising Hormone
PIF	:	Prolactin Inhibiting Factor
TSH	:	Tirotropin Stimulating Hormon
Pb	:	Plumbum



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perkembangan di bidang industri yang selalu meningkat dari tahun ke tahun akan berdampak terhadap manusia dan lingkungannya. Dampak positif adalah dampak yang memberikan keuntungan bagi kehidupan manusia dan lingkungan, serta meningkatkan kesejahteraan manusia. Adapun dampak negatif adalah dampak yang menimbulkan kerugian bagi manusia dan lingkungan, yaitu kerugian langsung maupun kerugian tidak langsung bahkan kerugian yang tertunda.

Pengolahan sumber daya alam memerlukan pabrik berskala besar, antara lain : pabrik bahan baku untuk pembuatan sandang, pangan, rumah, kemasan, kosmetik, pestisida, logam, kimia dan sebagainya. Pabrik-pabrik tersebut menghasilkan limbah yang dapat menimbulkan pencemaran pada lingkungan, termasuk tanah, air, maupun udara.

Pencemaran lingkungan hakikatnya adalah peningkatan kadar suatu "bahan" ke dalam lingkungan akibat kegiatan atau aktivitas manusia, di mana perubahan tersebut berlangsung sedemikian rupa sehingga mengakibatkan ancaman atau gangguan terhadap proses kehidupan manusia dalam lingkungan tersebut (Amsyari, 1995). Hasil limbah industri yang terbuang ke sungai atau air mengalir, merupakan sumber pencemaran yang dapat menimbulkan dampak

pencemaran, karena air merupakan unsur penting bagi kehidupan makhluk hidup, selain merupakan media kehidupan bagi hewan dan tumbuhan air.

Limbah umumnya dibagi menjadi tiga macam yaitu: limbah cair, limbah padat, limbah gas. Limbah dapat terbuang ke tanah, perairan atau udara. Apabila limbah tersebut memasuki lingkungan dan mengakibatkan terjadi perubahan keseimbangan lingkungan, maka terjadilah pencemaran lingkungan. Secara umum pencemaran lingkungan meliputi pencemaran tanah, air, dan udara yang dapat disebabkan oleh masuknya limbah padat, cair dan gas (Murtadho dan Sa'id, 1988).

Limbah bahan berbahaya dan beracun (B_3) merupakan bahan yang sangat beracun bagi manusia dan makhluk hidup lainnya. Salah satu bentuk B_3 adalah timah hitam atau timbal (Plumbum = Pb) adalah salah satu logam berat termasuk dalam klasifikasi B_3 yang memerlukan perhatian khusus karena dampak yang ditimbulkan terhadap kesehatan manusia (Sudarmaji, 1999). Timah hitam terdapat di alam sebagai sulfid (PbS), karbonat ($PbCO_3$) dan sulfat ($PbSO_4$) (Darmono, 1983). Timah merupakan logam yang tidak dapat dipengaruhi oleh udara (biarpun dalam keadaan lembab), maka timah banyak digunakan untuk melapisi tembaga atau besi, agar kedua logam tersebut tidak dioksidasi oleh udara. Selain itu timah juga dipakai sebagai logam campuran seperti perunggu, solder, huruf percetakan pembungkus kabel dan pelapis baterai (Adiwisastra, 1987).

Pencemaran Pb yang ditimbulkan oleh manusia mempengaruhi kandungan Pb pada tanaman dan hewan. Konsentrasi timah di udara di kota besar dengan lalu lintas padat bervariasi dari 2-4 $\mu g/m^3$, di luar kota kurang dari 0,2 $\mu g/m^3$ dan di

pedesaan sangat kecil (WHO, 1977). Menurut Fardiaz (2000), konsentrasi Pb di udara, di perkotaan berkisar 5-50 kali dari daerah pedesaan, semakin jauh dari perkotaan, maka konsentrasi Pb di udara semakin rendah.

Logam berat Pb di udara, berasal dari pabrik atau industri semen, pembakaran sampah, logam (Pacyna, 1983); industri pertambangan dan peleburan (Cornell dan Miller, 1995); industri aki, baterai, alat listrik, cat, tinta (Darmono, 1995) dan dari pembakaran bahan aditif bensin dari kendaraan bermotor yang terdiri dari tetra etil Pb dan tetrametil Pb (WHO, 1989). Hal ini menyebabkan bahan pangan alami di daerah pertanian yang dekat dengan jalan raya pada umumnya mempunyai kandungan Pb lebih tinggi dibandingkan dengan hasil pertanian yang dipanen di daerah yang jauh dari jalan raya (Fardiaz, 2000).

Konsentrasi Pb pada air minum umumnya kurang dari 10 µg/liter, namun di beberapa tempat yang kandungan calcium dan magnesiumnya rendah serta menggunakan tangki air dan jaringan pipa yang mengandung Pb, konsentrasinya dapat mencapai 2.000-3.000 µg/liter. Konsentrasi Pb lingkungan yang tinggi dapat dideteksi dari kandungan Pb yang tinggi di dalam darah (WHO, 1977).

Masuknya Pb ke dalam tubuh biasanya melalui oral atau mulut seperti makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh Pb, melalui inhalasi atau pernafasan seperti asap pabrik buangan limbah, dan melalui kontak dengan kulit (Darmono, 1995). Logam berat Pb dalam segala bentuk bersifat racun dan membahayakan kesehatan tubuh, sebab keracunan Pb bersifat kumulatif dan menyebabkan toksisitas pada organ tubuh, seperti hati, ginjal, otak, kelenjar

endokrin, organ reproduksi, tulang dan rongga mulut (Palar, 1994, Darmono, 1995 dan Robbins, 1999).

Berdasarkan WHO (1980), timbal dosis tinggi pada pria akan melemahkan reproduksi, hal ini dibuktikan dengan bertambahnya frekuensi asthenospermia, hypospermia dan teratospermia. Bondc (1993) dan Winder (1996) melaporkan bahwa pengaruh Plumbum terhadap fungsi reproduksi pria antara lain adalah dapat menurunkan libido, motilitas sel sperma dan jumlah sel sperma, menyebabkan kerusakan kromosom, inferlitas dan menurunkan kualitas sperma. Selain itu Plumbum dapat mengganggu spermatogenesis dan atrofi testis (Lu, 1995). Danial (2005) melaporkan bahwa timbal dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB dan dosis 100 mg/kg BB dapat menyebabkan terjadinya penurunan berat testis, pengurangan diameter tubulus seminiferus dan pengurangan tebal epitel tubulus seminiferus pada testis mencit jantan.

Dari informasi tersebut perlu pembuktian dampak negatif akibat logam berat Pb asetat terhadap organ reproduksi hewan coba mencit jantan (*Mus Musculus*) secara peroral. Alasan digunakan hewan coba mencit adalah hewan tersebut mudah diperoleh, pemeliharaannya mudah, harga relatif murah, dan dewasa kelaminnya cepat.

1.2. Rumusan Masalah

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

1. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap berat testis mencit jantan?

2. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus mencit jantan?
3. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap tebal epitel tubulus seminiferus mencit jantan?
4. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus testis mencit jantan?
5. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus testis mencit jantan?
6. Apakah pemberian Pb asetat berpengaruh terhadap jumlah sel sertoli pada tubulus seminiferus testis mencit jantan?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh Pb Asetat terhadap organ reproduksi mencit jantan.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap berat testis mencit jantan.
2. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan.
3. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap tebal epitel tubulus seminiferus mencit jantan.
4. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus mencit jantan.

5. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit jantan.
6. Mengetahui pengaruh pemberian Pb asetat terhadap jumlah sel sertoli pada tubulus seminiferus testis mencit jantan.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memahami dasar untuk :

- 1.4.1 Menentukan dosis minimal Pb asetat yang menyebabkan gangguan pada spermatogenesis mencit jantan.
- 1.4.2 Memberikan informasi kepada masyarakat dan pengusaha industri agar lebih bijaksana dalam menangani limbah Pb, karena efek toksisitas terhadap organ reproduksi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Plumbum (Pb)

Timbal dikenal dengan nama plumbum (Pb), timah hitam atau lead, plumbum mempunyai karakteristik sebagai logam yang lunak berwarna abu-abu, merupakan logam padat dengan permukaan lembek, dapat ditempa, mudah dipotong dan dibentuk, tahan terhadap korosi sehingga banyak digunakan dalam kemasan makanan kaleng (Filov, 1993, Lu, 1995, Mukono, 2002).

Plumbum sangat populer dan dikenal karena banyaknya plumbum yang digunakan di pabrik dan dapat menimbulkan keracunan makhluk hidup bukan karena pentingnya dalam metabolisme tubuh (Darmono, 1995).

Penggunaan Pb dalam industri, sebagai tambahan bahan bakar dan cat merupakan penyebab utama terjadinya peningkatan kadar Pb di lingkungan, namun sekarang telah dihentikan sedangkan penggunaan dalam aki mobil dan kabel tidak banyak berkurang. Air minum dapat tercemar Pb karena penggunaan pipa berlapis timbal dan pipa PVC, dan peralatan makan keramik berglassur merupakan sumber Pb yang lain. Bagi kebanyakan orang, sumber utama asupan Pb adalah makanan yang biasanya menyumbang 100-300 µg per hari (Lu, 1995).

2.1.1. Sumber Plumbum

Pb yang ada di alam dapat diperoleh dari berbagai sumber yaitu plumbum 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 Pb lebih sedikit dari pada tanah yang bersifat alkali. Konsentrasi Pb di tanah yang jauh dari aktivitas manusia adalah antara 5-25 mg/kg.

c) Air

Analisis air bawah tanah yang telah disaring menunjukkan konsentrasi Pb yang bervariasi antara 1-60 µg/l. kandungan Pb 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 (1965), kadar timah hitam di udara sebesar 0,0006 µg/m³, sedangkan penelitian di daerah tanpa penghuni di pegunungan California (USA), menunjukkan kadar timah hitam (Pb) sebesar 0,008 µg/m³.

e) **Tanaman**

Pb secara alami terdapat pada semua tanaman, dimana konsentrasi normal pada buah dan gandum diperkirakan sekitar 0,1-1,0 mg/kg berat kering. Menurut Warran dan Delavault (1962), kadar timah hitam pada dedaunan adalah 2,5 mg/kg berat daun kering.

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

Pb yang terdapat di lingkungan merupakan hasil dari kegiatan berikut :

a) **Tambang**

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

b) **Peleburan dan pemurnian**

Peleburan dan pemurnian untuk menghasilkan Pb kepingan, diproses dari kepingan baru yang diperoleh dari hasil tambang, atau mendaur ulang kepingan Pb yang sudah tidak dipergunakan. Peleburan biji Pb menghasilkan polusi di sekitarnya. Pengaruhnya pada udara dan tanah sekitar sangat bergantung pada besar dan tinggi cerobong, topografi, dan kondisi permukaan tanah sekitarnya. Pengeluaran asap akan menutupi daerah yang cukup luas. Zona pencemaran udara sebuah pabrik peleburan besar di Amerika dapat meluas sejauh 5 km, sedangkan kontaminasi tanah

dapat mencapai 10 km. Pencemaran yang berat juga terjadi pada aliran air sepanjang anak sungai (WHO, 1977).

2.1.2. Peyebaran Plumbum di Lingkungan

Timbal lebih tersebar luas dari pada kebanyakan logam toksik yang lain. Kadar Pb dalam lingkungan semakin meningkat karena proses penambangan, peleburan, pemurnian, dan berbagai penggunaan dalam industri. Penggunaan *Tetraethyl Pb* dan *Tetramethyl Pb* dipakai secara luas sebagai additif bahan bakar kendaraan bermotor, dimana zat tersebut merupakan cairan yang tidak berwarna. (WHO,1977; palar, 1994, Mukono, 2002).

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

Biasanya kadar Pb dalam tanah berkisar antara 5-25 mg/kg, dalam air tanah 1-60 µg/l dan kadarnya lebih rendah pada air yang terdapat permukaan di alam. Kadar di udara < 1µg/m³, tetapi dapat lebih tinggi di daerah industri dan di daerah yang lalulintasnya padat (Lu, 1995).

Derajat pencemaran plumbum berbeda pada setiap kota, tergantung pada kepadatan lalu lintas dan sebagian besar Pb mengkontaminasi daerah dekat jalan raya. Hewan dan tumbuhan yang hidup disekitar tempat pencemaran akan

mengandung kadar Pb lebih tinggi sebagai hasil paparan terhadap sumber pencemaran.

Pada tahun 1975 diperkirakan ± 300.000 ton dari pembakaran Pb 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 bercat yang mengandung Pb. Diperkirakan 50% cat mengelupas dari permukaannya dalam periode sekitar 7 tahun sebelum pengecatan berikutnya.

Penggunaan utama Pb 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 Pb karena penggunaan pipa berlapis timbal dan pipa PVC. Sumber utama asupan Pb adalah makanan yang biasa menyumbang 100-300 $\mu\text{g}/\text{hari}$. 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 Pb cukup tinggi antara lain makanan kemasan kaleng berlapis Pb atau keramik berlapis Pb. Susu yang di proses memiliki kandungan Pb lebih tinggi dibandingkan ASI maupun susu segar. Konsentrasinya bisa mencapai 5-12 $\mu\text{g}/\text{l}$, sehingga jika informasi ini benar, maka susu merupakan sumber Pb bagi bayi. Kontaminasi air minum, makanan, dan minuman yang dihasilkan dari pemakaian pipa Pb, pipa PVC, keramik mengkilap

dan kaleng yang dilapisi Pb dibawah kondisi tertentu dapat membahayakan kesehatan manusia (WHO, 1977).

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

Pencemaran Pb mempengaruhi kandungan Pb terhadap lingkungan. Kosentrasi Pb di udara, pada daerah perkotaan kemungkinan mencapai 5-50 kali dari pada di daerah-daerah pedesaan. Semakin jauh dari daerah perkotaan, maka semakin rendah kosentrasi Pb di udara.

Pencemaran Pb pada air minum umumnya kurang dari $10\mu\text{g}/\text{l}$, namun di beberapa tempat yang menggunakan pipa mengandung Pb kosentrasinya dapat mencapai $2000-3000 \mu\text{g}/\text{liter}$ dan konsentrasi Pb lingkungan yang tinggi terdeteksi tingginya kadar Pb di dalam darah.

Pengangkutan dan penyebaran Pb 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 Pb 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, 1977).

Pb berpindah dengan cepat dari air ke dalam tanah, air dapat menembus tanah dan lumpur, tetapi materi organik memiliki kemampuan besar dalam

mengikat Pb, sehingga konsentrasi Pb di dalam air biasa dan air minum pada umumnya rendah.

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

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

1. Melalui pernapasan

Udara ambient di pinggiran kota di negara barat dapat mencapai kadar Pb sebesar $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dan di dalam kota bisa 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 ke pembuluh darah paru. Tingkat penyerapan pembuluh dipengaruhi oleh ukuran partikel dan volume udara yang dihirup. Pb yang berbentuk uap, gas dan partikel Pb 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% Pb yang diserap akan berikatan dengan darah dari paru, kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh (WHO, 1977; Palar, 1994; Siswanto, 1994).

2. Melalui makanan

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

Pada setiap $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Pb yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui mulut, akan menghasilkan Pb darah sebesar $6-10\mu\text{g}/100\text{ml}$. Hasil penelitian Isidora (1990), menunjukkan bahwa kadar Pb 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).

Pb 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 Pb organik selain diserap melalui saluran napas juga diserap oleh kulit, sebagai contoh *tetraethyl Pb* dan *tetramethyl Pb*. 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 Pb di dalam Tubuh

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

Keracunan Pb dikenal sejak dahulu secara akut, gejala 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 kronis dari keracunan Pb adalah sebagai berikut :

- Pada saluran pencernaan terjadi kejang pada usus besar, mual, muntah, nafsu makan kurang, dan sembelit.
- Pada saluran perkemihan, terjadinya peradangan pada ginjal, kadar asam urat dalam meningkat, air seni mengandung glukosa, kadar asam amino dalam air seni meningkat, kadar urea dalam darah meningkat.
- Pada sistem syaraf 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 atropi syaraf penglihatan.

- Pada sistem reproduksi dapat terjadi penurunan tingkat kesuburan.
- Gejala lain akibat keracunan Pb adalah garis hitam pada gigi, kulit menjadi pucat, berat badan menurun, badan lemah, kelumpuhan pada otot pergelangan kaki dan tangan.

2.2. Tinjauan tentang Sistem Reproduksi Jantan

Organ reproduksi tikus jantan terdiri atas sepasang testis sebagai alat reproduksi primer yang dilengkapi dengan duktus genitalis serta kelenjar tambahan dan penis (Rough, 1968). Testis terletak dalam skrotum bersama dengan epididimis dan sebagian duktus deferensia. Skrotum berperan penting dalam mempertahankan suhu testis agar tetap berada di bawah suhu tubuh, kondisi ini diperlukan agar proses-proses spermatogenesis berjalan normal. Berat testis berkorelasi positif terhadap berat badan (Thwaites and Hannan, 1989).

Di dalam tubulus seminiferus diproduksi spermatozoa sebagai hasil pembelahan dari sel-sel epitel germinalis yang berurutan. Sel-sel tersebut membelah membentuk sel-sel baru yang segera didesak ke arah lumen tubulus seminiferus, selanjutnya mengembangkan ekor dan kelak menjadi spermatozoa yang bergerak bebas. Jadi pembelahan dan perkembangan sel berjalan dari perifer ke arah medial menuju lumen tubulus. Selama proses tersebut spermatozoa menerima makanan dari sel sertoli. Sel sertoli atau sel nutrien merupakan sel yang berbentuk panjang yang bagian dasarnya terletak pada lamina basalis, sedangkan apikalnya menjorok ke arah lumen tubulus (Rahayu, 1994).

Dari tubulus seminiferus spermatozoa berjalan menuju rete testis, duktus eferensia dan epididimis. Selama perjalanan, spermatozoa relatif tidak bergerak dan harus diangkut dengan kombinasi antara kontraksi otot dan aliran cairan (Dellmann and Brown, 1978).

Secara mikroskopis epididimis terdiri dari kepala, badan, dan ekor. Spermatozoa berada dalam epididimis selama 1-3 minggu dan selama waktu itu terjadi perubahan dalam penampilan, kemampuan gerak, ukuran dan fungsi metabolismenya. Vas deferens merupakan lanjutan dari duktus epididimis. Dari vas deferens spermatozoa bergerak ke uretra (Bevelander and Ramaley, 1988).

