

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL ASETAT
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIK
TESTIS MENCIT**



OLEH :

S U B A I

NIM : 069211821

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1998**

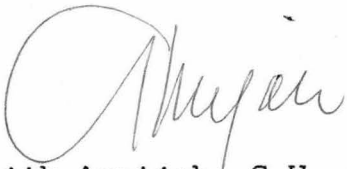
PENGARUH PEMERIAN TIMBAL ASETAT TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGIK
TESTIS MENCIT

Skripsi salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

S U B A I
NIM: 009211821

Menyetujui,
Komisi Pembimbing



Ajik Azmiah, S.U., drh
pembimbing pertama

E. Bimo Aksono H.P., M.Kes., drh
pembimbing kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh- sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Menyetujui,
Panitia Penguji,



Mohammad Moenif, M.S., drh.
Ketua



Choirul Anwar, M.S., drh.
Sekretaris



Widjiati, M.Si., drh.
Anggota



Aik azmijah, S.U., drh.
Anggota

E. Bimo Aksono H.P., M.Kes., drh.
Anggota

Surabaya, 8 Desember 1998
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga



Dekan,


Dr. Lemudiono, M.S., drh.

NIP : 130 687 297

PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN TIMBAL ASETAT
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIK
TESTIS MENCIT

S U B A I

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal asetat terhadap histopatologi testis mencit.

Dalam penelitian ini menggunakan 28 ekor mencit jantan dewasa kelamin yang dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing kelompok dilakukan pemberian 0.2 ml larutan timbal asetat dengan konsentrasi 0, 125, 250 dan 500 ppm setiap hari secara oral selama lima minggu. Ransum yang diberikan berupa pellet BR IC 511 produksi Charoen PokPhand dengan diberi minum (air PDAM)ukupnya. Data yang diperoleh dari penelitian tersebut dianalisis dengan uji F dilanjutkan uji BNT 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata timbal terhadap histopatologi testis mencit, hal ini ditandai dengan adanya penyusutan diameter tubulus seminiferus, pengurangan jumlah sel sertoli, spermatogonium, spermatid dan jumlah sel spermatozoa. Pengaruh tertinggi timbal terdapat pada konsentrasi pemberian 500 ppm, sedangkan pengaruh terendah pada konsentrasi pemberian 125 ppm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan makalah ini. Makalah ini disusun berdasarkan pada penelitian yang penulis lakukan didukung oleh beberapa literatur penunjang. Penulisan makalah ini merupakan kewajiban setiap mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang akan mengakhiri masa studi formal untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya dan rasa hormat atas bimbingan, bantuan moral dan material kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Ibu Ajik Azmijah, S.U., Drh selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak E. Bimo Aksono H.P., M.Kes., Drh selaku dosen pembimbing kedua.

Rasa hormat dan terima kasih yang tiada terhingga kepada Bapak dan Ibunda tercinta serta adikku tersayang yang telah memberikan dorongan semangat dan do'a restunnya selama penulisan dan penyusunan makalah ini. Semoga Allah SWT membalas amalan baik dan selalu memberikan rahmat serta perlindungan-Nya.

Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada rekan-rekan MENWA Unair, Kusuma, Basugi, Budi, Tin, Heru dan semua pihak yang telah membantu tersusunnya makalah ini. Semoga Allah SWT membalas budi baik rekan-rekan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan makalah ini masih banyak terdapat kekurangan-kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan makalah ini. Semoga tulisan yang singkat ini dapat bermanfaat dan memberikan tambahan pengetahuan bagi pembacanya.

Surabaya, Juni 1998

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	V
DAFTAR LAMPIRAN.....	Vi
DAFTAR GAMBAR	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Permasalahan.....	1
Perumusan Masalah	3
Tujuan Penelitian	3
Landasan Teori	3
Hipotesis Penelitian	4
Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
Karakteristik Timbal	5
Toksikologi Timbal dalam tubuh dan gejala yang ditimbulkan	7
Anatomi Testis	8
Fisiologi Testis	8
Histologi Testis	9
Spermatogenesis	10

BAB III. MATERI DAN METODE	11
Waktu dan Tempat Penelitian	11
Hewan Percobaan	11
Bahan Penelitian	12
Alat Penelitian	12
Jenis Penelitian dan Identifikasi...	13
Prosedur Penelitian	13
Analisa Data	14
BAB VI. HASIL PENELITIAN	15
BAB V. PEMBAHASAN	17
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	23
BAB VII. RINGKASAN	25
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

1. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus (μ) Pada Testis Mencit.....	39
2. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Sertoli Pada Testis Mencit.....	39
3. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium Pada Testis Mencit.....	40
4. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatid Pada Testis Mencit.....	40
5. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Pada Testis Mencit.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Tubulus Seminiferus	29
Sidik Ragam Diameter Tubulus Seminiferus	30
Data Pengaruh larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Sertoli	31
Sidik Ragam Jumlah Sel Sertoli	32
Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium.....	33
Sidik Ragam Jumlah Sel Spermatogonium	34
Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatid	35
Sidik Ragam Jumlah Sel Spermatid	36
Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa	37
Sidik Ragam Jumlah Sel Spermatozoa	38
Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi ...	42

DAFTAR GAMBAR

Gambaran Histopatologi Testis Mencit Normal, Pewarnaan H.E., Pembesaran 100 X	45
Gambaran Histopatologi Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 125 ppm. Pewarnaan H.E. Pembesaran 100 X	46
Gambaran Histopatologi Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 250 ppm, Pewarnaan H.E. Pembesaran 100 X	47
Gambaran Histopatologi Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 500 ppm. Pewarnaan H.E. Pembesaran 100X	48
Gambaran Histopatologi Sel Leydig Testis Mencit Kontrol, Pewarnaan H.E., Pembesaran 400 X	49
Gambaran Histopatologi Sel Leydig Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 500 ppm, Pewarnaan H.e., Pembesaran 400 X	50

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Permasalahan

Polusi timbal dapat terjadi di udara, air maupun tanah. Kandungan timbal di tanah rata-rata adalah 16 ppm, tetapi pada daerah-daerah tertentu dapat mencapai beberapa ribu ppm. Kandungan timbal di udara seharusnya rendah karena nilai tekanan uapnya rendah (Fardiaz, 1992).

Terdapat banyak sumber timbal dalam lingkungan sekitar kita. Buangan gas kendaraan paling banyak mengkontaminasi berat udara, di samping itu partikel-partikel di udara dapat berasal dari sumber lain seperti pabrik-pabrik alkil timbal dan timbal oksida, pembakaran arang, pembakaran baterai bekas dan sebagainya (Robbins et al. 1992; Fardiaz, 1992).

Makanan dan minuman yang bersifat asam seperti air tomat, air buah jeruk, sari buah apel dan asinan dapat melarutkan timbal yang terdapat pada lapisan mangkok. Makanan dan minuman yang terkena kontaminasi tersebut dapat menyebabkan keracunan yang fatal pada manusia (Gilman, 1992).

Salah satu diantara limbah logam berat yang merupakan sumber pencemar adalah timah hitam (plumbum = Pb). Logam ini biasanya terdapat dalam sebagai senyawa sulfid (PbS), Karbonat ($PbCO_3$) dan Sulfat ($PbSO_4$) (Darmono, 1995).

Timbal mempunyai banyak efek metabolik yang merusak. Timbal juga telah dibuktikan dapat menghambat adenilat siklase hewan percobaan (Robbins dan Kumar, 1991).