2.3. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah rangkaian peristiwa sitologi yang bertujuan menghasilkan spermatozoa masak dari spermatogonia. Pada mamalia, spermatogenesis berlangsung di dalam tubulus seminiferus testis dan berlangsung terus secara berkesinambungan sepanjang masa reproduksi (deKretser and Kerr, 1988). Waktu yang diperlukan untuk satu siklus spermatogenesis pada setiap spesies berbeda. Pada tikus putih diperlukan waktu antara 48-52 hari sedangkan pada mencit diperlukan waktu 34,5-35,5 hari (Raugh, 1968; Bennet and Vickery, 1970).

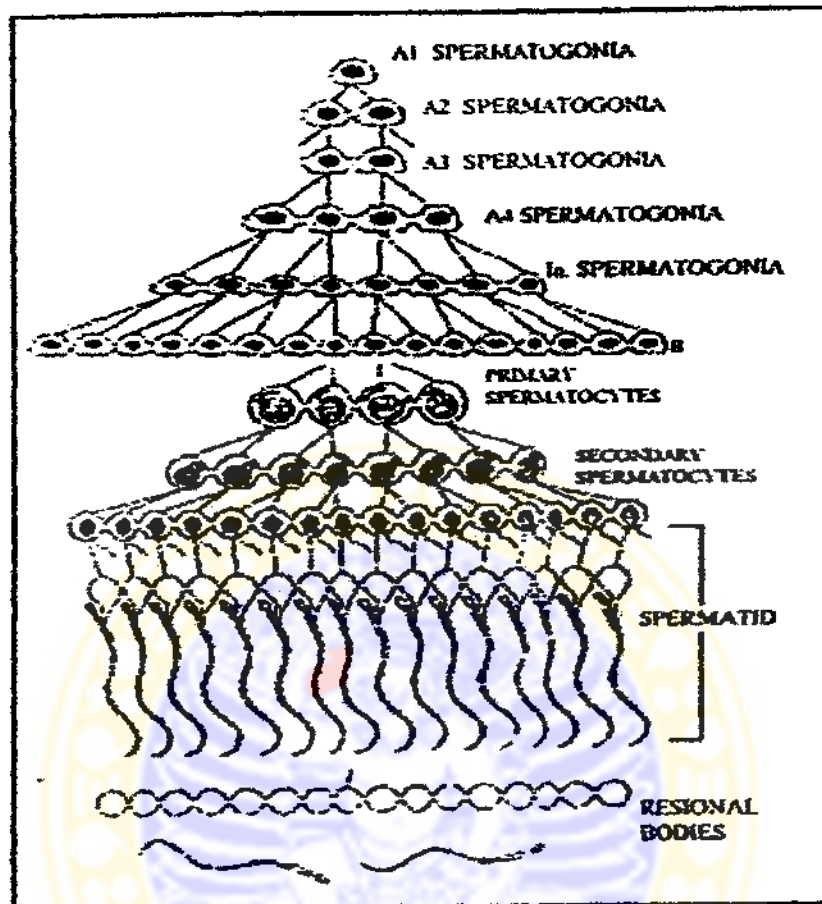
Tiga tahap utama yang terjadi dalam spermatogenesis adalah :

1. Perbanyakan spermatogonia melalui mitosis (spermatositogenesis)
2. Reduksi jumlah kromosom melalui meiosis

3. Transformasi sel menjadi spermatosit yang berstruktur kompleks melalui serangkaian perubahan tanpa disertai pembelahan sel (spermiogenesis) (deKretser and Kerr, 1988; Junquiera, et al.,1992)

Spermatogonia tikus dapat dibedakan atas spermatogonia A. *intermedia* (antara) dan spermatogonia B (Tienhoven, 1983; Ross and Reith, 1985; deKretser and Kerr, 1988). Spermatogonia A yang berkromosom diploid akan membelah empat kali membentuk spermatogonia antara yang kemudian akan mengalami mitosis satu kali membentuk spermatogonia B yang kemudian akan membelah satu kali lagi membentuk spermatosit primer yang siap melakukan pembelahan meiosis (resting spermatocytes atau spermatosit tahap praleptoten) (Ross and Reith, 1985) (Gambar 2.2). selain itu spermatogonia A juga mampu membentuk spermatogonia A baru dan membentuk populasi *stem cell* (Gilbert,1991).

Spermatosit primer tahap praleptoten akan segera masuk ke tahap pembelahan meiosis I, yang berurutan leptoten, zigoten, pakiten dan diploten. Pembelahan spermatosit primer akan menghasilkan spermatosit sekunder yang berkromosom haploid dengan kandungan DNA diploid (deKretser and Kerr, 1988). Segera setelah terbentuk spermatosit sekunder akan menyelesaikan pembelahan meiosis yang kedua (dengan proses pembelahan sama dengan mitosis) membentuk spermatid haploid (Ross and Reith, 1985).



Gambar 2.1 Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik yang terbentuk pada tiap tahap spermatogenesis (Gilbert, 1991).

Setelah itu spermatid mengalami proses diferensiasi yang kompleks yang dinamakan proses spermiogenesis yaitu perubahan dari spermatid menjadi spermatozoa. Pada tikus proses spermiogenesis dibagi menjadi 4 tahap yaitu :

Tahap Golgi

Pada tahap golgi terjadi pembentukan granula yang dinamakan granula akrosomal. Granula ini bersama kompleks golgi bergerak ke arah inti dan melekatkan diri ke bawah selaput inti.

Tahap Tudung

Lekatan pada selaput inti selanjutnya meluas dan melebar membentuk lipatan yang luas dan tebal pada permukaan inti dan akhirnya meliputi separoh atau dua bagian dari inti dan membentuk kerudung yang dinamakan tutup kepala (*head cup*).

Tahap Akrosom

Pada tahap ini sebagian besar akrosom tetap terletak pada kutub anterior inti, sedangkan sisa akrosom menyebar ke dalam tudung kepala. Selanjutnya baik inti maupun spermatid memanjang.

Tahap Pemasakan

Pada tahap maturasi sitoplasma bergeser ke arah flagela, sitoplasma yang tidak digunakan dalam pembentukan flagela dibuang sebagai residu. Pada saat yang bersamaan mitokondria lambat laun bergerak ke arah flagela dan menyusun membentuk spiral di bagian ekor dinamakan potongan spermatozoa (*middle piece*). Selanjutnya kromatin inti memadat membentuk massa yang padat dan homogen (Dellman and Brown, 1978).

2.4. Struktur Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus merupakan saluran-saluran halus panjang berkelok-kelok yang merupakan penyusun utama testis. Tubulus seminiferus dibatasi oleh lamina basalis jelas. Sel-sel penyusunan tubulus yang melekat langsung pada lamina basalis adalah spermatogonia A, spermatogonia antara dan sel Sertoli. Selanjutnya ke arah lumen terdapat berurutan sel-sel spermatogenik dalam tahap

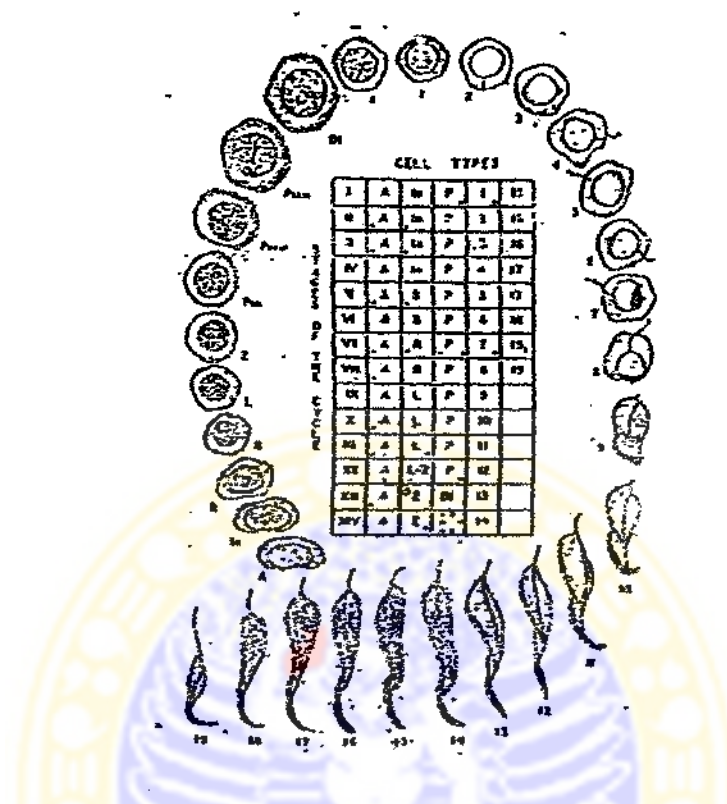
perkembangan lebih lanjut (spermatozoa berada paling dekat dengan lumen tubulus). Dari lamina basalis ke luar tubulus berturut-turut ditemukan sel-sel myoid atau peritubuler yang memiliki ciri otot polos dan beberapa lapis fibroblas (Ross and Reith, 1985). Spermatisit primer berbentuk sferik dengan nukleus menunjukkan beberapa tahap pembelahan. Spermatisit sekunder berbentuk sferik dengan nukleus sentrik dan mengandung jala-jala kromatin. Ukuran spermatisit sekunder antara ukuran spermatisit primer dan spermatid. Spermatid tahap awal berbentuk sferik dengan inti sferik terletak sentral; pada perkembangan selanjutnya bentuk dan letak inti berubah, inti terletak eksentrik (deKretser and Kerr, 1988).

Sel Sertoli berbentuk dasar kolumnar dengan proses apikal dan lateral yang mengisi ruang diantara sel spermatogenik, berinti ovoid atau trianguler. Sel Sertoli yang berdekatan dihubungkan oleh *tight junction* dan *gap junction* (Ross and Reith, 1985). Kompleks *junction* ini membentuk *blood testis barrier* yang melindungi sel spermatogenik yang sedang berkembang terhadap bahan-bahan yang bermolekul besar dan sebaliknya, mencegah masuknya produk aktivitas spermatogenesis ke dalam tubuh yang dapat membangkitkan reaksi imun (Ganong, 1993).

Di dalam ruang antara tubulus didapatkan sel interstitial atau sel Leydig (penghasil androgen), kapiler darah dan pembuluh limfe (DeKretser and Kerr, 1988). Di dalam tubulus, sel-sel spermatogenik dengan berbagai tahap perkembangan tidak terdistribusi secara acak tetapi "tertata" dengan pola asosiasi tertentu (Gambar 2.2). waktu antara penampakan asosiasi sel tertentu dengan

asosiasi sel yang sama berikutnya disebut satu siklus epitelium. Satu siklus epitelium tikus dapat dibedakan atas 14 jenis asosiasi sel dan memerlukan waktu sekitar 12,3 hari, sedangkan pada manusia dikenal adanya 7 tahap yang memerlukan waktu 16 hari. Perubahan sel yang berasosiasi pada tahap tertentu dapat dijadikan indikator adanya gangguan spermatogenesis (Tienhoven, 1983).

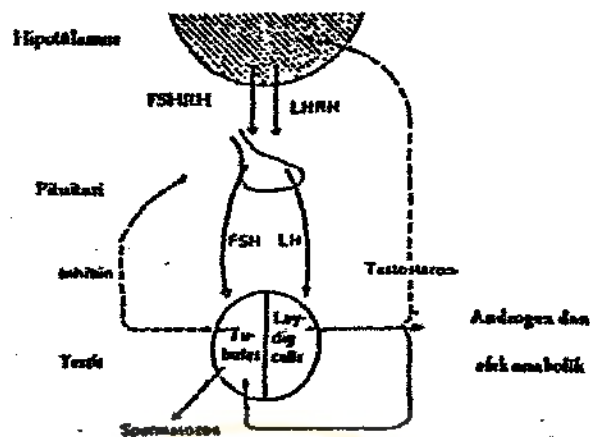
Jika terjadi penurunan stimulasi endokrin, sel akan beradaptasi dengan mereduksi komponen-komponen selnya dengan jalan meningkatkan aktivitas protease proteolitik sebagai mekanisme adaptasi (Robbins *et al*, 1984). Dalam keadaan demikian menurut Bardin *et al*, (1988) sel Sertoli akan mereduksi jumlah mitokondria dan retikulum endoplasmik. Kondisi kekurangan yang berkepanjangan akan mengakibatkan ukuran sel terus menyusut mengalami atrofi, sel Sertoli nampak pipih dengan inti pipih (*flattened*) dan bila dilihat dengan mikroskop elektron banyak ditemukan vakuolisasi di daerah kompleks junction antara sel Sertoli (deKretser and Kerr, 1988).



Gambar 2.2 Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel tertentu (baris). A=spermatogonium jenis A; In=spermatogonium jenis antara; B=spermatogonium jenis B; R=spermatosit primer tahap praleptoten; L=spermatosit primer tahap leptoten; z=spermatosit tahap zigoten; p=spermatosit tahap pakiten; Di=spermatosit tahap diploten; II=spermatosit sekunder; Angka romawi menunjukkan tahap (jenis asosiasi sel) dalam satu siklus epitelium (Tienhoven, 1983).

2.5. Pengendalian Aktivitas Spermatogenesis

Pengendalian aktivitas spermatogenesis melibatkan interaksi hormonal antara hipotalamus (sekresi *gonadotropin releasing hormone*/GnRH), hipofisis anterior (sekresi gonadotropin: *luteinizing hormone*/LH dan *follicle stimulating hormone*/FSH) dan sel-sel Leydig (sekresi androgen), Sertoli dan spermatogenik (Gambar 2.3) (Ganong, 1993)



Gambar 2.3 Hubungan antara hipotalamus, hipofisis anterior dan testis dalam menunjukkan pengaruh memacu dan garis putus-putus pengaruh menghambat (Ganong, 1993).

GnRH bekerja pada hipofisis anterior, memicu sekresi FSH dan LH. FSH bekerja pada sel Sertoli dan bersama-sama dengan androgen memelihara fungsi gametogenik testis. Inhibin yang dihasilkan sel sertoli dibawah pengaruh FSH memberikan umpan balik menghambat sekresi FSH. LH bekerja pada sel Leydig, merangsang sekresi testoteron yang akan memberikan umpan balik menghambat sekresi LH (Ganong, 1993).

Menurut Kovacic (1970) testis melakukan 2 fungsi yang saling mendukung yakni produksi spermatozoa dan sekresi hormon steroid. Hormon steroid yang diproduksi oleh testis adalah androgen. Sebagian besar dari androgen ini berbentuk testoteron. Menurut Nalbandov (1990) terdapat kolerasi positif antara berat testis dengan produksi testoteron. Selain testis androgen juga diproduksi oleh korteks adrenal dan ovarium. Seluruh hormon tersebut baik yang berasal dari testis, ovarium maupun dari korteks adrenal ternyata diproduksi melalui jalur yang sama.

Hipotalamus menghasilkan GnRH yang berguna untuk merangsang produksi gonadotropin sedangkan gonadotropin yang diproduksi hipofisis anterior terdiri dari FSH dan LH. LH berpengaruh terhadap sel Leydig untuk menghasilkan androgen. FSH bekerjasama dengan testosteron merangsang pembentukan spermatozoa.

Androgen mempengaruhi epitel germinal tubuli testis dan dengan demikian mempengaruhi proses spermatogenesis, sedangkan kimiawi cairan semen ditentukan melalui efeknya terhadap kelenjar kelamin tambahan. Kadar LH dalam darah mamalia jantan relatif tetap. Testosteron terikat pada reseptor dalam tubuli testis dan kelenjar tambahan. Sel sertoli menghasilkan protein pengikat androgen (ABP) atas rangsangan FSH. ABP memiliki afinitas tinggi terhadap testosteron dan dehidrotestosteron, berfungsi mengangkut androgen tersebut serta menahannya dalam tubulus seminiferus testis. Selanjutnya androgen akan menyebabkan terjadinya proliferasi sel Sertoli memiliki kemampuan menghambat produksi FSH (Adimoelya, 1987).

Testosteron disekresikan ke dalam kapilar darah atau limfe atau masuk ke tubulus seminiferus melalui sel-sel peritubuler. Testosteron masuk ke sel Sertoli kemungkinan dengan transpor aktif atau difusi bersyarat (*facilitated diffusion*) (Hadley, 1992). Di dalam sirkulasi, baik testosteron maupun androgen lain terdapat dalam bentuk terikat dengan protein plasma. Di dalam testis, kadar testosteron \pm 200 kali lebih besar dari kadar dalam sirkulasi dan didapatkan dalam bentuk terikat dengan ABP (Ross and Reith, 1985).

Testosteron, seperti juga steroid yang lain mengawali aksinya dalam sel dengan membentuk kompleks ikatan reseptor intraseluler. Reseptor androgen berada di nukleus. Testosteron bebas akan masuk ke dalam nukleus dan berikatan dengan reseptor. Terikatnya testosteron ke reseptor menyebabkan teraktivasinya kompleks reseptor-testosteron yang kemudian akan mampu mengikat diri pada *acceptorsites* pada DNA. Ikatan kompleks teraktivasi dengan DNA menyebabkan terjadinya rangsangan atau represi transkripsi. Terbentuknya protein baru dibawah pengaruh testosteron menyebabkan terjadinya sejumlah aktivitas biologik (Hadley, 1992; Ganong, 1993).

Jika kadar testosteron dalam sirkulasi cukup tinggi dapat memberikan umpan balik negatif terhadap sekresi LH (Norris, 1980; Hadley, 1992; Ganong, 1993) dan terhadap sekresi FSH (Wierman *et al.*, 1988; Ganong, 1993). Di dalam tubulus seminiferus, testosteron disebutkan antara lain diperlukan untuk perkembangan spermatosit primer menjadi spermatid (Norris, 1980), untuk proliferasi dan diferensiasi sel spermatogenik (Rose and Reith, 1985) pada tahap awal dan akhir spermatogenesis (Hadley, 1992) dan pada tahap spermiogenesis (Ganong, 1993).

Testosteron dapat dikonversi menjadi dihydrotestosteron (DHT) oleh 5α -reduktase pada sel sasaran tertentu (misalnya epididimis, vesikula seminalis, prostat dan kelenjar keringat manusia) sebelum berikatan dengan reseptor androgen. Ikatan DHT-reseptor lebih stabil dibanding dengan reseptor androgen. Ikatan DHT-reseptor lebih stabil dengan ikatan testosteron-reseptor (Ganong, 1993).

LH merupakan senyawa glikoprotein. Komplek protein-karbohidrat LH mengandung 2 rantai peptida yang berbeda, yaitu subunit α dan subunit β . Subunit α terdiri dari 89 asam amino sedangkan subunit β 115 asam amino (Ganong, 1993).

Kadar LH dalam darah mamalia jantan relatif tetap (Tienhoven, 1983). LH bekerja pada sel Leidig, merangsang sintesis testosteron. Sekresi LH ke dalam sirkulasi oleh hipofisis anterior dapat dihambat oleh adanya umpan balik negatif testosteron baik secara langsung pada hipofisis anterior maupun pada sekresi GnRH oleh hipotalamus (Ganong, 1993).