Toksisitas timbal dikarenakan kemampuannya untuk berikatan dengan enzim yang mengandung gugus sulfhidril, akibatnya aktifitas enzim terhambat, sehingga metabolisme dan fungsi sel terganggu. (Douls et al, 1980). Timbal mempunyai afinitas ke dalam membran sel, terutama mitokhondria. Organella ini mempunyai perubahan fungsional dan perubahan ultrastruktural karena pengaruh timbal, misalnya pada sel tubulus seminiferus testis (Goyer et al Krall, 1969).

Pengaruh pemberian timbal dalam air minum terhadap mencit dengan konsentrasi 0, 100, 1000 ppm, terbukti setelah tujuh minggu pada pemberian timbal dengan konsentrasi 1000 ppm terjadi penyusutan vesikula seminalis, epididimis dan testis (Mc Murry et al , 1995).

Efek percunan timbal pada dasarnya dipengaruhi oleh jumlah racun yang masuk dan kepekaan individu terhadap racun (Koeman, 1987).

Adanya pemaparan timbal yang berat pada pria akan menyebabkan kemampuan reproduksi terganggu dengan ditandai meningkatnya frekuensi astenospermia, hipospermia dan terato spermia (Suma'mur, 1986).

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut di atas, maka perlu diadakan penelitian mengenai perbedaan

gambaran histopatologik testis mencit yang dipengaruhi oleh pemberian larutan timbal.

I.2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang masalah tersebut di atas perlu diadakan penelitian:

Apakah pemberian timbal dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap gambaran histopatologik testis mencit.

I.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya perbedaan gambaran histopatologik testis mencit yang dipengaruhi oleh pemberian larutan timbal asetat dengan konsentrasi 0, 125, 250 dan 500 ppm.

I.4. Landasan Teori

Saat ini pemakaian timbal dalam industri makin meluas, dengan demikian penyebaran timbal semakin luas di udara, air dan makanan, sehingga lingkungan yang bebas timbal sama sekali akan sulit dan tidak mungkin dicapai (Kendal, 1983). Lebih dari 50 % minyak pelumas yang terkontaminasi timbal alkil dari hasil pembakaran dan kotoran pada selubung oli mesin yang mengandung 1% timbal dibuang dan merupakan sumber pencemaran. begitu juga bahan-bahan yang mengandung timbal seperti tutup botol, sisa potongan kabel, selongsong yang terbuang di lingkungan juga menjadi sumber pencemaran (WHO, 1980).

Timbal yang masuk ke dalam tubuh diabsorpsi 1-10% melalui dinding saluran pencernaan. Sistem Darah porta hepatis (dalam hati) membawa timbal tersebut dan dideposisi, kemudian timbal diangkut dalam darah dan didistribusikan ke organ reproduksi sehingga menyebabkan penyusutan vesikula seminalis, epididimis dan testis (Mc Murray, 1995).

Adanya pemaparan timbal yang berat pada pria akan menyebabkan kemampuan reproduksi terganggu dengan ditandai meningkatnya frekuensi astenospermia, hipospermia dan terato spermia (Sumamur, 1986).

I.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi mengenai betapa pentingnya menghindari pemakaian logam berat (timbal) secara berlebihan agar terhindar dari efek negatif yang ditimbulkan.

I.6. Hipotesis Penelitian

Pemberian timbal dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap gambaran histopatologik testis mencit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

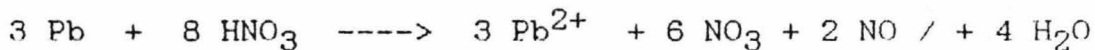
II.1. Timbal (Plumbum)

II.1.1. Karakteristik Timbal

Timbal merupakan logam berwarna abu-abu kebiruan, dengan rapat massa yang tinggi (11,48 g/ml pada suhu kamar) (Svehla, 1985).

Timbal memiliki nomor atom 82, berat atom 207,9, jari-jari atom $1,75 \text{ \AA}$ dan jari-jari ion $(4 \pm 6,76) \text{ \AA}$ (Glinka, 1970).

Timbal mudah terlarut dalam asam nitrat akan menghasilkan reaksi :



II.1.2. Timbal Dalam Kehidupan Sehari-hari dan Industri

Timbal yang terdapat di lingkungan sekitar kita berasal dari alam dan berbagai macam industri (Gan dkk, 1995). Industri yang melibatkan pemakaian timbal antara lain: industri aki, cat, solder, pipa ledeng, baterai dan mesin cetak (Dipalma dan Digregoria, 1990). Selain itu timbal juga terdapat dalam abu dan asap bakaran kayu tua yang dicat, surat kabar dan majalah. Sebagai contoh abu hasil pembakaran tinta hitam surat kabar berisi 5 mg/kg, dan abu hasil pembakaran majalah berisi 57,7 mg/kg (Dreis back, 1983). Cat timbal mengandung timbal karbonat (timbal putih), timbal oksida (timbal merah), timbal sulfat atau timbal khromat.

Timbal putih dan merah biasanya digunakan dalam dempul, bola golf, dan juga linoleum (Humphreys, 1988).

Timbal banyak terdapat dalam bangunan yang lapisan dempul dan cat (Dipalma dan Digregoria, 1990). Keracunan timbal pada anak-anak sering terjadi karena termakannya cat yang berasal dari bangunan dan juga dari berbagai mainan anak (Darmono, 1995).

Pada industri yang melibatkan pemakaian timbal, sering dijumpai pada asap pabrik aki dan asap tempat peleburan timbal (Craig dan Sitzel, 1986; Lichtman, 1978). Sebagai gambaran, kadar timbal pada darah karyawan pabrik aki di Indonesia sudah melampaui ambang batas (0.75 ppm) (Gandkk, 1995).

Makanan dan minuman yang bersifat asam, seperti air tomat, air buah jeruk, minuman kola, air buah apel dan asinan dapat melarutkan timbal yang terdapat pada lapisan mangkok dan panci. Timbal juga merupakan kontaminan wiski yang disuling secara gelap di Amerika (Bowen, 1979).

II.1.3. Toksikologi Timbal dalam Tubuh dan Gejala yang Ditimbulkan

Ada 2 jalan timbal masuk kedalam tubuh manusia yaitu lewat saluran pernafasan dan saluran pencernaan (Patty dkk, 1967).

Timbal yang masuk lewat saluran pencernaan biasanya disebabkan karena makanan tercemar timbal. Larutan timbal dari pelapis mangkok atau panci yang makanannya bersifat

asam dapat mencemari makanan tersebut (Gan dkk,1995). Selain itu limbah pabrik yang mengandung logam timbal yang dibuang ke sungai dapat mencemari sungai tersebut sehingga hewan-hewan yang hidup di daerah perairan seperti kerang, udang atau kepiting dalam tubuhnya akan mengandung timbal (Gan dkk,1995).

Absorpsi timbal melalui saluran pernafasan pada manusia kira-kira 10 %, kemudian timbal diangkut dalam darah dan didistribusikan ke dalam tubuh, kira-kira 95 % timbal di dalam tubuh ditemukan dalam tulang (Gilman dkk,1991). Timbal yang tidak diabsorpsi diekskresikan melalui feses. sedangkan timbal yang telah diabsorpsi diekskresikan ke dalam urine, ASI dan keringat (Humphreys, 1998).

Keracunan timbal akut jarang terjadi, tetapi keracunan dapat terjadi di daerah industri yang melibatkan pemakaian timbal, karena setiap harinya menghisap debu atau asap pabrik. Gejala-gejala yang timbul adalah mual, muntah, sakit perut, rasa sakit pada lambung, napas pendek dan sukar bernapas (Dipalma dan Digregoria, 1990).

Bila keracunan bersifat kronis mengakibatkan anemia yang disebabkan karena menurunnya umur erytrosit dan hambatan sintesis hemoglobin (Gilman, 1995).

II.2.1. Anatomi Testis

Testis merupakan alat reproduksi primer pada hewan jantan, alat reproduksi sekunder terdiri dari saluran-saluran

yaitu vas eferens, epididimis, vas deferens, uretra, penis serta kelenjar asesorius (Hardjo pranjoto, 1995).

II.2.2. Fisiologi Testis

Testis mempunyai dua fungsi utama, pertama sebagai organ reproduksi dan kedua sebagai organ endokrin. Sebagai organ reproduksi, testis menghasilkan sel-sel kelamin jantan di dalam tubulus seminiferus dan sebagai organ endokrin, testis menghasilkan testosteron (Hafez, 1980).

Hormon utama yang mengatur fungsi testis adalah hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh bagian anterior dari kelenjar hipofisa. Hormon tersebut yaitu FSH yang menstimulir pertumbuhan sel-sel kelamin dari tubulus seminiferus serta mendorong terjadinya proses-proses spermatogenesis dan LH (ICSH) menstimulir sel-sel interstitial terutama sel leydig untuk menghasilkan testosteron. Sekresi dari hormon gonadotropin dikendalikan oleh androgen dan estrogen, tetapi bila hormon tersebut berlebihan akan terjadi hambatan terhadap produksi gonadotropin (Hardjo pranjoto, 1995 dan Hafez, 1980).

II.2.3. Histologi Testis

Testis terdiri dari kelenjar- kelenjar yang berbentuk tubulus, dibungkus oleh selaput tebal yang disebut tunika albugenia. Sudut bagian posterior testis terbungkus oleh selaput atau kapsula yang disebut mediastinum testis. Septanya terdiri dari selaput tipis yang disebut septula testis. Septula testis mengelilingi mediastinum sampai ke

tunika albugenia. Kemudian membagi organ menjadi 250 sampai 270 bagian berbentuk piramid yang disebut lobuli testis. Tiap-tiap lobulus membentuk satu sampai empat gulungan yang sangat panjang yang disebut tubulus seminiferus (Hafez, 1980 ; Lesson, 1981)

I.2.4. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus. Proses spermatogenesis dibagi menjadi dua tahap yaitu tahap pertama adalah spermasitogenesis, merupakan suatu rangkaian pembelahan spermatogonium menjadi spermatid. Tahap kedua adalah spermiogenesis, mulai spermatid yang mengalami metamorfosa menjadi spermatozoa (Fuquay dan Bearden, 1980; Hafez, 1980).

Proses spermatogenesis dimulai dari spermatogonium (sel benih primitif) yang terletak dekat dengan membrana basalis. Spermatogonium merupakan sel yang relatif kecil, intinya mengandung khromatin tak teratur dan membentuk kelompok-kelompok yang kasar. Spermatisit primer (I) adalah sel yang terbesar dari turunan spermatogenik dan ditandai oleh adanya khromosom di dalam intinya. Segera setelah spermatisit primer terbentuk, akan terjadi pembelahan meiosis pertama. Pada profase pertama, sel melalui empat stadium yaitu leptoten, zigoten, pakiten dan diploten, serta akan mencapai stadium diakinesis yang menghasilkan pemecahan khromosom. Pembelahan ini menghasilkan sel-sel yang lebih

kecil yang disebut spermatosit skunder (II). Sel spermatosit skunder akan membelah menjadi spermatid. Sel ini ukuran yang kecil pada intinya dengan daerah khromatin yang padat terletak dekat bagian tengah dari tubulus seminiferus. Dengan terbentuknya spermatid maka spermatositogenesis telah berakhir (Fuquay dan Bearden, 1980; Hafez, 1980; Junqueira dan Carneiro, 1980).

Spermiogenesis adalah proses metamorfosis yang terjadi selama perubahan sel spermatid menjadi bentuk spermatozoa normal (Hardjo pranjoto, 1980). Terbentuknya spermatozoa menandakan bahwa spermatogenesis telah berakhir dan spermatozoa yang semula melekat pada sel sertoli akan melepaskan diri masuk ke dalam lumen tubulus seminiferus (Hafez, 1980).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Materi Penelitian

III.1.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Kampus C. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan dan pemeriksaan preparat histologi testis mencit di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Kampus C yang dilaksanakan mulai tanggal 2 Mei sampai 20 Juli 1997.

III.1.2. Hewan Percobaan

Dalam penelitian hewan percobaan yang digunakan adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus* strain BAL B/C) jantan yang berumur seragam (\pm 12 minggu) dalam keadaan sehat yang didapat dari PUSVETMA Surabaya.

III.1.3. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah: timbal yang digunakan dalam bentuk plumbum acetat trihidrate [$\text{Pb} (\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$], GR. ACS dengan nomor kode 107375 yang dibeli di toko bahan kimia dilanjutkan dengan pelarutan timbal ke dalam air PDAM masing-masing dengan konsentrasi 0 mg/l, 125 mg/l, 250 mg/l dan 500 mg/l. Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi

adalah cloroform, formalin 10 %, alkohol dengan konsentrasi masing - masing 70 %, 80 %, 95 %, 96 %, alkohol absolut, xilol, parafin, canada balsam serta Hematoxylin Eosin (HE).

III.1.4. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kandang berupa bak plastik ukuran 30 x 25 x 15 cm yang tertutup kawat sebanyak empat buah, yang masing-masing dilengkapi dengan tempat makan dan botol air minum, timbangan digital untuk menimbang timbal asetat, jarum sonde, spuit 5 ml, gunting bedah, pinset, skalpel, pot salep, obyek glass, cover glass, mikrotom, mikroskop, alat fotografi mikro nikon zabophot foc 35 dan fuji film super HGV asa 200.

III.2. Metode Penelitian

III.2.1. Prosedur Penelitian

Hewan percobaan yang terdiri dari 28 ekor mencit ditempatkan dalam kandang yang masing-masing kandang berisi 7 ekor mencit dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Sebelum perlakuan mencit diadaptasikan selama dua minggu dengan diberi pakan pellet BR I Cp 511 produksi PT Charoen Pokphand dan minuman (air PDAM) secukupnya.

Perlakuan diberikan pada umur 14 minggu dengan memberikan sebanyak 0.2 ml larutan Pb asetat setiap hari secara oral selama lima minggu (1 x siklus spermatogenesis, ± 35 hari) sesuai dengan perlakuan, penentuan dosis didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Mc Murry et al

(1995). Perincian keempat perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

A. Kelompok kontrol (P_0) :

Mencit diberi minum air PDAM tanpa diberikan perlakuan

B. Kelompok perlakuan I (P_1) :

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 125 ppm

C. Kelompok perlakuan II (P_2) :

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 250 ppm

D. Kelompok perlakuan III (P_3) :

Mencit diberi larutan timbal asetat dengan konsentrasi 500 ppm

Setelah perlakuan selama lima minggu, masing-masing kelompok mencit baik perlakuan maupun kontrol, dikorbankan dengan menggunakan eter. Kemudian testisnya diambil dan dikelompokkan sesuai dengan perlakuannya kemudian dimasukkan ke dalam formalin 10 % untuk dibuat preparat histologi. Setelah dibuat preparat histologi, dengan menggunakan mikroskop (mikrometer mikroskop) pembesaran 100 X dan 400 X dapat kita hitung diameter tubulus seminiferus, jumlah sel sertoli, spermatogonium, spermatisit primer & skunder dan spermatid serta jumlah spermatozoa.