FSH seperti halnya LH merupakan hormon glikoprotein yang mengandung subunit α dan subunit β . subunit α nya identik dengan subunit α LH, sedangkan subunit β mengandung 115 asam amino yang lebih mirip dengan TSH (*Tirotropin Stimulating Hormon*) daripada dengan LH. FSH bekerja pada sel sertoli (Hadley, 1992; Ganong, 1993).

Ikatan antara FSH dengan reseptor pada membran sel mengakibatkan peningkatan sintesis cAMP dalam sitoplasma yang kemudian mengaktivasi protein kinase. Fosforilasi berbagai jenis protein mengakibatkan aktivasi berbagai fungsi sel Sertoli. Adanya penemuan bahwa FSH dapat merangsang sintesis RNA dan protein memberikan petunjuk bahwa FSH mempengaruhi sejumlah fungsi khusus sel Sertoli yang ada dipengaruhi oleh FSH antara lain adalah sintesis ABP dan sintensis inhibin (Tienhoven, 1983).

FSH merangsang sintesis ABP, yang berfungsi sebagai carrier testosteron di dalam sel sertoli. Di dalam lumen tubulus seminiferus, ABP menjaga konsentrasi testosteron tetap tinggi, yang diperlukan dalam kelangsungan spermatogenesis dan sebagai pengangkut (transporter) testosteron dari testis ke epididimis (Tienhoven, 1983).

FSH merangsang sintesis inhibin yang berfungsi memberikan umpan balik negatif terhadap sekresi FSH dan ikut berperan dalam merangsang sintesis testosteron pada sel Leidig, sebaliknya, testosteron menghambat sekresi inhibin yang diinduksi FSH (Ganong, 1993).

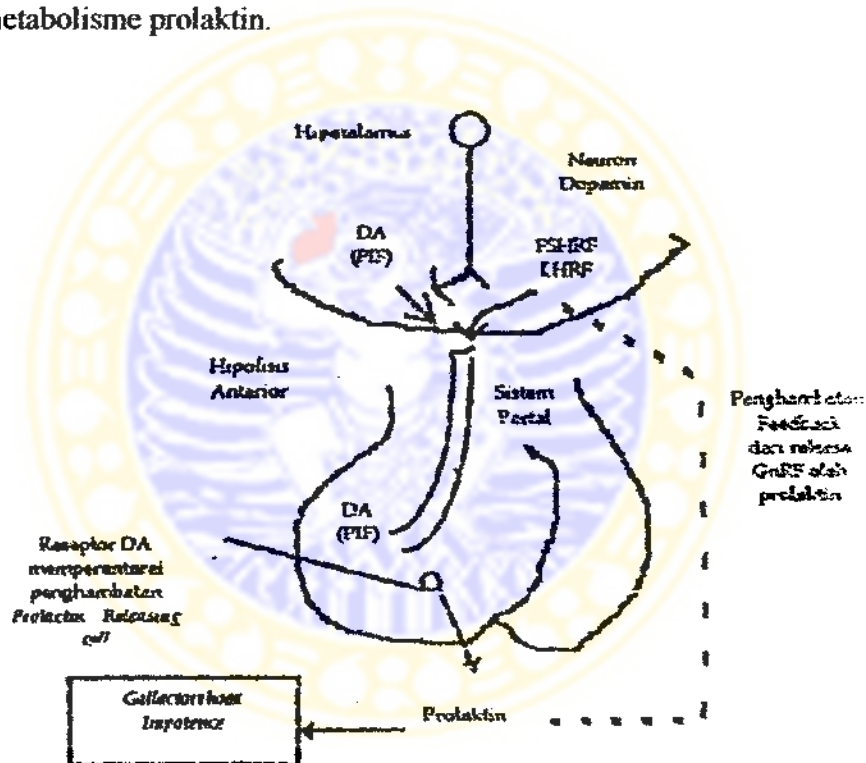
FSH juga meningkatkan sintesis glikoprotein permukaan sel (berperan dalam adesi antar sel Sertoli, meningkatkan jumlah reseptor androgen dalam sel Sertoli, memacu proliferasi sel-sel Sertoli pada masa pra dan paskanatal, memacu proliferasi spermatogonia dan membantu LH meningkatkan biosintesis androgen dalam sel Leidig (Hadley, 1992).

Dengan demikian, FSH berperan sejak terjadinya proliferasi spermatogonia hingga terbentuknya spermatosit primer (Maekawa *et al.*, 1995) dan terhadap perkembangan tahap akhir spermatid menjadi spermatozoa (Ganong, 1993), merupakan pengaruh tak langsung FSH terhadap aktivitas *spermatogenesis* melalui pengaruh pada sel sertoli .

Prolaktin merupakan hormon polipeptida yang disekresikan oleh hipofisis anterior dibawah pengaruh PIF (*prolactin factor inhibiting*) yang diduga merupakan suatu dopamin pada sebagian besar yang disekresi oleh hipofisis . mekanisme kontrol utama dilakukan oleh *releasing factor*, akan tetapi tidak

demikian untuk sintesis prolaktin, dopamin secara konstan menghambat produksi dan sekresi prolaktin (Caldwell, 1983).

Menurut Halasz and Pupp (1965) dopamin dikeluarkan dari ujung neuron di tuberoinfundibular eminensia medialis dan ditransportasikan ke adenohipofisis. Di dalam granula sel laktotrop atau mammotrop yang juga mengandung prolaktin (Nansel, *et al*, 1979). Pada hipofisis terdapat reseptor dopaminergik yang berperan dalam metabolisme prolaktin.



Gambar 2.4 Kontrol Hipotalamik-pituitari dari release prolaktin. DA=dopamin; PIF= Prolactin Inhibiting Factor; FSHRF= Follicle Stimulating Hormone Releasing Factor; LHRF=Luteinizing Hormone Releasing Factor (Kruk and Pycoc, 1983).

Pada hipofisis terdapat reseptor dopaminergik yang berperan dalam metabolisme protein. Berbagai kegagalan pada metabolisme protein ditentukan dan dipengaruhi oleh jumlah, sifat dan keadaan reseptor tersebut. Para peneliti ada

yang meragukan apakah *Prolactin Inhibiting Factor* (PIF) identik dengan dopamin dan apakah tanpa neurotransmitter (dopamin) pengaruh pengendalian prolaktin masih dapat berlangsung (Schally *et al.*, 1976). Namun para penelitian mengundangi bahwa dopamin adalah PIF pada hewan coba misalnya rhesus-monkey, tikus (*rat*) serta babi (*pig*) (Anderson *et al.*, 1982).



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Plumbum atau timah hitam merupakan salah satu bahan berbahaya dan beracun yang membahayakan bagi kesehatan tubuh. Keracunan oleh Plumbum yang bersifat kumulatif dapat menyebabkan akibat negatif pada organ tubuh antara lain organ reproduksi. Testis merupakan organ utama dari sistem reproduksi pada hewan jantan. Testis yang normal mempunyai kemampuan memproduksi spermatozoa dan hormon reproduksi.

Hormon steroid dimetabolisme di hati, dengan adanya rangkaian enzim yang sanggup mengubah steroid yang spesifik menjadi inaktif dan mudah larut dalam air. Komponen yang mempengaruhi steroid yang spesifik menjadi inaktif dan mudah larut dalam air. Komponen yang mempengaruhi metabolisme hormon gonadal di hati akan mempengaruhi karakteristik reproduksi pada satu individu (Sokol *et.al.*, 1985).

Plumbum asetat merupakan bahan kimia yang dapat mengganggu spermatogenesis dan atropi testis. Testis diatur secara hormonal oleh sumbu hipotalamus pituitary. FSH dibutuhkan dalam inisiasi spermatogenesis melalui produksi ABP dalam sel sertoli, sedangkan LH bekerja pada sel leydig untuk mensintesis testosteron. Plumbum dapat mempengaruhi fungsi reproduksi lewat kelenjar endokrin ini (LU, 1995).

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

Senyawa plumbum mempengaruhi kerja hormon dengan menghambat sintesa steroid, yaitu aktivitas enzim yang memobilisasi steroid, atau dengan menghambat interaksi hormon reseptor (Sokol dan Berman, 1991).

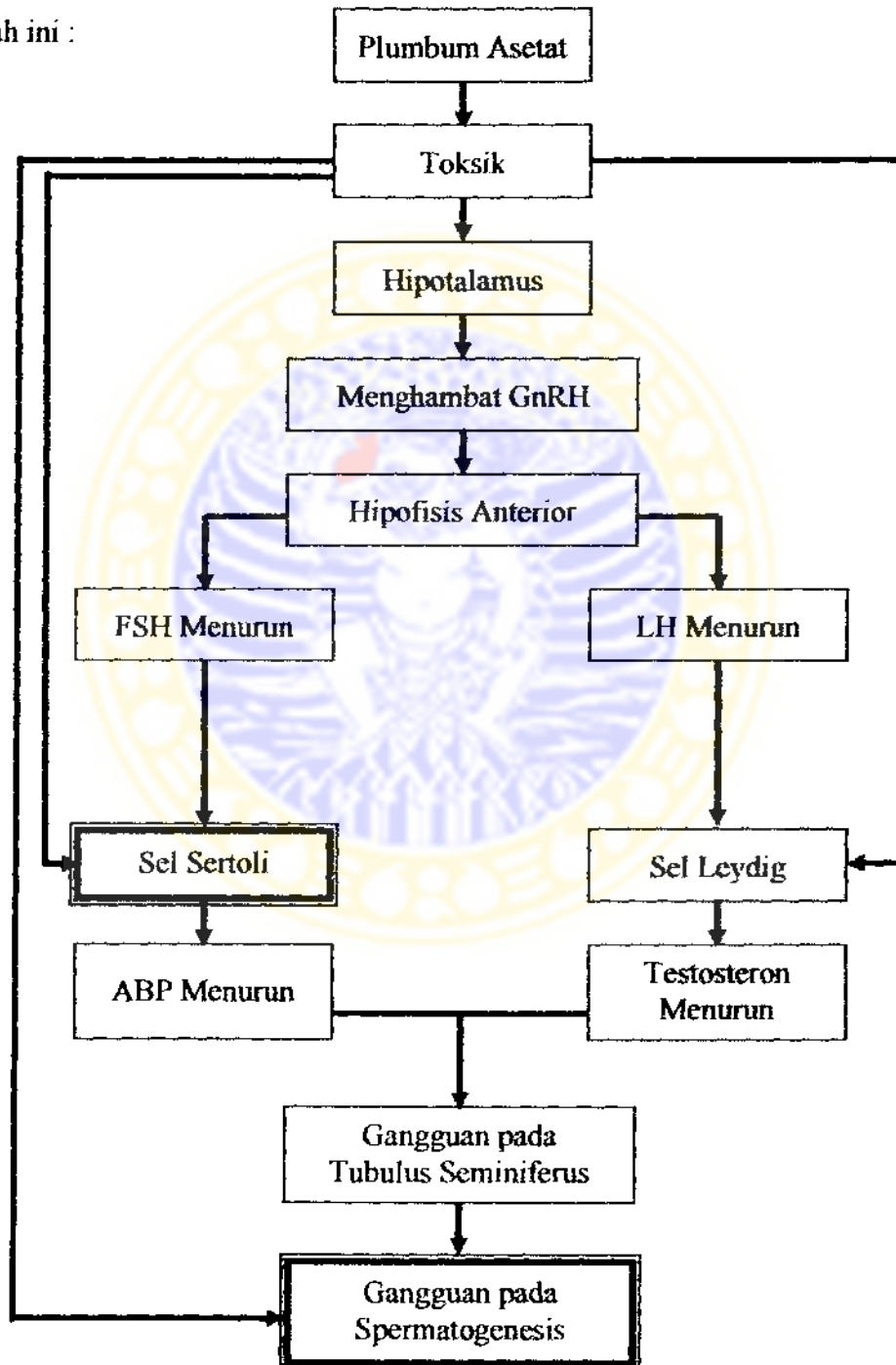
Beberapa senyawa Plumbum akan bereaksi langsung pada sel benih (germ cell) dengan dua cara, yaitu: pertama, mempengaruhi sintesis DNA, RNA dan protein; kedua, senyawa plumbum menghambat sekresi testosteron, sehingga mempengaruhi proses spermatogenesis (Palar, 1994).

Dari konsep-konsep di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Bahan toksik menimbulkan efek khusus, antara lain adalah efek negatif pada system reproduksi jantan.
2. Walau plumbum yang diserap tubuh hanya sedikit, logam ini sangat berbahaya, karena efek toksisitasnya terhadap banyak fungsi organ tubuh (Palar, 1994).
3. Pada sintesis haemoglobin pemberian plumbum akan menghambat enzim ALAD dan *ferrochelatase* (WHO, 1980). Plumbum mempunyai afinitas terhadap membrane sel terutama mitochondria, sehingga dengan adanya plumbum organelle ini akan mengalami perubahan fungsional dan ultra struktur (Goyer dan Krall, 1969).

Dari fenomena di atas, maka perlu dibuktikan apakah pemberian plumbum astat mempengaruhi jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli.

Kerangka konseptual di atas dapat digambarkan dengan diagram seperti di bawah ini :



Gambar 3.1 : Diagram alur kerangka konsep penelitian

3.2. Hipotesis Penelitian

Rumusan hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

1. Pemberian plumbum asetat menurunkan berat testis mencit jantan.
2. Pemberian plumbum asetat memperkecil diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan.
3. Pemberian plumbum asetat menurunkan ketebalan epitel tubulus seminiferus testis mencit jantan.
4. Pemberian plumbum asetat menurunkan jumlah sel spermatosit dalam tubulus seminiferus testis mencit jantan.
5. Pemberian plumbum asetat menurunkan jumlah sel spermatid dalam tubulus seminiferus testis mencit jantan.
6. Pemberian plumbum asetat menurunkan jumlah sel sertoli pada tubulus seminiferus testis mencit jantan.

BAB 4

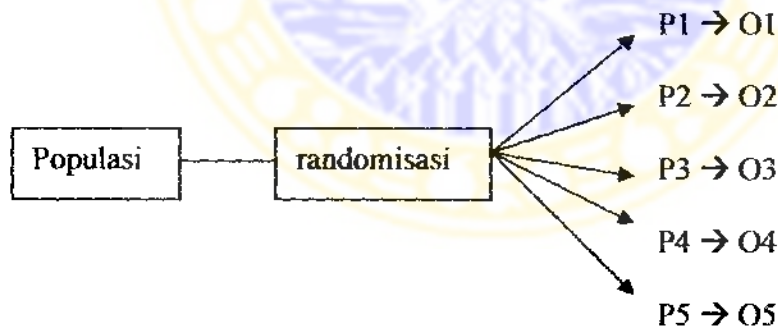
METODE PENELITIAN

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 *Completely Randomized Design*, di mana subyek penelitian dibagi dalam 5 (lima) kelompok secara random, satu kelompok sebagai kontrol dan kelompok sisanya diberikan Pb Asetat dengan berbagai konsentrasi. Pengukuran variabel dilakukan pada akhir penelitian. Pada awal penelitian dilakukan dengan cara *Control by Design* dengan menghomogenkan sample penelitian, yaitu menimbang berat badan mencit.

Skema rancangan penelitian yang dipakai:



P1 = kelompok kontrol

Diberikan aquades steril

P2 = kelompok II

Diberikan Pb Asetat dosis 25 mg/kg BB

P3 = kelompok III

Diberikan Pb Asetat dosis 50 mg/kg BB

P4 = kelompok IV

Diberikan Pb Asetat dosis 75 mg/kg BB

P5 = kelompok V

Diberikan PB Asetat dosis 100 mg/kg BB

Rancangan percobaan ini adalah dengan 5 perlakuan dan 8 kali ulangan.

Table 4.1. Skema Perlakuan

U/P	P1	P2	P3	P4	P5
U1					
U2					
U3					
U4					
U5					
U6					
U7					
U8					

U = Ulangan

P = Perlakuan

Jumlah unit percobaan = $P \times U = 5 \times 8 = 40$

Nilai-nilai untuk percobaan diberi simbol Y_{ij} , di mana:

i = ulangan ke- i ($i = 1, 2, 3, \dots, U$)

j = perlakuan ke- j ($j = 0, 1, 2, \dots, P$)

4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah mencit jantan, umur 7 minggu, berat sekitar 20-30 gram. Dari unit eksperimen tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai replikasi penelitian. Banyak replikasi minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus (Hanifah; 2003):

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

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

$$r \geq 6$$

t = banyak kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

Jadi jumlah replikasi minimal perkelompok adalah 6.

Kemungkinan hilangnya unit eksperimen (f) $\pm 20\%$, sehingga besar replikasi dikalikan $1/(1-f)$ (Higgins dan Klimbaum, 1985):

$$1/(1-f) \times 6 = 7,2 \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 8$$

Jadi jumlah replikasi 8 ekor perkelompok perlakuan.

Mencit diadaptasikan selama 2 minggu sebelum digunakan untuk penelitian dengan pemberian pakan dan minum secara *ad-libitum*. Setelah masa adaptasi selesai

dilakukan pemilihan secara acak, yang dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

1. Variabel bebas : larutan Pb asetat
2. Variabel tergantung:
 - (1) Makroskopis : Berat testis
 - (2) Mikroskopis :
 - Diameter tubulus seminiferus
 - Tebal epitel tubulus seminiferus
 - Jumlah spermatosit
 - Jumlah spermatid
 - Jumlah sel sertoli
3. Variabel kendali
 - (1) Umur dan jenis mencit
 - (2) Berat badan mencit sebelum perlakuan
 - (3) Makanan dan minuman mencit
 - (4) Perawatan dan sanitasi kandang
 - (5) Pembuatan preparat histologis jaringan testis

4.3.2 Definisi Operasional

Variabel-variabel yang digunakan pada penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut:

1. Pb Asetat yang dipergunakan adalah *Plumbum Asetat Trihidrat* dengan rumus kimia $[(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O]$ GR ACS buatan merek German yang diperoleh dari toko kimia. Senyawa ini memiliki BM = 379,34 g/mol. Pb Asetat yang digunakan dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan kontrol diberi aquades steril.
2. Berat testis adalah berat rata-rata testis kiri yang ditimbang setelah dibersihkan dari pembungkusnya dengan menggunakan timbangan elektronik.
3. Diameter tubulus seminiferus adalah pengukuran garis tengah tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan cara Weisbach dan Bach (Rosida, 2002), menggunakan alat ukur gratikulae dalam satuan μm .
4. Tebal epitel tubulus seminiferus merupakan rata-rata hasil pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan cara Weisbach dan Bach (Rosida, 2002), menggunakan alat ukur gratikular dalam satuan μm .
5. Jumlah spermatisit adalah hasil perhitungan jumlah rata-rata spermatisit yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.

6. Jumlah spermatid merupakan penghitungan jumlah rata-rata spermatid yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
7. Jumlah sel sertoli merupakan hasil penghitungan jumlah sel sertoli yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
8. Umur dan jenis kelamin. Jenis kelamin mencit adalah jantan, umur mencit adalah 7 – 8 minggu/*sexually mature* (Solleveld et al, 1986)
9. Kesehatan mencit dapat diamati dari morfologi dan berat badannya. Morfologi: gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih dan tanpa luka, mata terang dan tidak sayu, sedangkan berat badannya 20-30 gram.
10. Jenis makanan dan minuman. Jenis makanan pellet CP 511 dan minumannya adalah aqua.
11. Perawatan mencit. Pemberian pellet 1 g/ekor/hari. Pemberian minum ad libitum 1 liter/3 hari untuk 10 ekor. Penggantian sekam untuk alas tidur 2 hari sekali.
12. Sanitasi kandang. Dibersihkan setiap hari. Suhu sesuai suhu ruang. Cukup ventilasi dan sinar matahari serta lingkungan yang tidak lembab.

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1 Bahan Perlakuan

1. Pb Asetat Trihidrat dilarutkan dalam air suling dengan dosis harian masing-masing perlakuan 25 mg/kg berat badan, 50 mg/kg berat badan, 75 mg/kg berat badan dan 100 mg/kg berat badan dan aquades untuk pemberian kontrol.
2. Pellet CP 511 dan aqua, serta sekam untuk alas tidur.

4.4.2 Bahan Pemeriksaan

1. Ether untuk pembiusan
2. NaCl fisiologis untuk mencuci testis
3. Testis kiri mencit (*Mus musculus*) jantan strain BALB/C
4. Untuk pembuatan preparat: PZ, buffer formalin 10%, alcohol, xylol, parafin, asam cuka, albumin, aquades, hematoxylin, eosin, kertas label.
5. Bahan untuk pewarnaan Periodic-Acid-Schiff (PAS: xylol, alcohol 95% dan absolut, larutan periodic acid 0,5%, reagen Schiff, acid alcohol amoniak water dan larutan hematoksilin.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat untuk pemeliharaan mencit

1. Kandang plastik ukuran 20 cm x 15 cm x 15 cm yang ditutup dengan kawat ayakan dengan ukuran lubang 6 mm, dilengkapi tempat makan dan botol minum.
2. Spuit untuk memberikan larutan Pb Asetat.

4.5.2 Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis

1. Toples dengan tutup untuk pembiusan
2. Alat fiksasi hewan coba
3. Botol plastic dengan tutup untuk fibrasi jaringan
4. Alat bedah minor
5. Timbangan elektronik untuk menimbang berat testis

4.5.3 Alat untuk pembuatan dan pengecatan sediaan histologis testis

1. Object glass dan Cover glass
2. Mikrotom
3. Mikroskop cahaya dengan skala micrometer
4. Water bath
5. Staining jar
6. Cetakan dari logam yang berbentuk L untuk embedding
7. Alat ukur gratikulae

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan jaringan dan penimbangan testis. Untuk preparasi jaringan dan pengambilan data penelitian dilakukan di Bagian Reproduksi dan Laboratorium In Vitro Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu perlakuan pada hewan coba penelitian dilakukan dari tanggal 23 Mei s.d 20 Juni 2006.

4.7 Prosedur dan Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur pelaksanaan penelitian

1. Mencit sebanyak 40 ekor diadaptasikan lebih dahulu selama 2 minggu agar terbiasa hidup dalam lingkungan laboratorium di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
2. Kemudian dipilih secara random menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok beranggotakan 8 ekor.
3. Makanan berupa pellet CP 511 diberikan sebanyak 10 gram/ekor/hari.
4. Minuman mencit adalah aqua diberikan secara ad libitum
5. Perlakuan berupa pemberian Pb Asetat kepada mencit mulai usia 7 – 8 minggu selama 2 minggu. Larutan yang diberikan sebanyak 0,3 cc/hari setiap pagi, dengan menggunakan sonde sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan sebagai berikut :
Kelompok I : diberikan Aquades saja sebagai placebo
Kelompok II : diberikan Pb Asetat 25 mg/kg BB
Kelompok III : diberikan Pb Asetat 50 mg/kg BB
Kelompok IV : diberikan Pb Asetat 75 mg/kg BB
Kelompok V : diberikan Pb Asetat 100 mg/kg BB
6. Pada akhir minggu ke dua berat badan mencit ditimbang, lalu mencit dikorbankan
7. Mencit yang telah mati diambil testisnya, pengambilan jaringan testis yaitu : mencit diletakkan di atas meja bedah dalam posisi terlentang dengan keempat

anggota gerak terfiksasi, scrotum dibuka dengan gunting sampai kelihatan testis, testis diangkat dengan memotong ductus epididymis dengan mis, dikeluarkan kemudian testis dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak serta pembungkusnya, lalu ditimbang, dengan timbangan elektronik dan dimasukkan ke dalam botol yang berisi formalin 10% serta dilabelisasi.

4.7.2 Etika penelitian

Penggunaan hewan coba pada laboratorium hanya diijinkan jika diperlukan dan hanya dengan perlakuan yang baik (Pitono, 2002). Etika perlakuan terhadap hewan coba merupakan etika moral yang secara prinsip ditandai dengan adanya pengakuan terhadap nilai hakiki hewan coba tersebut. Oleh karena itu hewan coba wajib diperlakukan sesuai dengan nilai hakikinya (Zutphun et. al., 1993). Dalam penelitian ini perlu dilakukan perawatan mencit dalam kandang, terpenuhinya pemberian makan, minum dan sirkulasi udara dalam kandang, perlakuan yang baik, pengambilan unit analisis (organ) penelitian dan cara memusnahkannya.

4.7.3 Pembuatan preparat histologis

Setelah semua testis terkumpul, dimasukkan ke dalam formalin 10%. Bahan ini kemudian dibawa ke laboratorium Anatomi-Histologi untuk dibuat sediaan histologis metode parafin dengan pewarnaan PAS. Dengan menggunakan pewarnaan diharapkan terlihat dengan jelas struktur jaringan, bagian dalam inti sel dan sitoplasma.

4.7.4 Teknik pengumpulan data

Testis sebelum dimasukkan ke dalam formalin 10% ditimbang terlebih dahulu menggunakan timbangan Santonis (elektrik). Pengambilan data dilakukan dengan melihat sediaan histologis di bawah mikroskop cahaya. Masing-masing testis diperlukan 3 buah potongan melintang tubulus seminiferus yang benar-benar terpotong tegak lurus dengan sumbunya, yaitu tubulus yang penampang melintangnya bulat lalu diukur garis tengah dan tebal epitel tubulus seminiferus.

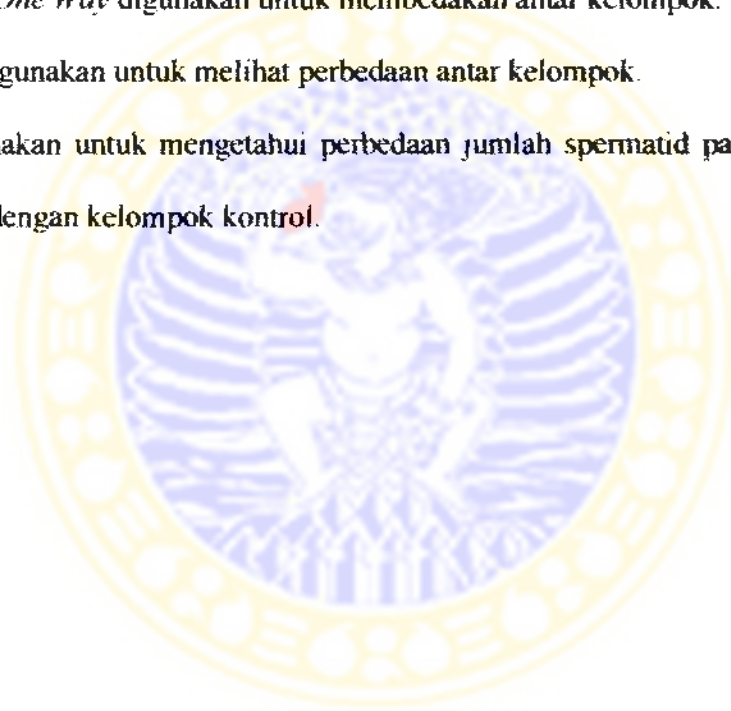
Pengukuran terhadap diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus menggunakan gratikulae menurut Weisbach dan Bach yaitu dengan mengukur jarak terdekat antara 2 titik yang berseberangan pada garis tengahnya, kedua titik tersebut berada pada batas antara membran basalis dan sel spermatogenik. Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus dimulai dari titik tersebut sampai ke permukaan lumen, yang pengukurannya dinyatakan dalam satuan mikrometer (μm).

Sel spermatogenik yang akan dihitung adalah spermatosit dan spermatid. Jumlah sel sertoli dihitung dari jumlah nukleus sel sertoli pada 3 tubulus seminiferus yang terpotong melintang.

4.8 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan adalah statistik deskriptif, uji normalitas distribusi Kolmogorov-Smirnov satu sample, uji homogenitas, uji anova, HSD, dan uji t.

1. Uji statistik deskriptif digunakan untuk menggambarkan masing-masing variabel antara lain berat testis, mengukur diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, menghitung jumlah spermatozoid, spermatid dan sel sertoli.
2. Uji normalitas distribusi dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
3. Uji homogenitas digunakan pada masing-masing variabel.
4. Uji *Anova One Way* digunakan untuk membedakan antar kelompok.
5. Uji HSD digunakan untuk melihat perbedaan antar kelompok.
6. Uji t digunakan untuk mengetahui perbedaan jumlah spermatid pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.



BAB 5

HASIL DAN ANALISA DATA

Data penelitian diambil dari 40 ekor mencit jantan yang diberikan perlakuan berupa pemberian per oral Pb asetat dengan masing-masing dosis 25 mg/kg BB (P₂), 50 mg/kg BB (P₃), 75 mg/kg BB (P₄), dan 100 mg/kg BB (P₅).

Pengambilan data berat testis dilakukan dengan penimbangan testis yang menggunakan timbangan elektronik. Pengambilan data untuk diameter dan tebal tubulus seminiferus, jumlah spermatisit, jumlah spermatid dan jumlah sel sertoli dimulai dengan pembuatan sediaan histologik yang dibuat dengan metode paraffin dengan pengecatan PAS, kemudian dilakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40 yang dilengkapi dengan grafikulae garis.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Deskripsi Data

1. Berat Testis

Dari hasil data berat testis mencit (*mus musculus*) didapatkan berat testis pada kelompok kontrol rata-rata 0.086 dengan SD 0.016, dan kelompok perlakuan Pb asetat 75 mg/Kg BB berat testis rata-rata 0.078 dengan SD 0.017, selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Rata-rata berat testis mencit setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	.086 \pm .016
25 mg	8	.073 \pm .016
50 mg	8	.070 \pm .005
75 mg	8	.078 \pm .017
100 mg	8	.076 \pm .011
Total	40	.077 \pm .014

2. Diameter Tubulus Seminiferus

Dari hasil pengukuran diameter *tubulus seminiferus* testis mencit didapatkan diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol rata-rata 81.918 dengan SD 0.887, dan kelompok perlakuan Pb asetat 100 mg/Kg BB diameter tubulus seminiferus rata-rata 48.250 dengan SD 1.660, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari (micrometer)

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	81.918 \pm .887
25 mg	8	78.915 \pm .971
50 mg	8	68.209 \pm 1.553
75 mg	8	57.416 \pm 1.366
100 mg	8	48.250 \pm 1.660
Total	40	66.942 \pm 12.946

3. Tebal epitel tubulus seminiferus

Dari hasil pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus testis mencit didapatkan tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol rata-rata 38.041 dengan SD 1.014, dan kelompok perlakuan Pb asetat 100 mg/Kg BB tebal epitel tubulus seminiferus rata-rata 32.498 dengan SD 1.181, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus testis mencit setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari (micrometer)

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	38.041 \pm 1.014
25 mg	8	36.415 \pm .812
50 mg	8	35.541 \pm .910
75 mg	8	32.790 \pm .711
100 mg	8	32.498 \pm 1.181
Total	40	35.057 \pm 2.333

4. Jumlah spermatisit

Hasil perhitungan jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus didapatkan jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus pada kelompok kontrol rata-rata 68.290 dengan SD 0.277, dan kelompok perlakuan Pb asetat 100 mg/Kg BB jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus rata-rata 40.541 dengan SD 1.877, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Jumlah rata-rata spermatosit mencit setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	68.290 \pm .277
25 mg	8	65.543 \pm .777
50 mg	8	57.708 \pm 1.289
75 mg	8	46.125 \pm 1.543
100 mg	8	40.541 \pm 1.877
Total	40	55.641 \pm 10.983

5. Jumlah spermatid

Hasil perhitungan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus didapatkan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus pada kelompok kontrol rata-rata 167.083 dengan SD 3.646, dan kelompok perlakuan Pb asetat 100 mg/Kg BB jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus rata-rata 102.291 dengan SD 7.916, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Jumlah rata-rata spermatid testis mencit setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	167.083 \pm 3.646
25 mg	8	153.749 \pm 4.058
50 mg	8	141.668 \pm 3.674
75 mg	8	134.374 \pm 1.243
100 mg	8	102.291 \pm 7.916
Total	40	139.833 \pm 22.522

6. Jumlah sel sertoli

Hasil perhitungan jumlah sel sertoli pada penelitian ini didapatkan jumlah sel sertoli dalam tubulus seminiferus pada kelompok kontrol rata-rata 58.831 dengan SD 0.711, dan kelompok perlakuan Pb asetat 100 mg/Kg BB jumlah sel sertoli dalam tubulus seminiferus rata-rata 36.041 dengan SD 1.768, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Jumlah sel sertoli setelah pemberian Pb asetat per oral selama 14 hari

Kelompok	N	Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD)
Kontrol	8	58.831 \pm .710
25 mg	8	55.000 \pm 1.546
50 mg	8	47.874 \pm 1.066
75 mg	8	39.081 \pm 1.082
100 mg	8	36.041 \pm 1.768
Total	40	47.366 \pm 8.992

5.1.2 Hasil Pengujian Normalitas Distribusi Data

Untuk mengetahui normalitas data berat testis, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatisit, jumlah spermatid dan jumlah sel sertoli dilakukan uji *Kolmogorov-Smirnov* satu sample, pada variabel penelitian menunjukkan $p > 0,05$ yang berarti semua variabel penelitian berdistribusi normal, sehingga untuk analisis statistik dapat menggunakan uji parametrik, selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5.

5.1.3 Homogenitas Varians

Hasil uji statistik Levene menunjukkan bahwa nilai $p = 0,210$ untuk berat testis, $p = 0,431$ untuk diameter tubulus seminiferus, $p = 0,710$ untuk tebal epitel tubulus seminiferus, $p = 0,061$ untuk jumlah spermatisit, $p = 0,069$ untuk jumlah sel sertoli. Hal tersebut menunjukkan bahwa varians masing-masing kelompok homogen, sehingga dapat dikatakan bahwa data-data tersebut memenuhi syarat-syarat untuk dilanjutkan uji *Anova One Way*. Untuk variabel jumlah sel spermatid didapatkan $p=0,001$ sehingga data tidak homogen, maka untuk mengetahui adanya perbedaan dilakukan uji t.

5.1.4 Pengaruh Pb Asetat terhadap Berat Testis

Dari uji *Anova One Way* didapatkan hasil F hitung = 1.551 dan nilai $p = 0,209$ ($p > 0,05$) artinya tidak terdapat perbedaan berat testis secara bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada lampiran 5.

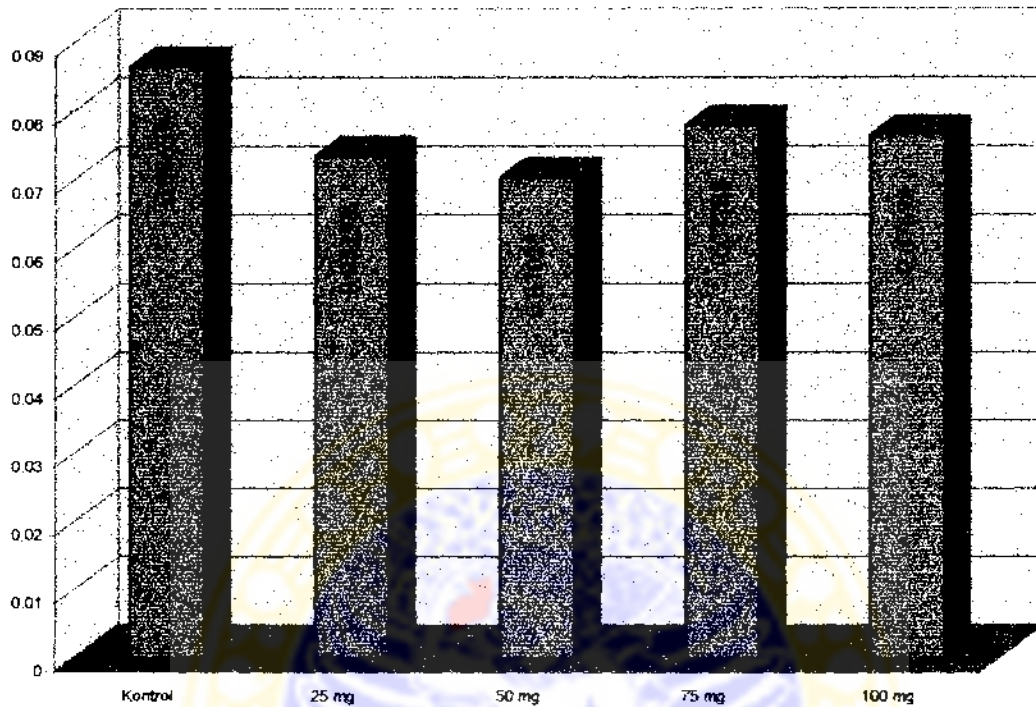


Diagram 5.1 Diagram rata-rata berat testis mencit

5.1.5 Pengaruh Pb Asetat terhadap Diameter Tubulus Seminiferus

Dari uji *Anova One Way* didapatkan hasil F hitung ... 923,82 dengan $p=0,00$ ($p<0,05$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada ukuran diameter tubulus seminiferus antar kelompok. Karena terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Honestly Significant Difference (HSD)* untuk mengetahui perbedaan antar sepasang kelompok. Hasil uji HSD didapatkan kelompok perlakuan berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol, selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Tingkat signifikansi perbedaan antar kelompok Diameter tubulus seminiferus dengan HSD

d/p	K	25	50	75	100
K	-				
25	d=3.0025 p=0.001	-			
50	d=13.70875 P=0.000	d=10.70625 p=0.000	-		
75	d=25.50125 p=0.000	d=21.49875 P=0.000	d=10.79250 p=0.000	-	
100	d=33.66750 P=0.000	d=30.66500 p=0.000	d=19.95875 p=0.000	d=9.16625 P=0.000	