III.2. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data yang diperoleh ditabulasikan dan diuji dengan uji F. apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5 % . ✓

RAB IV

HASII. PENELITIAN

IV.1. Diameter Tubulus Seminiferus

Diameter tubulus seminiferus mencit yang diberi larutan timbal 0 Ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm, masing-masing 86.43 ± 2.32 , 72.29 ± 2.21 , 59.31 ± 9 , 49.26 ± 1.82 μ .

IV.2. Jumlah Sel Sertoli

Jumlah sel sertoli dalam satu tubulus seminiferus testis mencit yang diberi larutan timbal 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm, masing - masing 64.46 ± 4.36 , 48.17 ± 6.63 , 41.91 ± 3.98 dan 33.03 ± 4.59 .

IV.2. Jumlah Spermatogonium

Jumlah spermatogonium mencit dalam satu yang diberi larutan timbal 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm masing- masing 78.71 ± 4.48 , 62.03 ± 3.44 , 53.46 ± 2.87 , 41.46 ± 4.49 .

IV.3. Jumlah Spermatid

Jumlah spermatid dalam satu tubulus seminiferus mencit yang diberi larutan timbal 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm masing-masing 176.03 ± 3.23 , 148.80 ± 16.61 , 121.09 ± 3.56 dan 91 ± 3.14 .

IV.4. Jumlah Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dalam satu tubulus seminiferus menciit yang diberi larutan timbal 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm masing- masing $74,74 \pm 2,97$, $64,94 \pm 4,76$, $50,54 \pm 2,50$ dan $40,60 \pm 2,40$.

BAB V

PEMBAHASAN

Dari gambaran histopatologik tampak adanya perubahan-perubahan pada diameter tubulus seminiferus, jumlah spermatogonium, spermatisit primer & skunder, spermatid dan spermatozoa. Melalui uji F kemudian dilanjutkan dengan uji BNT 5 % menunjukkan adanya pengaruh timbal terhadap sistem reproduksi ($p < 0,05$). Pengaruh pemberian timbal asetat didapatkan perbedaan yang sangat nyata antara kontrol dengan perlakuan dan masing-masing perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya sehingga dapat diketahui adanya penyusutan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sel sertoli, spermatogonium, spermatid dan jumlah spermatozoa. Semakin besar konsentrasi timbal yang diberikan maka pengaruh terhadap gambaran histopatologik testis mencit semakin nyata.

Timbal adalah logam berat yang merupakan racun kapiler dan racun enzim. Logam ini mempunyai afinitas yang besar pada gugus -SH- dan mengusir magnesium, kalsium atau kation bervalensi banyak lainnya dari ikatan kompleksnya dengan protein dan dengan demikian mempengaruhi pusat katalitik pada enzim. Disamping itu logam ini bereaksi dengan gugus fungsi lainnya dalam biomolekul. Karena sebagian akan tertimbun di dalam organ reproduksi (Douls at al).

DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS

Perubahan pada diameter tubulus seminiferus tampak terjadinya penurunan jarak, hal ini disebabkan karena adanya pengaruh timbal yang masuk ke dalam sel penyusun tubulus seminiferus tidak dapat mengkompensasi dan melangsungkan metabolisme sehingga menyebabkan nekrosis yang ditandai dengan adanya perubahan-perubahan pada inti sitoplasmik. Perubahan-perubahan yang terjadi pada inti dan sitoplasma dari sel yang mengalami nekrosis ini meliputi: Piknotis, yaitu ditandai dengan terjadinya penggumpalan khromatin dan tidak dikenali lagi adanya anak inti (nukleolus), serta warna sitoplasma menjadi gelap atau lebih tua setelah dilakukan proses pewarnaan. Karioreksis, yaitu ditandai dengan terjadinya kerusakan inti yang pecah berkeping-keping dan meninggalkan pecahan zat-zat khromatin yang tersebar di dalam sel atau inti, bentuknya tidak teratur dan sitoplasma mulai memanjang. Kariolisis, yaitu ditandai dengan intinya yang mulai tak jelas atau hilang, sehingga sulit dikenal lagi dan bentuk selnya lebih memanjang serta warna tidak begitu jelas setelah dilakukan proses pewarnaan. Dengan terjadinya gangguan metabolisme sel tersebut maka terjadi penurunan jumlah sel sehingga diameter tubulus seminiferus mengalami penyusutan (Mc Murray, 1995).

JUMLAH SEL SERTOLI

Jumlah sel sertoli mengalami penurunan hal ini disebabkan karena timbal yang masuk di dalam sel sertoli akan mengganggu proses fosforisasi oksidatif di dalam membran mitokondria, pasokan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik macet, sintesis protein menurun sekali sehingga proses regenerasi sel sertoli berkurang maka jumlah sel sertoli berkurang (Leeson, 1980).

JUMLAH SEL SPERMATOGONIUM

Jumlah spermatogonium mengalami penurunan disebabkan karena timbal yang masuk ke dalam sel spermatogonium akan mengganggu proses oksidasi mitokondria sehingga menghambat proses pembentukan ATP sedangkan ATP berfungsi dalam sintesis protein. Dengan terjadinya gangguan proses tersebut maka regenerasi sel spermatogonium terhambat maka jumlah sel spermatogonium berkurang (Goyer at al, 1969).

JUMLAH SEL SPERMATOSIT PRIMER & SKUNDER, SPERMATID

Timbal merupakan enzim. Timbal yang masuk ke dalam tubuh akan menghambat aktifitas mitokondria dalam tahapan sintesis testosteron dengan cara menghambat enzim adenilat siklase, sehingga menurunkan cAMP intra sel menyebabkan kecepatan rantai samping kolesterol berkurang (Deilmann. 1992). Dengan terhambatnya pembentukan testosteron tersebut maka proses spermasitogenesis maupun spermiogenesis terganggu karena testosteron bersama-sama FSH dan LH

berfungsi mengontrol proses tersebut. Testosteron juga memberikan umpan balik terhadap hipofisa dan hipotalamus untuk menampilkan naluri seksual secara normal (libido), memacu pertumbuhan dan memelihara fungsi kelenjar aksesori hewan jantan dan tanda-tanda kelamin jantan serta memberikan efek anabolik umum (Granner,1995).

Dengan terganggunya proses spermasitogenesis maka jumlah spermatisit primer, skunder dan jumlah sel spermatid mengalami penurunan, semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka efek yang ditimbulkan semakin besar (Mc Murray,1995).

JUMLAH SEL SPERMATOZOA

Hasil analisis statistika menunjukkan pengaruh larutan timbal menyebabkan penurunan yang nyata jumlah spermatozoa ($p < 0.01$). Jumlah spermatozoa mencit yang diberi larutan timbal dengan konsentrasi 125 ppm berbeda nyata dengan kontrol dan masing-masing perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Jumlah spermatozoa paling sedikit pada konsentrasi 500 ppm. Rendahnya jumlah sel spermatozoa tersebut disebabkan karena kegagalan spermasitogenesis maupun spermiogenesis.