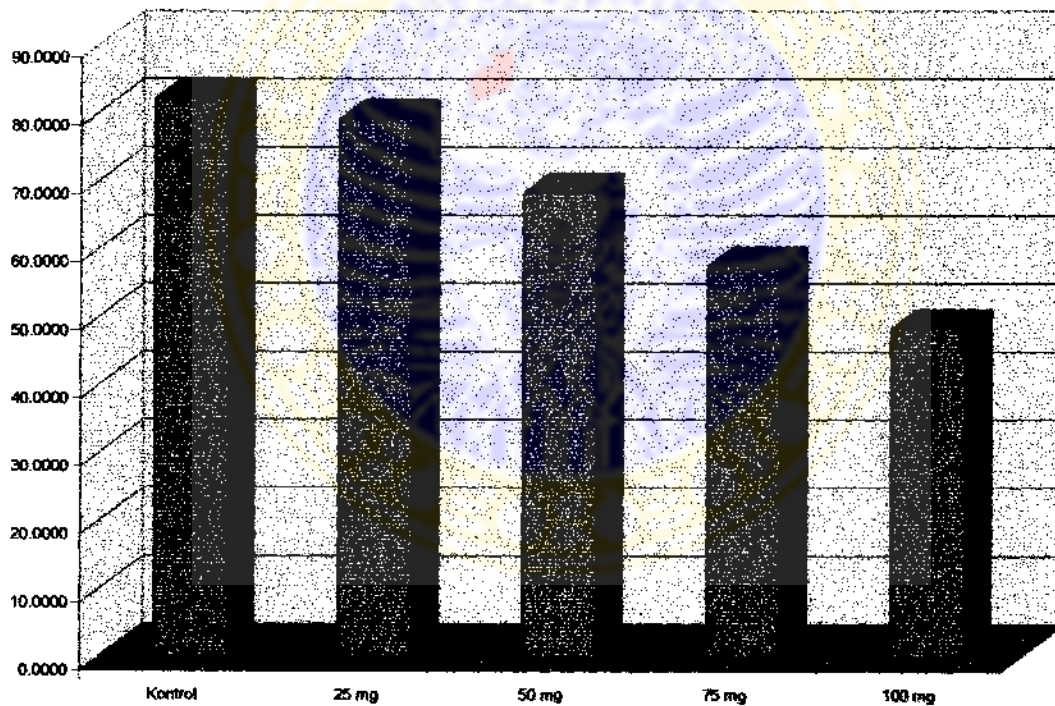


Diagram 5.2 Diagram rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit terhadap dosis Pb Asetat

Diagram di atas menunjukkan penurunan diameter tubulus seminiferus testis menciit setelah pemberian Pb Asetat peroral. Semakin besar dosis Pb Asetat yang diberikan, semakin menurunkan ukuran diameter tubulus seminiferus, pengurangan diameter tubulus seminiferus sudah terlihat pada dosis 25 mg/kg BB.

5.1.6 Pengaruh Pb Asetat terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Dengan analisis *Anova One Way* didapatkan F hitung = 51,346 $p=0,000$ ($p<0,05$), yang berarti ada perbedaan yang bermakna antara ukuran tebal epitel tubulus seminiferus kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Lebih lanjut dengan uji HSD ditemukan pula perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan Pb 25 mg/kg BB dengan 50 mg/kg BB, dan 75 mg/kg BB dengan 100 mg/kg BB, selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Tingkat signifikansi perbedaan tebal epitel seminiferus antar kelompok dengan HSD

d/p	K	25	50	75	100
K	-				
25	d=1.62625 p=0.012	-			
50	d=2.50000 p=0.000	d=0.87375 p=0.357	-		
75	d=5.25125 p=0.000	d=3.62500 P=0.000	d=2.75125 p=0.000	-	
100	d=5.54375 p=0.000	d=3.91750 p=0.000	d=3.04375 p=0.000	d=0.29250 p=0.970	

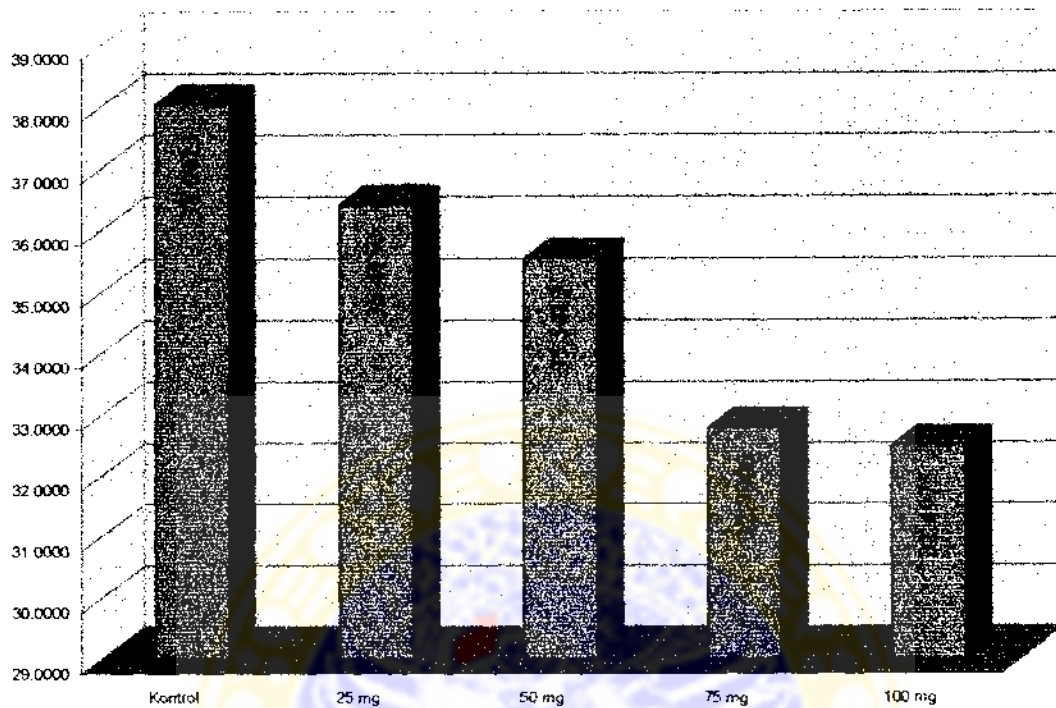


Diagram 5.3 Diagram rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus mencit terhadap dosis Pb Asetat

Dari diagram di atas menunjukkan bahwa semakin besar dosis Pb Asetat yang diberikan, maka akan menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus.

5.1.7 Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Spermatisit

Dengan uji *Anova One Way* dengan F hitung = 704,390 $p < 0,000$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada jumlah spermatisit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dari uji perbandingan ganda HSD didapatkan bahwa perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pb asetat 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, dan 100 mg/kgBB, lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Tingkat signifikansi perbedaan Jumlah Spermatisit antar kelompok dengan HSD

d/p	K	25	50	75	100
K	-				
25	d=2.7475 p=0.001	-			
50	d=10.5825 P=0.000	d=7.835 p=0.000	-		
75	d=22.165 p=0.000	d=19.4175 P=0.000	d=11.5825 P=0.000	-	
100	d=27.74875 P=0.000	d=25.00125 p=0.000	d=17.16625 p=0.000	d=5.58375 p=0.000	

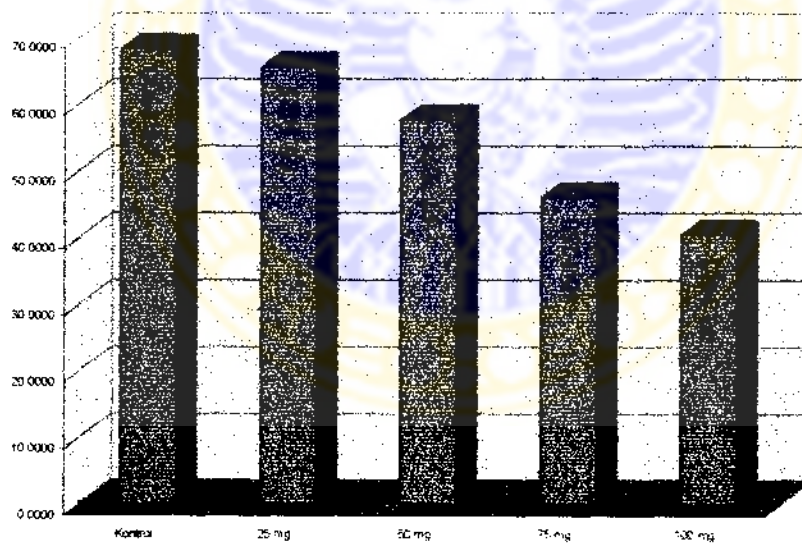


Diagram 5.4 Diagram rata-rata jumlah spermatisit tubulus seminiferus mencit terhadap dosis Pb Asetat

Pada diagram di atas menunjukkan bahwa semakin besar dosis Pb Asetat yang diberikan, maka jumlah spermatisit semakin menurun dan penurunan sudah terlihat pada pemberian Pb Asetat peroral 25 mg/kg BB.

5.1.8 Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Spermatid

Dengan uji t (t test) didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan Pb asetat 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, dan 100 mg/kgBB, selengkapnya bisa dilihat pada tabel 5.10.

Tabel 5.10 Tingkat signifikansi perbedaan antar kelompok Jumlah Spermatid dengan t test

d/p	K	25	50	75	100
K	-				
25	p=0.000	-			
50	p=0.000	p=0.000	-		
75	p=0.000	p=0.000	p=0.001	-	
100	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	

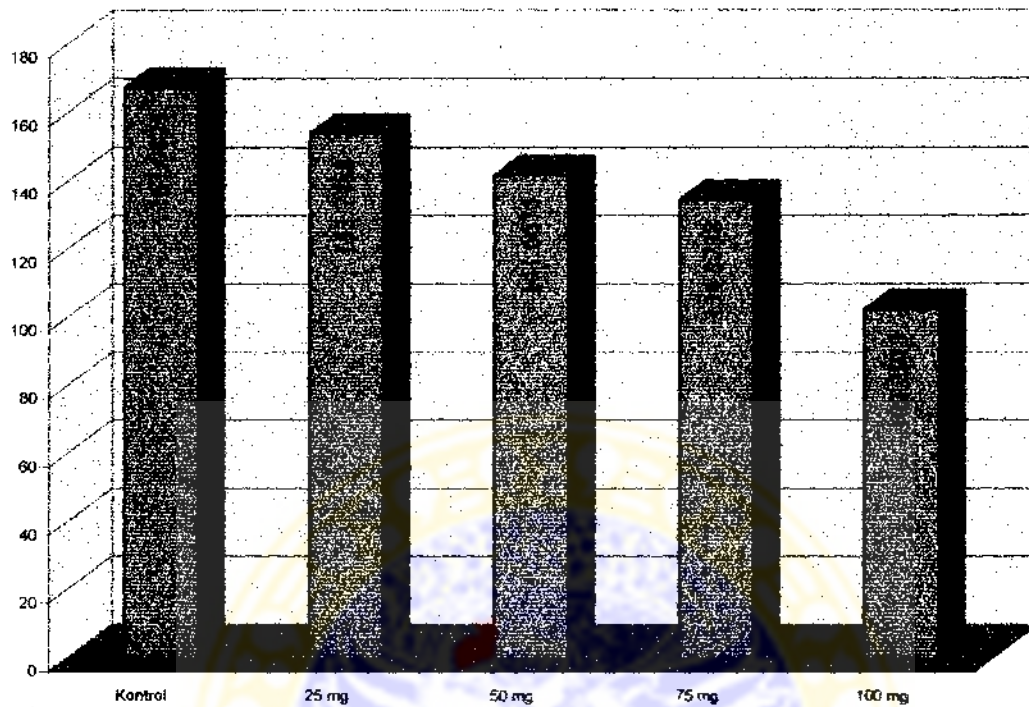


Diagram 5.5 Diagram rata-rata jumlah spermatid mencit terhadap dosis Pb Asetat

Pada diagram di atas menunjukkan bahwa semakin besar dosis Pb Asetat yang diberikan, maka jumlah spermatid semakin menurun dan penurunan sudah terlihat pada pemberian Pb Asetat peroral 25 mg/kg BB.

5.1.9 Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Sertoli

Dengan analisis *Anova One Way* didapatkan F hitung = 464,633 nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan perbedaan yang bermakna pada jumlah sel sertoli kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dari uji perbandingan ganda HSD didapatkan perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok, selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.11.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pb Asetat terhadap Berat Testis

Berat testis tergantung dari jaringan yang membentuknya. Testis dibentuk oleh tubulus seminiferus yang terdiri dari sel-sel sertoli dan sel spermatogenik, dan jaringan interstitium terdiri dari serat-serat kolagen, pembuluh darah, pembuluh limfe, saraf dan beberapa tipe sel seperti sel-sel leydig (Rahayu, 1994).

Pb asetat merupakan logam berat yang bersifat toksik terhadap organ reproduksi, yang dapat menimbulkan kerusakan fungsi testis, penurunan jumlah sel spermatozoa, kelainan motilitas dan bentuk spermatozoa. Apabila zat toksik ini masuk ke dalam tubuh, akan terjadi interaksi dengan molekul targetnya serta mempengaruhi lingkungan biologisnya sehingga menimbulkan disfungsi seluler yang selanjutnya akan menyebabkan kerusakan pada jaringan tersebut. Pb asetat ini dalam tubuh akan mempengaruhi system enzim yang dapat mempengaruhi mekanisme interaksi. Pada sistem reproduksi pengaturan mekanisme sangat kompleks dan belum diketahui dengan jelas (Bonde 2002).

Dari hasil penelitian berat testis, ditemukan penurunan berat testis tidak berbeda secara bermakna pada kelompok perlakuan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, $p = 0,209 (> 0,05)$. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Danial (2005) yang melakukan penelitian selama 50 hari pada mencit dengan dosis Pb asetat 25, 50, 75, 100 mg/kgBB/hari per oral, dan penelitian oleh Pinon Lataillade, *et al*

1995 yang melakukan penelitian selama 60 hari pada mencit dengan dosis timbal 0,05% dari sediaan air minum, kemungkinan penyebab tidak berbeda disebabkan oleh waktu perlakuan yang lebih singkat dibanding dengan peneliti terdahulu.

Walaupun ada penurunan berat testis pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol, namun hasil uji beda didapatkan tidak berbeda secara bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, sehingga tidak dapat disimpulkan bahwa makin besar dosis yang diberikan makin berkurang pula berat testis. Hal ini dibuktikan dengan berat rata-rata kelompok Pb 50 mg/kg BB ternyata lebih kecil dibanding kelompok Pb 75 mg/kg BB.

Tidak ditemukannya perbedaan yang bermakna antara sesama kelompok perlakuan ($p < 0,05$) mungkin terjadi karena rentang dosis Pb 25 mg/kg BB-100 mg/kgBB mempunyai dampak yang relatif sama, walaupun ada kecenderungan bahwa semakin besar dosis yang diberikan akan menyebabkan terjadinya penurunan berat testis mencit, sehingga perlu penelitian lebih lanjut dengan dosis di atas 100 mg/kg BB/hari.

Walau dalam penelitian ini ditemukan adanya perbedaan yang tidak bermakna rata-rata berat testis antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, tetapi perlu memastikan pada bagian testis yang mana yang mengalami kerusakan jaringan sehingga menyebabkan penurunan berat testis tersebut sehingga disini penelitian juga meneliti terhadap diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, sel spermatogenik dan sel sertoli.

6.2 Pengaruh Pb Asetat terhadap Diameter tubulus seminiferus

Tubulus seminiferus merupakan suatu saluran yang terdapat pada lobuli testis dan bagian terbesar yang menyusun organ testis. Bagian luar dikelilingi oleh jaringan peri tubuler yang terdiri atas jaringan ikat fibrous, serat-serat jaringan ikat, sel-sel fibroblast dan sel otot polos. Di bagian dalamnya tersusun epitel germinativum oleh epitel seminiferum yang terdiri atas sel sertoli dan sel spermatogenik.

Pb yang merupakan bahan toksik pada organ reproduksi dapat berpengaruh langsung terhadap sel spermatogenik tanpa pengaruh yang jelas dari kelenjar endokrin. Pb juga menghambat mekanisme kontrol hormon gonadotropin pada HT-HF. Pada penelitian terdahulu telah ditemukan efek langsung Pb terhadap sel spermatogenik, di mana sel-sel tersebut mengalami degenerasi dan terjadi penurunan jumlah sel spermatogenik, sedangkan pengaruh pada HT-HF diketahui adanya penurunan fungsi endokrin dari testis.

Dari hasil percobaan didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ukuran rata-rata diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Perbedaan yang bermakna ini sudah terlihat pada dosis 25 mg/kgBB, ini menunjukkan bahwa dosis 25 mg/kgBB dapat menyebabkan berkurangnya diameter tubulus seminiferus mencit, dan setiap penambahan dosis dengan interval 25 mg/kgBB atau lebih akan menyebabkan berkurangnya diameter tubulus seminiferus secara bermakna. Hal ini dibuktikan dengan uji HSD yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, seperti pada tabel 5.7. dalam penelitian terdahulu oleh Danial (2005)

sudah didapatkan Pb asetat per oral berpengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus.

6.3 Pengaruh Pb Asetat terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Epitel tubulus seminiferus tersusun oleh dua jenis sel, yaitu sel spermatogenik dan sel sertoli pada penelitian digunakan sel spermatosit, spermatid, dan sel sertoli. Satu siklus epitelium pada tikus dibedakan atas 14 jenis asosiasi sel dan memerlukan waktu 12,3 hari. Perubahan sel yang berasosiasi pada tahap tertentu dapat dijadikan indikator adanya gangguan spermatogenesis, seperti yang dikemukakan oleh Lu (1995) bahwa Pb dapat mengganggu proses spermatogenesis. Berdasarkan pada teori di atas dan lama siklus epitelium tubulus seminiferus maka perlakuan pada penelitian ini menggunakan waktu 14 hari.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa pemberian Pb asetat per oral pada mencit jantan selama 14 hari dengan dosis 25, 50, 75, 100 mg/kgBB/hari dapat mengurangi tebal epitel tubulus seminiferus (diagram 5.4, 5.5 dan 5.6), dengan uji Anova dan uji beda HSD serta uji t ternyata penurunan sel spermatogenik dan sel sertoli ini bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, kecuali P3 dan P2, P5 dan P4 tidak berbeda secara bermakna.

Terjadinya pengurangan tebal epitel tubulus seminiferus merupakan pengaruh langsung dari Pb asetat terhadap sel spermatogenik yang menimbulkan terjadinya degenerasi sel-sel spermatogenik yang berakibat berkurangnya sel-sel spermatogenik.

Seperti diketahui bahwa epitel tubulus seminiferus tersusun oleh sel spermatogenik dan sel sertoli, sehingga dengan adanya pengurangan sel spermatogenik dan sel sertoli akan menyebabkan pengurangan pada tebal epitel tubulus seminiferus. Hal ini juga dibuktikan oleh Danial (2005) bahwa pemberian Pb asetat peroral berpengaruh terhadap pengurangan tebal epitel tubulus seminiferus.

Selanjutnya bisa dilihat pada pembahasan tentang sel spermatosit, spermatid dan sel sertoli.

6.4 Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Spermatosit

Spermatosit merupakan bagian dari sel spermatogenik, pada penelitian ini digunakan spermatosit primer. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah sel spermatosit setelah dilakukan pemberian Pb asetat per oral pada mencit dengan dosis 25, 50, 75, 100 mg/kg BB/hari selama 14 hari (diagram 5.4), hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Lu (1995) yang menyatakan bahwa Pb asetat dapat mengganggu proses spermatogenesis.

Seperti diketahui bahwa Pb asetat bersifat toksik yang dapat mempengaruhi fungsi syaraf dan melemahkan reproduksi yaitu langsung mempengaruhi pusat syaraf endokrin (Lu, 1995, Lataillade et.al., 1993), sehingga akan menghambat sekresi GnRH pada hipofisis anterior akibatnya menurunkan sekresi FSH dan LH. Secara teoritis FSH dan LH diperlukan pada proses spermatogenesis baik kuantitatif maupun kualitatif. FSH bekerja pada sel sertoli dan menghasilkan protein pengikat androgen (ABP). ABP bekerjasama dengan testosteron merangsang pembentukan spermatozoa.

LH berpengaruh terhadap sel leydig untuk menghasilkan androgen. Apabila sekresi FSH dan LH menurun akibatnya terjadi penurunan ABP dalam sel sertoli dan testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig juga menurun. Demikian juga yang dikemukakan oleh Palar (1994) bahwa Pb asetat akan bereaksi langsung sel benih dengan cara mempengaruhi sintesis DNA, RNA dan protein, serta dapat menghambat testosteron sehingga mempengaruhi spermatogenesis.

Di dalam tubulus seminiferus testosteron diperlukan untuk perkembangan spermatosit primer (Norris, 1980) untuk proliferasi dan diferensiasi sel spermatogenik (Rose and Reith, 1985) pada tahap awal dan akhir spermatogenesis (Hadley, 1992). Jika testosteron dan LH dalam testis menurun akan terjadi umpan balik positif terhadap sekresi LH.

Dengan demikian maka Pb asetat tidak hanya menurunkan produksi FSH, LH dan testosteron tetapi juga mempengaruhi proses spermatogenesis, dari pernyataan ini dapat diasumsikan bahwa mekanisme kerja Pb asetat dapat melalui :

1. Langsung menghambat hipotalamus

Hambatan ini dapat menyebabkan penurunan GnRH yang selanjutnya menghambat hipofise anterior untuk mensintesis dan mensekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) selanjutnya menuju organ target menghambat spermatogenesis.

2. Menghambat hipofisis anterior

Diduga Pb asetat menghambat HA untuk mensekresi FSH dan LH yang selanjutnya menuju organ target menghambat spermatogenesis.

6.6 Pengaruh Pb Asetat terhadap Jumlah Sel Sertoli

Sel sertoli terletak di dalam ruang antara tubulus seminiferus berbentuk dasar kolumner dengan prosesus apikal dan lateral yang mengisi ruang diantara sel spermataogenik, berinti ovoid atau triangular. Sel sertoli yang berdekatan dihubungkan oleh *tight junction* dan *get junction* (Ross and Reith, 1995).

Dari hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah sel sertoli setelah 14 hari perlakuan menurun dibanding dengan jumlah sel sertoli pada kelompok kontrol (tabel 5.6), di mana perbedaan ini bermakna secara statistik ($p < 0,05$) pada masing-masing variabel.

Penurunan jumlah sel sertoli ini kemungkinan disebabkan oleh terjadinya penurunan hormon FSH setelah pemberian Pb asetat. Akibat terjadinya hambatan stimulasi endokrin ini sel akan beradaptasi dengan mereduksi komponen-komponen selnya dengan jalan meningkatkan aktivitas protease proteolitik sebagai mekanisme adaptasi. Dan dalam keadaan demikian sel sertoli akan mereduksi mitokondria dan retikulum endoplasmik (Bardin, 1988). Kondisi kekurangan yang berkepanjangan akan mengakibatkan ukuran sel terus menyusut akan mengalami atropi, sel sertoli nampak pipih dengan inti pipih.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan :

1. Pemberian Pb Asetat per oral tidak berpengaruh terhadap penurunan berat testis mencit. Hal ini ditunjukkan pada hasil penelitian didapatkan penurunan berat testis mencit tidak berbeda secara bermakna.
2. Pemberian Pb Asetat per oral berpengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus testis mencit. Dari hasil penelitian didapatkan pengurangan diameter tubulus seminiferus pada mencit setelah diberikan Pb Asetat per oral dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB.
3. Pemberian Pb Asetat per oral dapat menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus.
4. Pemberian Pb Asetat per oral dapat menurunkan jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus mencit.
5. Pemberian Pb Asetat per oral dapat menurunkan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit.
6. Pemberian Pb Asetat per oral dapat menurunkan jumlah sel sertoli testis mencit.

7.2 Saran

Perlu kajian lebih lanjut tentang pengaruh Pb Asetat per oral terhadap hormon androgen dan gonodotropin.



DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Anderson, LL. , JG. Beraldinelli, PV. Malven, And Ford, JJ. 1982. **Prolactin Secretion After Hypophysial Stalk Transection in Endocrinology** 111. P. 380 - 384.
- Adimoelja, A. 1987. **Endrokinologi Reproduksi Laki-laki. Pra Kursus Penyegar Spermatologi II**. Penerbit Laboratorium Biomedik Universitas Airlangga . Hal 71 – 73.
- Adiwisastro, A , 1987. **Keracunan, Sumber Bahaya, serta Penanggulangannya**. Penerbit Angkasa Bandung.
- Bardin, CW., CY. Cheng, NA. Musto and GL. GUNSALUS. 1988. **The Sertoli Cell in The Physiology of Reproduction**. Raven Press Ltd. New York. P. 920 – 925.
- Bennet JP., and BH. Vickery, 1970. Rats and Mice in Hafez ESE. (ed). **Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal**. Lea and Febiger. Philadelphia. P. 299 – 315.
- Bevelander, G. and A. Ramaley, 1988. **Histologi Dasar. ED.8**. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hal. 340 – 363.
- Caldwell B.V. 1983. **Prolactin Hypersecretion and Infertility. Perspectives Prolactin I**. Travenol Laboratories Inc. USA. Vol. 5 (1). P. 115 – 117.
- Danial. 2005. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Asetat per Oral terhadap Berat Testis, Diameter Tubulus Seminiferus, dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan. Tesis. Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Darmono. 1983. **Beberapa Logam Berat dan Hubungannya dengan Keracunan pada Ternak**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Bogor.
- Dellman HT., EM. Brown, 1978. **Texbook of Veterinary Histology**. Lea and Febiger. Philadelphia. P. 282 - 334.
- DeKretser, M. and JB. Kerr. 1978. **The Cytology of The Testis in The Physiology of Reproduction** (edited by: E. Knobil, J. Neill, LL. Ewing and GS. Greenwald). Raven Press Ltd. New York. P. 837-916.

- Filov, VA, AL. Bardnan, , BA. Ivin, 1993. **Harmful Substance Volume I : Element in Group I-IV of The Periodic Tablet and The is Inorganic Compounds.** Ellis Horwoos Ltd. England. pp. 65-94.
- Ganong, WF. 1993. **Review of Medical Physiology.** 16th Ed. Prentice Hall Inc. New Jersey. P. 70, 118, 184, 192-193.
- Gilbert, SF. 1991. **Development Biology,** 3rd Ed. Sinaeur Associates Inc. Massachusetts. P. 234-235.
- Hadley, EM. 1992. **Endocrinology.** Willey Eastern Private Ltd. New Delhi. P. 119,190.
- Halaz, T. and L. Pupp, 1965. Hormone Secretion of The Anterior Pituitary Gland after Physical Interruption of All Pathway to The Hypophysiotropic Area. **Endocrinology.** 77 : 553-562.
- Kruk, ZL. and CJ. PycocK, 1983. **Neurotransmitters and Drugs,** 2nd Ed. Croom Helma. London and Canberra. P. 96.
- Lu, FC. 1995. **Toksikologi Dasar, Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko,** Edisi Kedua. Penerbit UI Jakarta. Hal. 206-219, 358-360.
- Maekawa, K., ZS. Ji and SI. Abe. 1995. Proliferation of New Spermatogonia by Mamalian FSH via Sertoli Cells in vivo. **Journ. of Experimental Zoology.** Vol. 272. No. 5.
- Mukono. 2002. **Epidemologi Lingkungan.** Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 133-142.
- Nalbandov, AV. 1990. **Fisiologi Reproduksi Mamalia dan Unggas.** Universitas Indonesia Press. Jakarta. Hal. 247-261.
- Nansel, DD., GA. Guldelsky, and JC. Porte 1979. Subcellar Localization of Dopamine in The Anterior Pituitary Gland of The Rat : Apparent Association of Dopamine with Prolactine Secretion Granules. **Endocrinology.** 105 : 1073-1088.
- Palar, H. 1994. **Toksikologi Logam Berat.** PT. Rineka Cipta. Jakarta. Hal. 9-59, 74-93.
- Rahayu, S. 1994. **Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Buah Avicennia Marina (Forsk) Vierh dan Pengaruhnya terhadap Perkembangan Embrio pada Mencit.** Thesis. Unair. Surabaya. Hal. 19-25.

Lampiran 1

PEMBUATAN PREPARAT HISTOLOGI

1. Tesis diambil dari hewan percobaan
2. Fiksasi, meliputi :
 - 2.1 Dimasukkan larutan Bouin 8-9 jam
 - 2.2 Dipotong melintang tepat di tengah-tengah testis, kira-kira 0,5 cm
 - 2.3 Dimasukkan larutan Bouin 16-24 jam
3. Dehidrasi, meliputi :
 - 3.1 Dimasukkan larutan alkohol 70% 1 jam
 - 3.2 Dimasukkan larutan alkohol 80% 1 jam
 - 3.3 Dimasukkan larutan alkohol 90% 1 jam
 - 3.4 Dimasukkan larutan alkohol absolut 1 jam
 - 3.5 Dimasukkan ke dalam xyten 2 kali masing-masing 1 jam
4. Pembuatan blok parafin, meliputi :
 - 4.1 Dimasukkan dalam parafin cair 58⁰C 3 kali masing-masing 1 jam
 - 4.2 Dicetak jadi blok parafin
5. Pemotongan blok parafin, meliputi :
 - 5.1 Blok parafin disimpan dalam lemari es
 - 5.2 Dipotong dengan tebal 4-6 mikron
 - 5.3 Ditampung pada obyek gelas yang telah dilapisi perekat (gliserin+albumin)
 - 5.4 Dioven 58⁰C 30-60 menit
 - 5.5 Dichelupkan dalam Xylen 2 kali masing-masing 3-5 menit
 - 5.6 Dichelupkan alkohol absolut selama 1 menit

5.7 Dichelupkan alkohol 80% 1 menit

5.8 Dichelupkan alkohol 70% 1 menit

5.9 Dibilas air mengalir 5-10 menit

6. Pewarnaan, meliputi :

6.1 Dichelupkan dalam reagen Schiff 15 menit

6.2 Dichelupkan dalam amoniak water selama 5 menit

6.3 Dicuci air mengalir 15 menit

6.4 Dimasukkan dalam Hharri's Hematoxylin 6 menit

6.5 Dicuci air mengalir

6.6 Didehidrasi dengan alkohol 80%, alkohol 95% dan alkohol absolut masing-masing selama 1 menit

6.7 Dichelupkan ke dalam xylol 2 kali masing-masing 2 menit

6.8 Dimounting dengan Canada Balsam, lalu ditutup dengan kaca penutup lalu dikeringkan dalam oven selama 24 jam

Hasil : Glikogen, musin, asam hyaluranidase, retikulin, fibrin dari trombin, koloid droplet, hialin dari arteriosclerosis, hialin dari deposit dalam glomeruli, sel-sel granuler dalam arteriole renal, sebagian besar membran basalis, koloid dari tangkai hipofisis dan tiroid, infiltrasi amiloid atau elemen lain yang menunjukkan reaksi positif berwarna merah mawar sampai merah keunguan.

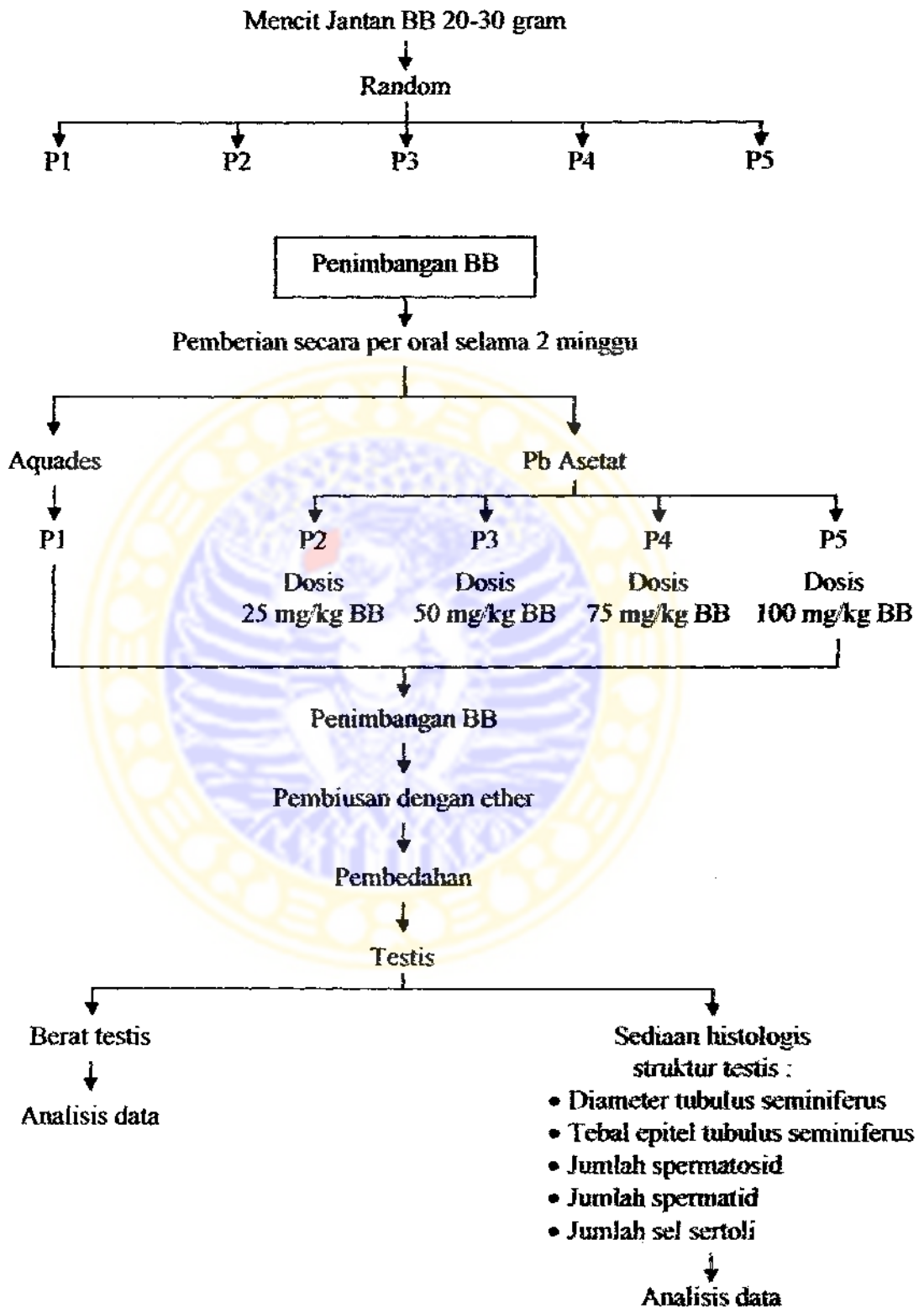
Nuklei berwarna biru

Jamur berwarna merah

Latar belakang berwarna hijau pucat (dengan *counterstain* hijau terang)

Lampiran 2

Skema Pelaksanaan Perlakuan Penelitian



Lampiran 3

Berat testis, Diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit

Tabel 1. Berat testis mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari (gram)

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	0.071	0.045	0.076	0.100	0.090
2	0.081	0.063	0.073	0.101	0.090
3	0.095	0.089	0.069	0.065	0.081
4	0.120	0.077	0.078	0.074	0.081
5	0.091	0.065	0.061	0.050	0.061
6	0.085	0.085	0.066	0.075	0.082
7	0.076	0.095	0.068	0.079	0.080
8	0.072	0.068	0.071	0.079	0.076

Tabel 2. Diameter tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari (μm)

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	81.00	78.67	66.00	57.33	49.33
2	81.00	80.33	67.67	58.67	48.67
3	82.00	78.33	67.67	59.33	50.67
4	81.67	80.33	68.33	58.33	46.00
5	81.00	78.00	71.00	57.67	46.00
6	82.67	78.33	68.33	56.67	49.00
7	83.00	78.00	69.67	55.33	47.33
8	83.00	79.33	67.00	56.00	49.00

Tabel 3. Tebal epitel tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari (μm)

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	38.33	35.00	36.00	31.67	31.66
2	36.67	36.67	35.33	32.33	33.33
3	40.00	36.33	34.33	32.33	33.33
4	38.00	36.33	35.33	33.33	32.67
5	38.33	36.33	35.67	32.33	32.33
6	38.33	38.00	34.33	33.33	30.00
7	37.67	36.33	36.67	33.67	33.33
8	37.00	36.33	36.67	33.33	33.33

Keterangan :

- P1 : Kontrol
 P2 : Pemberian Pb Asetat 25 mg/kg BB
 P3 : Pemberian Pb Asetat 50 mg/kg BB
 P4 : Pemberian Pb Asetat 75 mg/kg BB
 P5 : Pemberian Pb Asetat 100 mg/kg BB

Lampiran 4

Jumlah spermatisit, spermatid dan sel sertoli dalam tubulus seminiferus mencit

Tabel 1. Jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari (gram)