Sel darah merah merupakan suatu kompleks khelat yang dibentuk oleh logam Fe dengan gugus heme dan globin, yang sintesisnya melibatkan dua macam enzim yaitu :

1. Enzim ALAD (Amino Levulinat Acid Dehidrasi) atau

asam levulinat, termasuk golongan enzim sitoplasma. Enzim ini bereaksi aktif pada tahap awal sintesis sel darah merah dan selama sirkulasi sel darah merah berlangsung.

2. Enzim ferrokhelatase, terutama golongan enzim mitokondria, enzim ini berfungsi aktif pada akhir proses sintesa yaitu mengkatalisasi pembentukan khelat haemoglobin.

Senyawa timbal yang terdapat dalam tubuh akan menghambat enzim ALAD dan ferrokhelatase baik melalui pengaruh langsung pada proses sintesis maupun dengan mekanisme umpan balik negatif atau kadang-kadang melalui keduanya (WHO, 1980).

Efek peracunan timbal pada dasarnya dipengaruhi oleh jenis racun, jumlah racun yang masuk dan kepekaan individu terhadap racun (Koeman, 1987). Dalam tubuh, melalui proses metabolisme bahan-bahan beracun yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami peningkatan daya racunnya atau mengalami penurunan daya racun yang dimilikinya. Enzim memegang peranan penting sebagai zat perangsang untuk memperlancar atau mempercepat proses ini. Kecepatan reaksinya akan menjadi lebih cepat berkisar antara 10^8 sampai 10^{11} kali dibanding yang tanpa enzim. Umumnya pusat aktif suatu gugus enzim adalah ion-ion logam, namun demikian enzim yang memiliki ion

logam sebagai pusat aktifnya cenderung bersifat labil. Hal ini disebabkan ion logam yang terdapat dalam suatu gugus enzim seringkali dapat digantikan oleh logam lain yang ikut masuk ke dalam tubuh, pergeseran ion logam dalam suatu gugus enzim mudah terjadi bila terjadi defisiensi. Defisiensi Zn dan Fe dapat menyebabkan masuknya timbal yang menggantikan ion logam dari gugus enzim yang selanjutnya akan menghalangi kerja enzim (Palar, 1994).

Timbal yang masuk ke dalam tubuh mampu untuk berikatan dengan sistem enzim yang mengandung gugus sulfhidril, mengakibatkan aktifitas enzim terhambat, sehingga metabolisme dan fungsi sel terganggu (Douls et al., 1980). Timbal dalam segala bentuk bersifat racun yang berbahaya bagi kesehatan tubuh, sebab keracunan oleh timbal bersifat kumulatif dan berpengaruh buruk terhadap sistem endokrin, sistem reproduksi, sistem syaraf dan sistem jantung (Palar, 1994). Pengaruh timbal dalam sistem reproduksi antara lain, terjadi penyusutan vesikula seminalis, epididimis dan penurunan jumlah spermatozoa (Mc Murry, 1995) dan juga adanya pemendekan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sel sertoli, spermatogonium spermatis primer, sekunder, spermatid serta spermatozoa. Adanya paparan timbal yang berat pada pria akan menyebabkan kemampuan reproduksi terganggu ditandai meningkatnya astenospermia, hipospermia dan teratospermia (Sumamur, 1986).

RAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data tentang pengaruh timbal asetat terhadap histopatologi testis mencit dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- * Pemberian timbal asetat selama lima minggu dengan konsentrasi 125 ppm sudah berpengaruh nyata terhadap gambaran histopatologik testis mencit.

VI.2. Saran

Dalam penelitian selanjutnya perlu diadakan penelitian tentang pengaruh timbal asetat terhadap organ maupun spesies yang berbeda. Karena pada spesies (beda bangsa) atau organ yang berbeda dimungkinkan terjadinya efek yang berbeda pula karena masing-masing spesies mempunyai kekebalan yang tidak sama.

Logam berat sudah terbukti sebagai bahan yang berpengaruh sangat buruk terhadap sistem reproduksi pada pria sehingga perlu berhati-hati dalam pemakaian bahan atau barang yang terbuat dari timbal, konsumsi makanan dan minuman kaleng yang pembungkusnya terbuat dari timbal serta situasi kerja yang memungkinkan kontak langsung dengan partikel timbal, sebagai contoh pada pertambangan penghasil timbal.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian timbal aasetat menyebabkan terjadinya penurunan produktifitas testis mencit hal ini ditandai dengan berkurangnya diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sel sertoli, spermatogonium, spermatisit primer & skunder, spermatid serta jumlah spermatozoa. Pada pemberian timbal konsentrasi 125 ppm sudah memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan kontrol. Pengaruh perlakuan tertinggi terdapat pada pemberian timbal konsentrasi 500 ppm sedangkan pengaruh perlakuan, terendah pada konsentrasi pemberian timbal konsentrasi 125 ppm.

RINGKASAN

SUBA'I. Timbal merupakan salah satu dari logam berat yang sangat beracun dalam tubuh. hal ini disebabkan karena kemampuannya berikatan dengan sistem enzim yang mengandung gugus sulfhidril. akibatnya aktifitas enzim terhambat. sehingga metabolisme dan fungsi sel terganggu.

Timbal berpengaruh buruk terhadap sistem endokrin testis sehingga mengganggu pada proses spermatogenesis maupun spermiogenesis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui atau mempelajari sampai sejauh mana timbal asetat menimbulkan perubahan pada gambaran histopatologi testis mencit.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 28 ekor mencit berumur 12 bulan yang dibagi menjadi empat kelompok secara acak. Kelompok pertama sebagai kontrol tanpa pemberian larutan timbal asetat sedangkan kelompok kedua sampai keempat diberikan perlakuan dengan memberikan timbal asetat konsentrasi 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm yang diberikan peroral dengan menggunakan sonde. Setelah lima minggu mencit dikorbakan dan diseksi untuk diambil organ testisnya dan kemudian dibuat preparat histopatologinya.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F dilanjutkan uji BNT 5 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Bearden. J.H. and Fuquay, J.W. 1980. Applied Animal Reproductive Reston Publishing.
- Bowen. H.J.M. 1979. Environmental Chemistry of the Element. Academic Press. London.
- Craig, C.R., and Sitzel, R.E., 1986. Modern Pharmacology in Medicine. 2rd Edition. little, Brown and Company. Boston. Toronto, U.S.A., pp. 121,1074.
- Cristian, G.D. and F.J., Fieldman. 1971. Atomic absorption Spectroscopy Application in Agriculture, Biology and Medicine. John Willey and Sons Inc., New York. 331-336.
- Darmono. 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Makluk Hidup. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 60-65:95-99.
- Deilmann, H.D dan Brown, E.M., 1992. Histologi Veteriner II. Edisi II, Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Dipalma, J.R. and Digregoria, G.J., 1990, Basic Pharmacologi In Medicine. 3rd Edition. Mac Graw Hill Publishing Company. Singapore, p. 252.
- Douls. Klaassen and Amdur. 1980. Toxicologi the Basic Science of Poisons Edition. Mac Millan Publishing Co. New York. 28-30.
- Dreisbach, R.H., 1983. Handbook of poisoning, Prevention Diagnosis and Treatment. 6th Edition. Large Medical Publication. Singapore. p.252.
- Fardiaz, S., 1992. Polusi Dari Air dan Udara. Cetakan Pertama. Penerbit Kenisum. Yogyakarta. hal 58-63.
- Gan., 1995. Farmakologi dan Terapi Edisi III. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. hal 706-708.
- Ganong. W.F., 1981. Review of Medical Physiology. Penerbit Buku Kedokteran. E.G.C. Jakarta. hal 380-393.
- Gilman. A.G., 1991. The Pharmacologi Cal Basic of Therapeutics. 8th Edition. Pergamon Press. Inc., Singapore, p. 1593-1595.