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	68.33	65.00	58.33	48.33	45.00
2	68.33	65.00	57.00	45.00	39.00
3	68.33	66.67	57.67	44.33	40.00
4	68.33	65.00	55.00	46.00	40.00
5	67.67	65.00	59.33	45.00	40.33
6	68.33	65.00	57.67	45.00	40.67
7	69.33	66.00	58.33	47.67	40.00
8	68.67	66.67	58.33	47.67	39.33

Tabel 2. Jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	160.00	148.33	145.00	133.33	98.33
2	163.33	148.33	145.00	135.00	111.67
3	166.67	151.67	146.67	133.33	111.67
4	168.33	158.33	141.67	135.00	103.33
5	170.00	158.33	138.33	133.33	90.00
6	170.00	155.00	136.67	136.67	95.00
7	170.00	156.67	141.67	133.33	108.33
8	168.33	153.33	138.33	135.00	100.00

Tabel 3. Jumlah sel sertoli dalam tubulus seminiferus mencit setelah pemberian Pb Asetat per oral selama 14 hari

Ulangan	P1	P2	P3	P4	P5
1	59.33	53.33	47.67	40.00	35.00
2	58.33	53.33	48.33	38.33	36.67
3	59.33	53.33	48.33	38.33	35.00
4	59.33	55.00	49.33	38.33	38.33
5	58.00	55.00	48.33	38.33	36.67
6	59.33	56.67	48.33	38.33	38.33
7	57.67	56.67	46.67	40.00	33.33
8	59.33	56.67	46.00	41.00	35.00

Keterangan :

- P1 : Kontrol
 P2 : Pemberian Pb Asetat 25 mg/kg BB
 P3 : Pemberian Pb Asetat 50 mg/kg BB
 P4 : Pemberian Pb Asetat 75 mg/kg BB
 P5 : Pemberian Pb Asetat 100 mg/kg BB

Lampiran 5

Hasil analisis anova satu arah pengaruh pemberian Pb Asetat per oral terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatisit dan jumlah sel sertoli

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

N	Normal Parameters ^a	Mean	Std. Deviation	berat testis	diameter tubulus seminiferus	tebal epitel seminiferus	jumlah spermatisit	jumlah spermatisit	jumlah sel sertoli
40	Mean	.07685	Std. Deviation	40	66.9415	40	40	40	40
	Most Extreme Differences	.014181	Absolute Positive	.014181	12.94580	2.33321	35.0570	56.6413	47.3655
		.110	Negative	.110	.204	.145	1.45	10.98325	8.99185
	Kolmogorov-Smirnov Z	-.067		-.067	-.204	-.132	.145	.203	.169
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.695		.695	1.287	.920	-.132	-.203	-.146
		.719		.719	1.287	.385	.920	1.283	1.067
					.073		.385	.074	.205

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

berat testis	kontrol	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean				Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound		
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	.08538	.016071	.005682	.07294	.09782	.05951	.11521	.071	.120
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	.07308	.018053	.005782	.05970	.08646	.04205	.11091	.045	.095
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	.07025	.005497	.001943	.06565	.07485	.051	.090	.051	.078
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	.07788	.016873	.005985	.06377	.09199	.02198	.11101	.052	.101
Total	Total	40	.07636	.016842	.003727	.06736	.08519	.06519	.10400	.040	.144
diameter tubulus seminiferus	kontrol	8	81.9175	888068	31349	81.1762	82.6589	81.000	82.900	81.00	82.90
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	78.9150	97068	34319	78.1036	79.7265	78.00	80.33	78.00	80.33
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	88.2088	1.55289	54886	86.9107	89.5069	86.00	91.00	86.00	91.00
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	57.4163	1.36571	48295	56.2745	58.5582	55.33	59.33	55.33	59.33
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	48.2500	1.69028	58700	46.8630	49.6370	46.00	50.67	46.00	50.67
Total	Total	40	66.9415	12.94580	2.04661	62.8072	71.0818	46.00	83.00	46.00	83.00
tebal epitel tubulus seminiferus	kontrol	8	38.0413	1.01354	35834	37.1839	38.8986	36.67	40.00	36.67	40.00
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	36.4150	81202	28709	35.7351	37.0935	35.00	39.00	35.00	39.00
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	35.5413	91016	30179	34.7803	36.3022	34.33	36.67	34.33	36.67
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	32.7800	71088	25157	32.1056	33.3844	31.67	33.67	31.67	33.67
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	32.4975	1.18134	41767	31.5098	32.4851	30.00	33.33	30.00	33.33
Total	Total	40	35.0670	2.33321	36887	34.3106	35.8032	30.00	40.00	30.00	40.00
jumlah spermatisid	kontrol	8	68.2800	27733	69805	68.0587	68.5219	67.67	68.67	68.67	69.67
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	65.5425	77675	27482	64.8931	66.1919	65.00	66.67	65.00	66.67
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	57.7075	1.28897	46570	56.6299	58.7951	55.00	59.33	55.00	59.33
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	46.1290	1.54322	54551	44.8348	47.4152	44.33	48.33	44.33	48.33
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	40.5413	1.87765	86384	38.9730	42.1105	38.00	45.00	38.00	45.00
Total	Total	40	55.6413	10.98325	1.73690	52.1296	59.1539	38.00	68.67	38.00	68.67
jumlah sertoli	kontrol	8	167.0825	3.64616	1.28811	164.0342	170.1308	162.00	170.00	162.00	170.00
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	153.7488	4.05845	1.43488	150.3658	157.1417	148.33	159.33	148.33	159.33
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	141.6875	3.67402	1.29685	136.5959	144.7587	136.67	146.67	136.67	146.67
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	134.3738	1.24252	43930	133.3350	135.4125	133.33	136.67	133.33	136.67
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	102.2913	7.91694	2.79874	95.6733	108.9092	99.00	111.67	99.00	111.67
Total	Total	40	139.8328	22.52189	3.56102	132.6299	147.6255	99.00	170.00	99.00	170.00
jumlah sel sertoli	kontrol	8	58.8313	7.1058	25722	58.4252	58.4252	57.67	58.33	57.67	58.33
Pb asetat 25mg/kgBB	kontrol	8	55.0000	1.54612	54854	53.7074	55.2928	53.33	55.67	53.33	55.67
Pb asetat 50mg/kgBB	kontrol	8	47.8738	1.06832	37589	46.9825	48.7650	46.00	49.33	46.00	49.33
Pb asetat 75mg/kgBB	kontrol	8	39.0813	1.08178	38247	38.1788	39.9855	38.33	41.00	38.33	41.00
Pb asetat 100mg/kgBB	kontrol	8	36.0413	1.76760	62494	34.9635	37.5150	33.33	38.33	33.33	38.33
Total	Total	40	47.3655	8.99185	1.42174	44.4888	50.2412	33.33	59.33	33.33	59.33

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
berat testis	1.547	4	35	.210
diameter tubulus seminiferus	.981	4	35	.431
tebal epitel tubulus seminiferus	.536	4	35	.710
jumlah spermatisid	2.486	4	35	.061
jumlah spermatid	5.706	4	35	.001
jumlah sel sertoli	2.394	4	35	.069

Oneway**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
berat testis	Between Groups	.001	4	.000	1.551	.209
	Within Groups	.007	35	.000		
	Total	.008	39			
diameter tubulus seminiferus	Between Groups	6474.830	4	1618.708	923.820	.000
	Within Groups	61.327	35	1.752		
	Total	6536.157	39			
tebal epitel tubulus seminiferus	Between Groups	181.398	4	45.349	51.346	.000
	Within Groups	30.913	35	.883		
	Total	212.310	39			
jumlah spermatisid	Between Groups	4646.912	4	1161.728	704.390	.000
	Within Groups	57.724	35	1.649		
	Total	4704.637	39			
jumlah sel sertoli	Between Groups	3094.998	4	773.750	464.633	.000
	Within Groups	58.285	35	1.665		
	Total	3153.283	39			

Lampiran 6

Tingkat signifikansi perbedaan antar kelompok (HSD) berat testis, diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatozoi dan jumlah sel sertoli

Post Hoc Tests

Tungay HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(1) Independent Variable	(2) Independent Variable	Mean (LJ)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
Diameter Tubulus seminiferus	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	013000	0,00988	344	-0,00988	0,02985	
		Po asetat 50mg/kgBB	018125	0,00988	457	-0,03771	0,02985	
		Po asetat 75mg/kgBB	009500	0,00988	735	-0,11338	0,02985	
		Po asetat 100mg/kgBB	010972	0,00988	831	-0,09303	0,02985	
	Po asetat 25mg/kgBB	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	013000	0,00988	344	-0,02283	0,00988
		kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	003125	0,00988	925	-0,07671	0,02985
		kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	010972	0,00988	982	-0,02985	0,00988
		kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	018125	0,00988	147	-0,00988	0,00988
	Po asetat 50mg/kgBB	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	-0,001125	0,00988	561	-0,02283	0,00988
		kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	-0,007625	0,00988	803	-0,07671	0,00988
		kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	-0,008125	0,00988	899	-0,02985	0,00988
		kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	003125	0,00988	982	-0,02985	0,00988
Po asetat 75mg/kgBB	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	009500	0,00988	801	-0,02985	0,00988	
	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	003125	0,00988	982	-0,07671	0,00988	
	kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	009500	0,00988	899	-0,02985	0,00988	
	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	010972	0,00988	982	-0,02985	0,00988	
Po asetat 100mg/kgBB	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	009500	0,00988	801	-0,02985	0,00988	
	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	003125	0,00988	982	-0,07671	0,00988	
	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	009500	0,00988	899	-0,02985	0,00988	
	kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	010972	0,00988	982	-0,02985	0,00988	
Diameter Tubulus seminiferus	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	3,00250*	66,185	600	2,80234	3,20266	
		Po asetat 50mg/kgBB	10,70825*	66,185	600	9,50234	11,90816	
		Po asetat 75mg/kgBB	21,49875*	66,185	600	19,89281	23,10470	
		Po asetat 100mg/kgBB	30,86925*	66,185	600	28,78321	32,95529	
	Po asetat 25mg/kgBB	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	13,70625*	66,185	600	12,50234	14,90816
		kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	24,50125*	66,185	600	22,58284	26,42166
		kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	33,89125*	66,185	600	31,78321	36,00070
		kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	3,00250*	66,185	600	2,80234	3,20266
	Po asetat 50mg/kgBB	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	11,70375*	66,185	600	11,18016	12,22734
		kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	21,09375*	66,185	600	20,57016	21,61754
		kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	3,00250*	66,185	600	2,80234	3,20266
		kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	10,70825*	66,185	600	9,50234	11,90816
Po asetat 75mg/kgBB	kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	19,98125*	66,185	600	18,78166	21,18684	
	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	29,37125*	66,185	600	28,17166	30,57684	
	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	38,76125*	66,185	600	37,15166	39,96684	
	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	48,15125*	66,185	600	46,54166	49,75684	
Po asetat 100mg/kgBB	kontrol	Po asetat 25mg/kgBB	37,54125*	66,185	600	36,13166	38,95166	
	kontrol	Po asetat 50mg/kgBB	46,93125*	66,185	600	45,52166	48,34166	
	kontrol	Po asetat 75mg/kgBB	56,32125*	66,185	600	54,91166	57,73166	
	kontrol	Po asetat 100mg/kgBB	65,71125*	66,185	600	64,30166	66,52166	

jumlah qornasobal	Horstax	Po sabel 25mg/kg/33	Po sabel 50mg/kg/33	Po sabel 75mg/kg/33	Po sabel 100mg/kg/33	Horstax	Po sabel 25mg/kg/33	Po sabel 50mg/kg/33	Po sabel 75mg/kg/33	Po sabel 100mg/kg/33	Horstax	Po sabel 25mg/kg/33	Po sabel 50mg/kg/33	Po sabel 75mg/kg/33	Po sabel 100mg/kg/33	Horstax	Po sabel 25mg/kg/33	Po sabel 50mg/kg/33	Po sabel 75mg/kg/33	Po sabel 100mg/kg/33			
jumlah sabel	Horstax	2,74920*	18,58250*	22,18500*	27,74875*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212		
		3,74920*	22,18500*	27,74875*	32,30750*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	
		4,74920*	26,78250*	32,30750*	37,86625*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212
		5,74920*	30,38000*	35,90500*	41,41750*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212
jumlah sabel	Horstax	22,18500*	26,78250*	32,30750*	37,86625*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212		
		27,74875*	32,30750*	37,86625*	43,42500*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	
		32,30750*	37,86625*	43,42500*	48,98375*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212
		37,86625*	43,42500*	48,98375*	54,54250*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212
jumlah sabel	Horstax	32,30750*	37,86625*	43,42500*	48,98375*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212		
		37,86625*	43,42500*	48,98375*	54,54250*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	
		43,42500*	48,98375*	54,54250*	60,10125*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212
		48,98375*	54,54250*	60,10125*	65,66000*	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212	6,4212

* The mean difference is significant at the 0.05 level.



Homogeneous Subsets

berat testis

Tukey HSD^a

kjp perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
Pb asetat 50mg/kgBB	8	.07025
Pb asetat 25mg/kgBB	8	.07338
Pb asetat 100mg/kgBB	8	.07638
Pb asetat 75mg/kgBB	8	.07788
kontrol	8	.08638
Sig.		.157

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

diameter tubulus seminiferus

Tukey HSD^a

kjp perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
Pb asetat 100mg/kgBB	8	48.2500				
Pb asetat 75mg/kgBB	8		57.4163			
Pb asetat 50mg/kgBB	8			68.2088		
Pb asetat 25mg/kgBB	8				78.9150	
kontrol	8					81.9175
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

tebal epitel tubulus seminiferus

Tukey HSD^a

kjp perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Pb asetat 100mg/kgBB	8	32.4975		
Pb asetat 75mg/kgBB	8	32.7900		
Pb asetat 50mg/kgBB	8		35.5413	
Pb asetat 25mg/kgBB	8		36.4150	
kontrol	8			38.0413
Sig.		.970	.357	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

jumlah spermatozoidTukey HSD^a

kjp perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
Pb asetat 100mg/kgBB	8	40.5413				
Pb asetat 75mg/kgBB	8		46.1250			
Pb asetat 50mg/kgBB	8			57.7075		
Pb asetat 25mg/kgBB	8				65.5425	
kontrol	8					68.2900
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

jumlah sel sertoliTukey HSD^a

kjp perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
Pb asetat 100mg/kgBB	8	36.0413				
Pb asetat 75mg/kgBB	8		39.0813			
Pb asetat 50mg/kgBB	8			47.8738		
Pb asetat 25mg/kgBB	8				55.0000	
kontrol	8					58.8313
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 7

Tingkat signifikansi perbedaan jumlah spermatid rata-rata antar kelompok dengan uji T

T-Test

Group Statistics

kjp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	kontrol	8	167.0825	3.64616	1.28911
	Pb asetat 25mg/kgBB	8	153.7488	4.05845	1.43488

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatid	Equal variances assumed	.271	.611	6.913	14	.000	13.33375	1.92891	9.19665	17.47085
	Equal variances not assumed			6.913	13.842	.000	13.33375	1.92891	9.19223	17.47527

T-Test

Group Statistics

kjp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	kontrol	8	167.0825	3.64616	1.28911
	Pb asetat 50mg/kgBB	8	141.6675	3.67402	1.29896

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatid	Equal variances assumed	.011	.917	13.888	14	.000	25.41500	1.83006	21.48992	29.34008
	Equal variances not assumed			13.888	13.999	.000	25.41500	1.83006	21.48990	29.34010

T-Test

Group Statistics

kip perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	kontrol	8	167.0825	3.64616	1.28911
	Pb asetat 75mg/kgBB	8	134.3738	1.24252	.43930

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
jumlah spermatid	Equal variances assumed	5.486	.034	24.017	14	.000	32.70875	1.36191	29.78775	35.62975
	Equal variances not assumed			24.017	8.604	.000	32.70875	1.36191	29.60615	35.81134

T-Test

Group Statistics

kip perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	kontrol	8	167.0825	3.64616	1.28911
	Pb asetat 100mg/kgBB	8	102.2913	7.91604	2.79874

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
jumlah spermatid	Equal variances assumed	5.528	.034	21.027	14	.000	64.79125	3.08136	58.18239	71.40011
	Equal variances not assumed			21.027	9.842	.000	64.79125	3.08136	57.91061	71.67189

T-Test

Group Statistics

Klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	Pb asetat 25mg/kgBB	8	153.7488	4.05845	1.43488
	Pb asetat 50mg/kgBB	8	141.6675	3.67402	1.29896

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatid	Equal variances assumed	.183	.675	6.242	14	.000	12.08125	1.93551	7.93000	16.23250
	Equal variances not assumed			6.242	13.864	.000	12.08125	1.93551	7.92617	16.23633

T-Test

Group Statistics

Klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatid	Pb asetat 25mg/kgBB	8	153.7488	4.05845	1.43488
	Pb asetat 75mg/kgBB	8	134.3738	1.24252	.43930

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatid	Equal variances assumed	10.312	.006	12.911	14	.000	19.37500	1.50062	16.15649	22.59351
	Equal variances not assumed			12.911	8.301	.000	19.37500	1.50062	15.93627	22.81373

T-Test

Group Statistics

Kp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatis	Pb asetat 25mg/kgBB	8	153.7488	4.05845	1.43488
	Pb asetat 100mg/kgBB	8	102.2913	7.91604	2.79874

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatis	Equal variances assumed	4.165	.061	16.361	14	.000	51.45750	3.14513	44.71167	56.20313
	Equal variances not assumed			16.361	10.442	.000	51.45750	3.14513	44.48972	58.42528

T-Test

Group Statistics

Kp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatis	Pb asetat 50mg/kgBB	8	141.6675	3.67402	1.29896
	Pb asetat 75mg/kgBB	8	134.3738	1.24252	.43930

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatis	Equal variances assumed	6.914	.020	5.319	14	.000	7.29375	1.37123	4.36274	10.23476
	Equal variances not assumed			5.319	8.581	.001	7.29375	1.37123	4.16353	10.41897

T-Test

Group Statistics

k/p perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatoid	Pb asetat 50mg/kgBB	8	141.6675	3.67402	1.29896
	Pb asetat 100mg/kgBB	8	102.2913	7.91604	2.79874

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatoid	Equal variances assumed	5.347	.036	12.762	14	.000	39.37625	3.08549	32.75853	45.99397
	Equal variances not assumed			12.762	9.882	.000	39.37625	3.09549	32.49020	46.26230