- Glinka, N., 1970. General Chemistry, Mir Publishing, Moskow.
- Goyer, R.A. and K.Krall. 1969. Ultrastruktural Transformation In Mitokondria Isolated from Kidneys of Normal and Lead Intoxicated Rats. J. Cell. Biol. 41: 390-403.
- Granner, D.K., 1995. Biokimia Harper, Edisi 22. Penerbit Buku Kedokteran E.G.C Jakarta. Hal 630-631.
- Hafez, E.SE. 1980 Reproduction in Farm Animals 4th Ed. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Hardjopranjoto, Soehartojo, 1980. Fisiologi Reproduksi. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya. hal 16-85.
- Hardjopranjoto, Soehartojo, 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya. hal 55-78.
- Humpreys, D.J., 1988, Veterinary Toxicologi. 3rd Edition, Balliere Tindal. London. pp 55-56.
- Junquiera, L.C. dan J. Carniero. 1980. Histologi dasar, EGC, Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. hal 270-276.
- Kendal, R.J. 1983. Toxic Substances in the Environmental. 2rd Edition. Kendal/Hunt. Publishing Company. Dubugue Iowa.
- Leeson, C.R., T.S. Leeson and A.p. Anthoni. 1990. Buku Ajar Histologi. Terjemahan. Edisi V. Penerbit EGC. Jakarta. hal 383-385.
- Mc Murry, S.T., R.L. Lochmiller, S.A.M. Candra and C.W. Qualls. 1995. Sensitivity of Selected Immunological, Hematological and Reproductive Parameters in the Cotton Rat to Subchronic Diseases. 31:2 April 1995.
- Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 9-59;74-89.
- Patty. F.A., 1967. Industrial Hygiene and Toxicology. Second Edition, Vol. II, Intenscienci Publishers. New York. p. 1687-1724.

- Ressang, A.A 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi II. Team Leader IFAD Project Bali Disease. Investigation Unit Denpasar Bali.
- Suma'mur, P.K 1986. Pengujian Penerapan Batas Sehat Pemaparan Kerja Kepada Timbal Pada Pabrik Aki. Disertasi, Universitas Indonesia.
- Svehla, G.. 1985. Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi mikro. Edisi V. PT. Kalman Media Pustaka. Jakarta. hal 207.
- Sybil,p.p. 1980. Enyclopedia of Environmental Science. 2nd Edition. Mc Grow Hill Book Company.
- Toilehere, M.R., 1977. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak, Penerbit ANGKASA, Bandung.
- WHO. 1980. Recommended Health Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals. Technical report series 647. World Health Organisation. Geneva. 37-76.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Pengaruh Timbal Terhadap Diameter Tubulus seminiferus (μ)

Mencit	Konsentrasi Pemberiaan Timbal			
	0 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
1	87,00	74,60	63,80	49,40
2	85,00	70,60	56,60	46,20
3	86,00	70,40	54,20	49,00
4	84,60	69,40	64,00	49,40
5	91,40	75,00	62,00	50,60
6	85,40	73,20	60,00	48,20
7	85,60	72,60	54,60	52,00
ΣX	604,00	506,00	415,20	344,80
R	86,43	72,29	59,31	49,26
Sd	2,32	2,21	4,19	1,82

Lampiran 2. Sidik Ragam Diameter Tubulus Seminiferus

SR	Db	JK	KT	F hit	0,05	0,01
P	3	5454,12	1818,04	231,60*	3,60	4,72
S	24	187,11	7,80			
T	27	5641,23				

Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	R	R- P ₃	R- P ₂	R- P ₁	BNT 5 %
P ₀	86,43	37,17*	27,12*	14,14*	3,08
P ₁	72,29	23,03*	12,98*		
P ₂	59,31	10,05*			
P ₃	49,26				

R = Rata-rata

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= 2,064 \times \sqrt{2 \times 7,80} : 7 \\ &= 3,08 \end{aligned}$$

ampiran 3. Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Sertoli

Pencit	Konsentrasi Pemberiaan Timbal			
	0 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
1	68.00	51.40	42.60	30.60
2	56.00	49.00	45.80	26.80
3	66.20	56.00	38.00	40.00
4	66.00	44.00	45.60	37.80
5	63.40	55.60	45.40	34.00
6	69.40	39.20	36.00	30.20
7	65.20	42.00	40.00	31.80
ΣX	451.20	337.20	293.40	231.20
R	64.46	48.17	41.91	33.03
Sd	4.36	6.63	3.98	4.59

Lampiran 4. Sidik Ragam Jumlah Sel Sertoli

SR	Db	JK	KT	F hit	0,05	0,01
P	3	3690012	1230,00	49,58*	3,60	4,72
S	24	595,47	24,81			
T	27	4289,48				

Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	R	R- P ₃	R- P ₂	R- P ₁	BNT 5 %
P ₀	64,46	31,43*	22,55*	16,29*	5,50
P ₁	48,17	15,14*	7,14*		
P ₂	41,91	8,88*			
P ₃	33,03				

R = Rata-rata

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= 2,064 \times \sqrt{2 \times 24,81 : 7} \\ &= 5,50 \end{aligned}$$

ampiran 5. Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium

Mencit	Konsentrasi Pemberiaan Timbal			
	0 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
1	75,80	63,20	51,60	35,00
2	78,80	62,00	57,80	37,40
3	86,00	68,40	51,60	48,20
4	76,80	57,00	50,60	43,40
5	76,40	62,20	51,20	39,60
6	83,60	60,40	56,20	42,00
7	73,60	61,00	55,20	44,60
Σx	551,00	434,20	374,20	290,20
R	78,71	62,03	53,46	41,46
Sd	4,48	3,44	2,87	4,49

Lampiran 6. Sidik Ragam Jumlah Sel Spermatogonium

SR	Db	JK	KT	F hit	0,05	0,01
P	3	5153,89	1717,98	113,85*	3,60	4,72
S	24	362,22	15,09			
T	27	5516,11				

Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	R	R- P ₃	R- P ₂	R- P ₁	BNT 5 %
P ₀	78,71	37,25*	25,25*	16,68*	4,29
P ₁	62,03	20,57*	5,57*		
P ₂	53,46	12,00*			
P ₃	41,46				

R = Rata-rata

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= 2,064 \times \sqrt{2 \times 15,09} : 7 \\ &= 4,29 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatisit I, II dan Spermatid

Mencit	Konsentrasi Pemberiaan Timbal			
	0 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
1	174,20	158,20	121,00	93,40
2	180,20	157,00	113,60	93,60
3	170,20	161,40	125,00	91,00
4	178,80	113,00	122,60	94,80
5	176,00	153,00	121,00	86,00
6	176,60	145,00	122,40	89,20
7	176,20	154,00	122,00	89,00
ΣX	1232,20	1041,60	847,60	637,00
R	176,03	148,80	121,09	91,00
Sd	3,23	16,61	3,56	3,14

Lampiran 8. Sidik Ragam Spermatoosit I,II dan Spermatid

SR	Db	JK	KT	F hit	0,05	0,01
P	3	28007,08	9335,69	120,90*	3,60	4,72
S	24	1853,30	77,22			
T	27	29860,38				

Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	R	R- P ₃	R- P ₂	R- P ₁	BNT 5 %
P ₀	176,03	85,03*	54,94*	27,23*	9,69
P ₁	148,80	57,80*	27,80*		
P ₂	121,09	30,09*			
P ₃	91,00				

R = Rata-rata

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= 2,064 \times \sqrt{2 \times 77,22} : 7 \\ &= 9,69 \end{aligned}$$

Lampiran 9. Data Pengaruh Larutan Timbal Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa

Mencit	Konsentrasi Pemberiaan Timbal ~			
	0 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
1	74,20	63,80	51,20	39,00
2	79,80	62,20	48,60	40,20
3	70,40	67,40	50,00	43,80
4	74,80	61,00	53,20	43,20
5	72,80	64,00	54,20	39,60
6	74,40	74,60	47,20	38,00
7	76,80	61,60	49,40	39,60
ΣX	523,20	454,60	353,80	284,20
R	74,74	64,94	50,54	40,60
Sd	2,97	4,76	2,50	2,40

Lampiran 10. Sidik Ragam Sel Spermatozoa

SR	Db	JK	KT	F hit	0,05	0,01
P	3	4805,87	1601,96	153,00*	3,60	4,72
S	24	250,97	10,46			
T	27	5056,84				

Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	R	R- P ₃	R- P ₂	R- P ₁	BNT 5 %
P ₀	74,74	34,14*	24,20*	9,80*	3,57
P ₁	64,94	24,34*	14,40*		
P ₂	50,54	9,94*			
P ₃	40,60				

R = Rata-rata

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= 2,064 \times \sqrt{2 \times 10,46} : 7 \\ &= 3,57 \end{aligned}$$

Tabel 1. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus (μ) Pada Testis Mencit.

Kelompok	Diameter tubulus seminiferus (μ)
Kontrol (0 ppm)	86,43 \pm 2,32 ^a
Perlakuan I (120 ppm)	72,29 \pm 2,21 ^b
Perlakuan II (250 ppm)	59,31 \pm 9,00 ^c
Perlakuan III (500 ppm)	49,26 \pm 1,82 ^d

Tabel 2. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Sertoli Pada Testis Mencit.

Kelompok	Jumlah Sel Sertoli
Kontrol (0 ppm)	64,64 \pm 4,36 ^a
Perlakuan I (120 ppm)	48,17 \pm 6,63 ^b
Perlakuan II (250 ppm)	41,91 \pm 3,96 ^c
Perlakuan III (500 ppm)	33,03 \pm 4,59 ^d

Tabel 3. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium Pada Testis Mencit.

Kelompok	Jumlah Sel Spermatogonium
Kontrol (0 ppm)	78,71 ± 4,48 ^a
Perlakuan I (120 ppm)	62,03 ± 3,44 ^b
Perlakuan II (250 ppm)	53,46 ± 2,87 ^c
Perlakuan III (500 ppm)	41,46 ± 4,49 ^d

Tabel 4. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatid Pada Testis Mencit.

Kelompok	Jumlah Sel Spermatid
Kontrol (0 ppm)	176,03 ± 3,23 ^a
Perlakuan I (120 ppm)	148,80 ± 16,61 ^b
Perlakuan II (250 ppm)	121,09 ± 3,56 ^c
Perlakuan III (500 ppm)	91,00 ± 3,41 ^d

Tabel 5. Pengaruh Pemberian Larutan Timbal Asetat Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Pada Testis Mencit.

Kelompok	Jumlah Sel Spermatozoa
Kontrol (0 ppm)	74,74 ± 2,97 ^a
Perlakuan I (120 ppm)	64,84 ± 4,76 ^b
Perlakuan II (250 ppm)	50,54 ± 2,50 ^c
Perlakuan III (500 ppm)	40,60 ± 2,40 ^d

ampiran II.

Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

. Potongan Jaringan difiksasi dalam larutan formalin buffer 10 %.

. Proses pembuatan sediaan

a. Dehidrasi

Untuk membersihkan jaringan dan menarik air dari jaringan. Jaringan dicuci dengan air mengalir ± setengah jam . Kemudian dimasukkan secara berurutan ke dalam alkohol 70 % (2 jam), alkohol 80 % (2jam), alkohol 95 % (1 Jam) dan alkohol absolut (1 jam).

b. Clearing (penjernihan)

Untuk menjernihkan jaringan dengan menggunakan xilol₁ (1 jam), xilol₂ (2 jam) dan xilol₃ (2 jam).

c. Infiltrasi

Untuk menginfiltrasi jaringan. Jaringan dimasukkan dalam parafin 1 yang mencair, kemudian di oven selama setengah jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam parafin 2 dan dimasukkan lagi ke dalam oven selama setengah jam pada suhu 58° C sampai 60° C.

d. Embeding (pengeblokan)

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

3. Pengisian jaringan

Memotong jaringan sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop. Pemotongan diambil random, kemudian diambil satu dengan tebal lima sampai tujuh mikron. Selanjutnya dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 20°C sampai 30°C sampai jaringan berkembang mekar, kemudian diletakkan pada gelas obyek yang telah diolesi dengan putih telur dan dikeringkan di atas hot plate 60°C .

4. Pewarnaan

a. Deparafinisasi

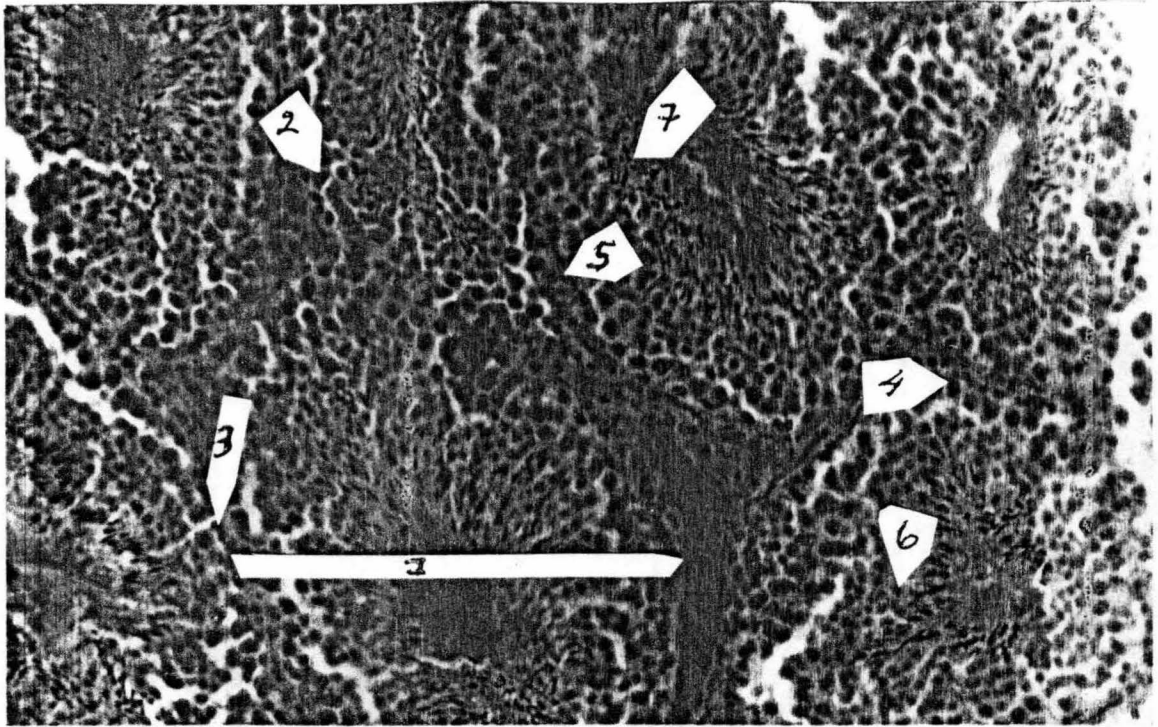
Obyek glass yang telah ada sayatan jaringannya dimasukkan dalam xilol₁(5 menit), xilol₂(10 menit).

b. Hidrasi

Dimasukkan dalam alkohol 96 % (2 menit), alkohol 95 % (2 menit), alkohol 80 % (2 menit).