T-Test

Group Statistics

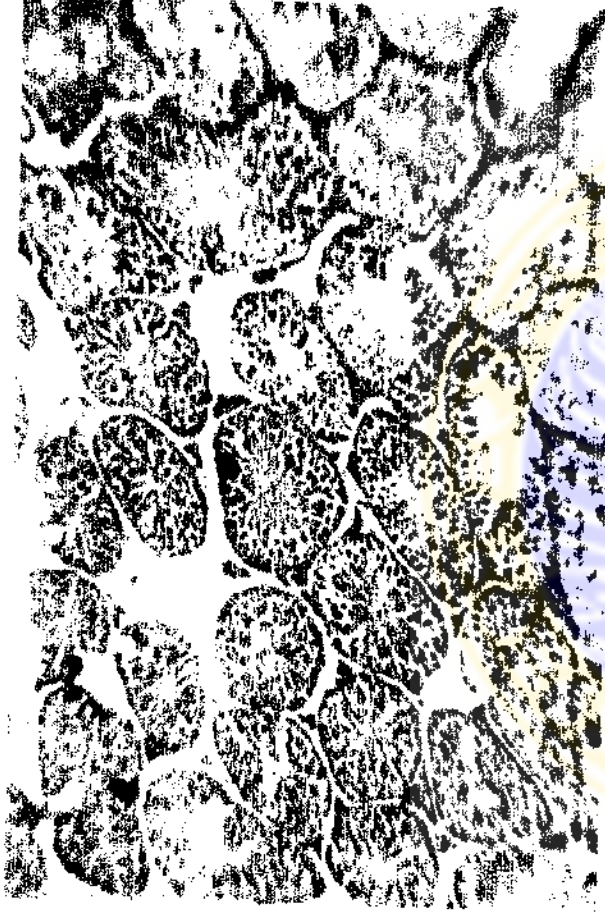
k/p perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah spermatoid	Pb asetat 75mg/kgBB	8	134.3738	1.24252	.43930
	Pb asetat 100mg/kgBB	8	102.2913	7.91604	2.79874

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
jumlah spermatoid	Equal variances assumed	15.344	.002	11.325	14	.000	32.08250	2.83301	26.00630	38.15870
	Equal variances not assumed			11.325	7.345	.000	32.08250	2.83301	25.44671	38.71829

Lampiran 8

GAMBAR PENAMPANG MELINTANG DAN STRUKTUR HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS KELOMPOK KONTROL



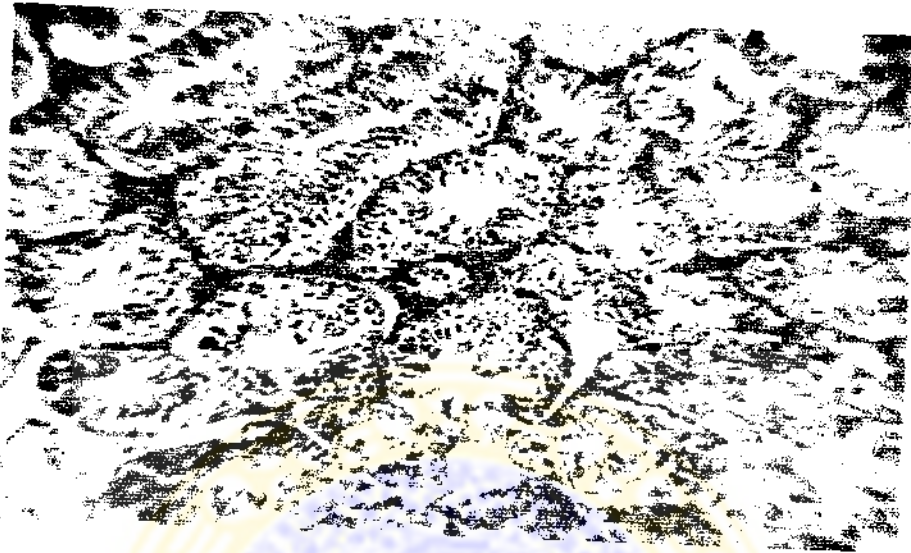
Gambar 1 Penampang melintang Tubulus Seminiferus kelompok kontrol pembesaran 10x10, dengan pewarnaan PAS



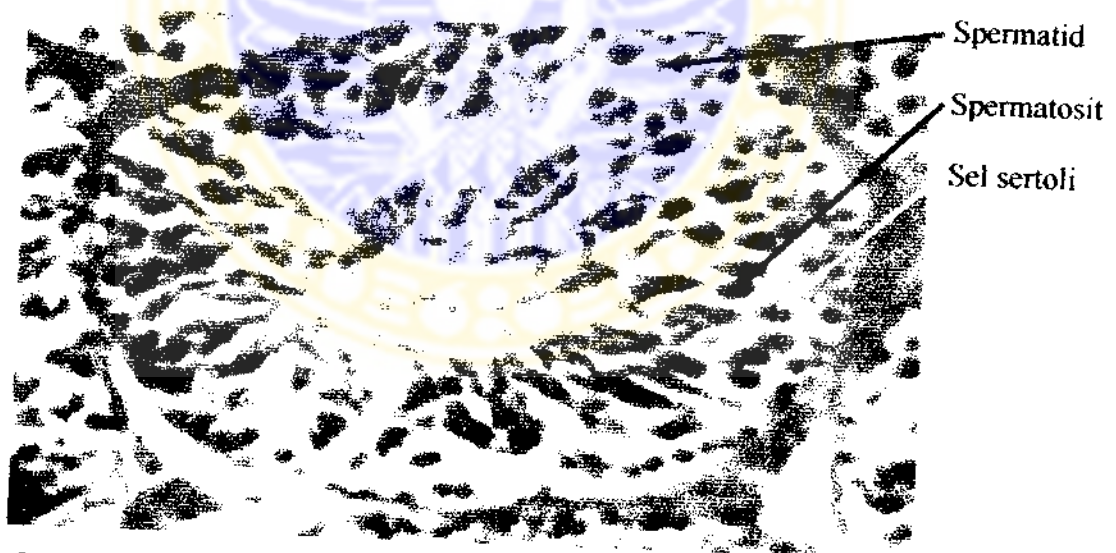
Gambar 2 Gambaran histologis Tubulus Seminiferus testis mencit kelompok kontrol pembesaran 10x40, dengan pewarnaan PAS

Lampiran 9

GAMBAR PENAMPANG MELINTANG DAN STRUKTUR HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS KELOMPOK PERLAKUAN Pb ASETAT 25 mg/kg BB/hari



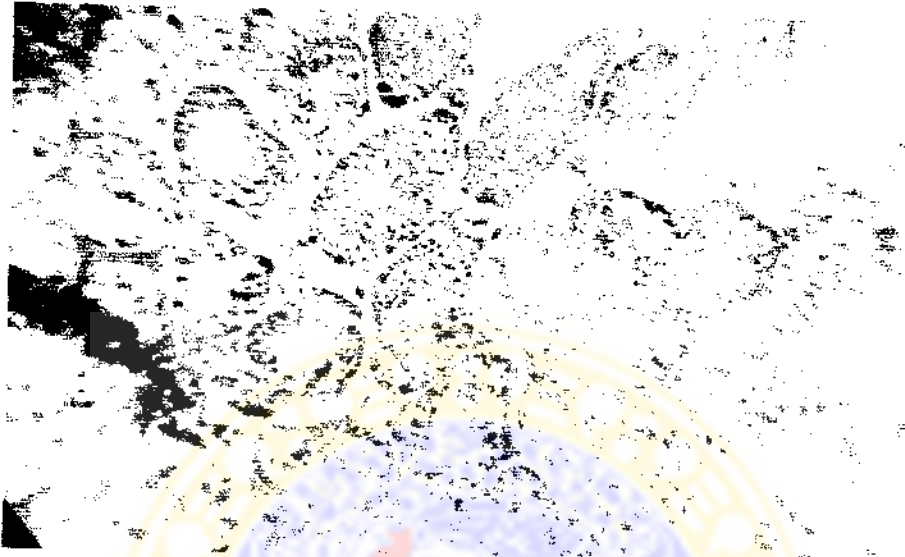
Gambar 1 Penampang melintang Tubulus Seminiferus kelompok perlakuan Pb asetat per oral 25 mg/kg BB, pembesaran 10x10, dengan pewarnaan PAS



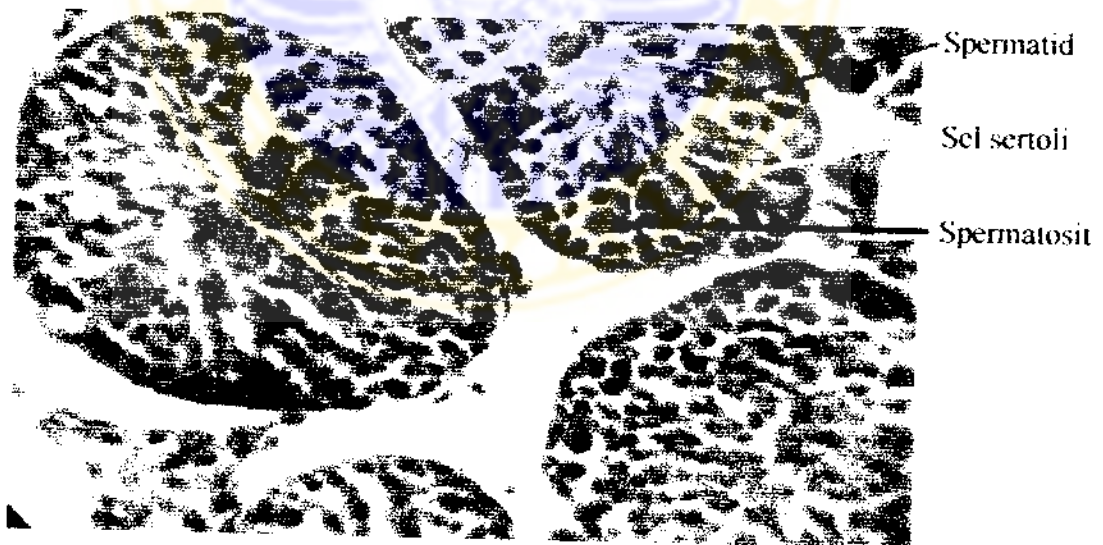
Gambar 2 Gambaran histologis Tubulus Seminiferus testis menciit kelompok perlakuan Pb asetat per oral 25 mg/kg BB, pembesaran 10x40, dengan pewarnaan PAS

Lampiran 10

GAMBAR PENAMPANG MELINTANG DAN STRUKTUR HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS KELOMPOK PERLAKUAN Pb ASETAT 50 mg/kg BB.hari



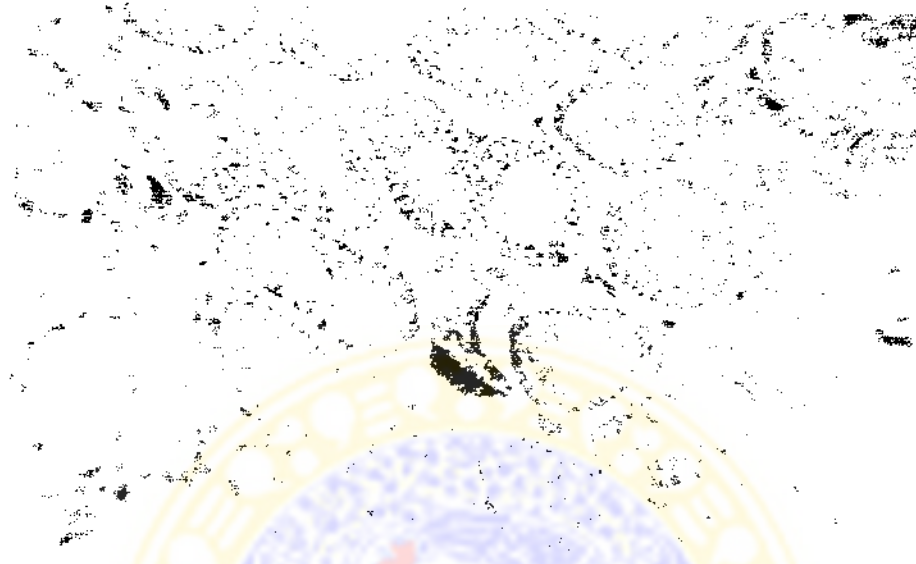
Gambar 1 Penampang melintang Tubulus Seminiferus kelompok perlakuan Pb asetat per oral 50 mg/kg BB, pembesaran 10x10, dengan pewarnaan PAS



Gambar 2 Gambaran histologis Tubulus Seminiferus testis mencit kelompok perlakuan Pb asetat per oral 50 mg/kg BB, pembesaran 10x40, dengan pewarnaan PAS

Lampiran 11

GAMBAR PENAMPANG MELINTANG DAN STRUKTUR HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS KELOMPOK PERLAKUAN Pb ASETAT 75 mg/kg BB.hari



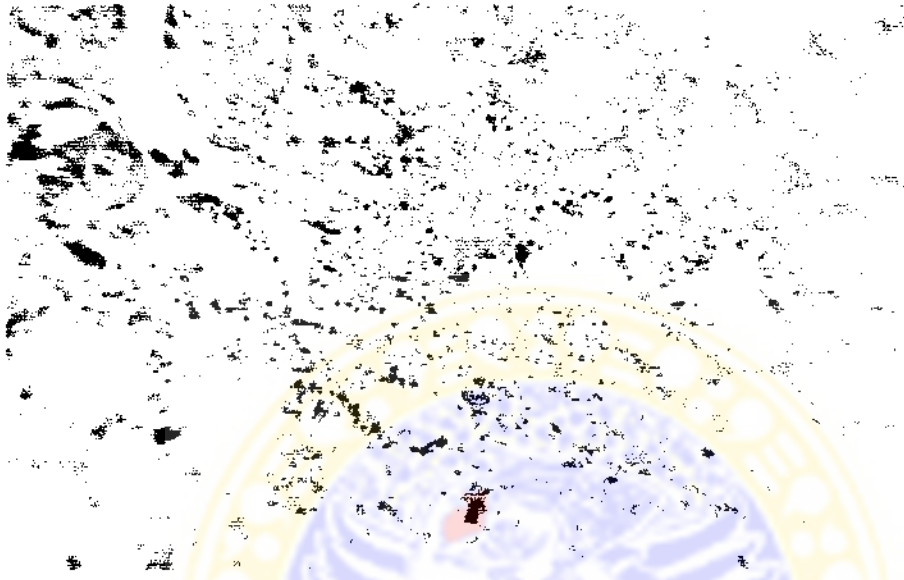
Gambar 1 Penampang melintang Tubulus Seminiferus kelompok perlakuan Pb asetat per oral 75 mg/kg BB,pembesaran 10x10, dengan pewarnaan PAS



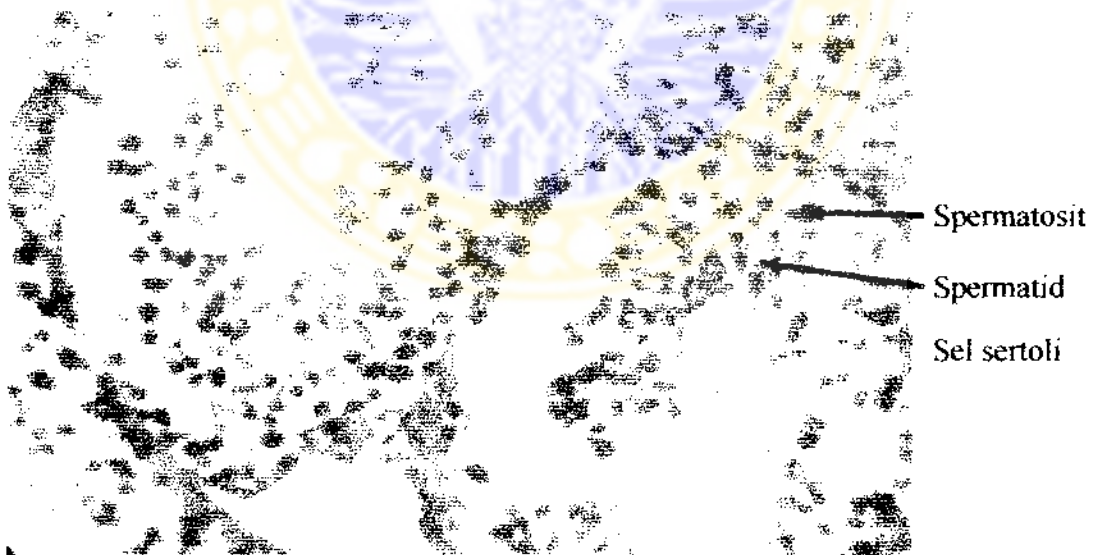
Gambar 5.8 Gambaran histologis Tubulus Seminiferus testis mencit kelompok perlakuan Pb asetat per oral 75 mg/kg BB, pembesaran 10x40, dengan pewarnaan PAS

Lampiran 12

GAMBAR PENAMPANG MELINTANG DAN STRUKTUR HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS KELOMPOK PERLAKUAN Pb ASETAT 100 mg/kg BB/hari



Gambar 1 Penampang melintang Tubulus Seminiferus kelompok perlakuan Pb asetat per oral 100 mg/kg BB, pembesaran 10x10, dengan pewarnaan PAS



Gambar 2 Gambaran histologis Tubulus Seminiferus testis mencit kelompok perlakuan Pb asetat per oral 100 mg/kg BB, pembesaran 10x40, dengan pewarnaan PAS



Lampiran 13

BERITA ACARA PERBAIKAN TESIS

Pada hari ini Selasa, tanggal dua puluh sembilan agustus tahun dua ribu enam mulai pukul 11.30 – 13.30 WIB di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga diselenggarakan Ujian Tesis yang disusun oleh :

Nama : **Masamah Almahmudah**
 NIM : **090315001M**
 Judul : **Pengaruh pemberian Pb Asetat peroral terhadap gambaran Tubulus Seminiferus, Sel Spermatogenik dan Sel Sertoli mencit (*Mus musculus*)**

Panitia Penguji Tesis terdiri dari :

		Tanda Tangan
1. Prof. Dr. H. Agus Abadi, dr., Sp. OG.(K)	Ketua 1.	
2. Dr. Hudi Winarso, dr., M.Kes., Sp.And.	Anggota 2.	
3. Dr. Wurlina Meles, drh., MS.	Anggota 3.	
4. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes.	Anggota 4.	
5. Dr. Rina Judiwati, dr., MS.	Anggota 5.	

Memutuskan bahwa ujian tesis bagi peserta tersebut :
Lulus dengan perbaikan

Ketua Panitia Penguji Tesis



Prof. Dr. H. Agus Abadi, dr., Sp. OG.(K)
 NIP. 130 422 894

Catatan :
 Penelitian dibimbing oleh :
 Pembimbing Ketua : Dr. Hudi Winarso, dr., M.Kes., Sp.And.
 Pembimbing : Dr. Wurlina Meles, drh., MS.
 Tesis Pengaruh pemberian....

Masamah Almahmudah