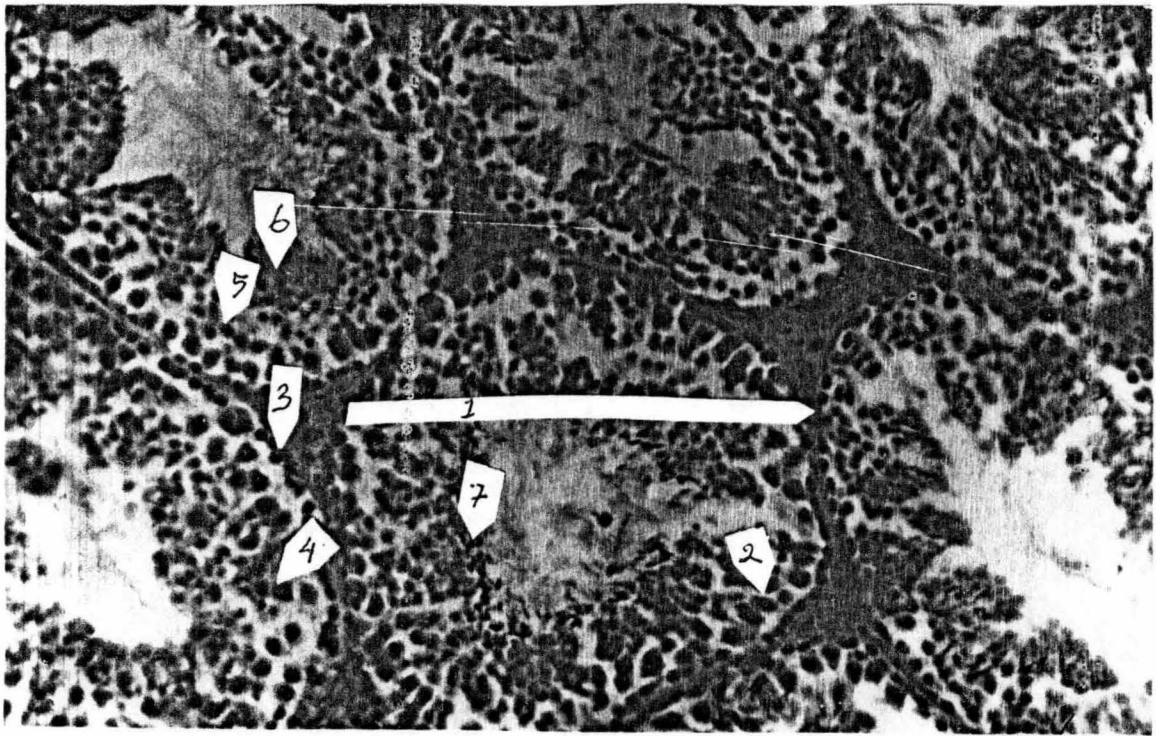
c. Dicuci pada air mengalir (10 menit), kemudian dimasukkan ke dalam Mayer hematoksilin (10 menit).

- d. Setelah dicuci dengan air yang mengalir selama 20 menit, kemudian dimasukkan ke dalam esin 1 % selama 1 menit.
- e. Dehidrasi
Preparat secara berurutan dimasukkan ke dalam alkohol 80 %, 95 % dan 96 masing-masing 2 menit kemudian dianginkan.
- f. Clearing
Dilanjutkan dengan perendaman dengan xilol 1,2 dan 3 masing-masing selama 5 menit.
- g. Sediaan dibiarkan mengering untuk kemudian ditetesi kanada balsam yang dicampur sodium carbonat kemudian ditutup dengan cover glass lalu diberi label.
- h. Setelah sediaan kering, siap diperiksa menggunakan mikroskop.



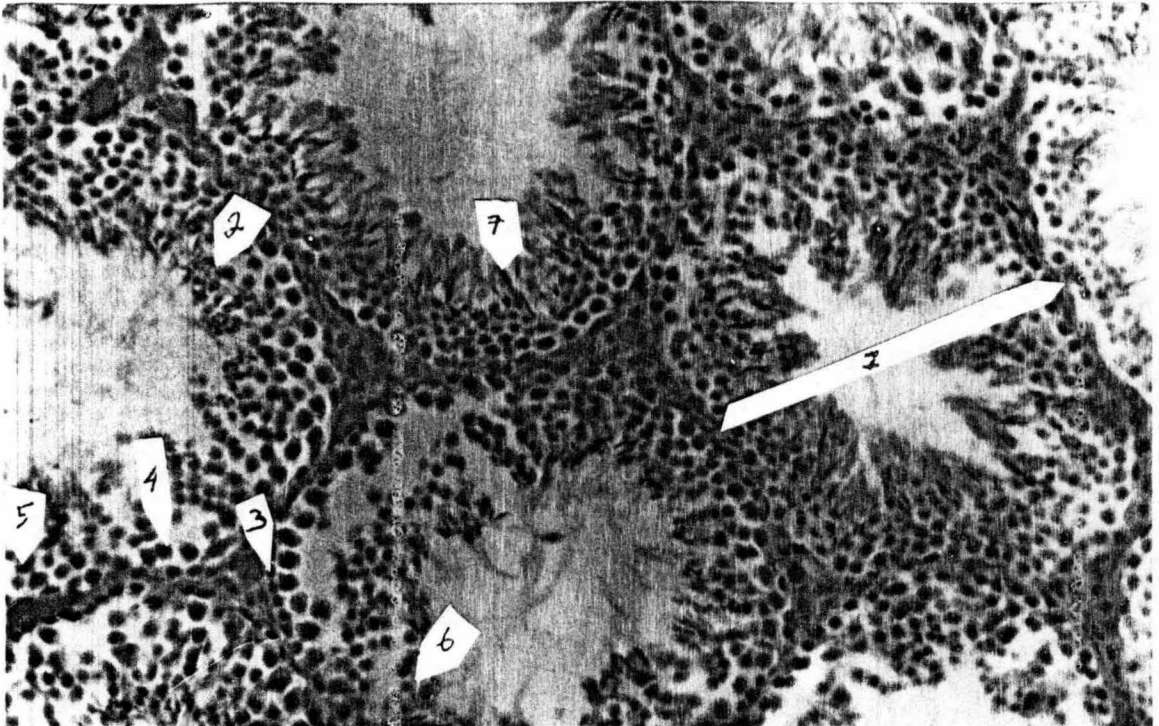
Gambar 1. Gambaran Histopatologi Testis Mencit Normal.
Dengan Pewarnaan H.E.. Pembesaran 100 X.

- Ket :
1. Diameter Tubulus Seminiferus
 2. Sel Sertoli
 3. Sel Spermatogonium
 4. Sel Spermatosit Primer
 5. Sel Spermatosit Skunder
 6. Sel Spermatid
 7. Sel Spermatozoa



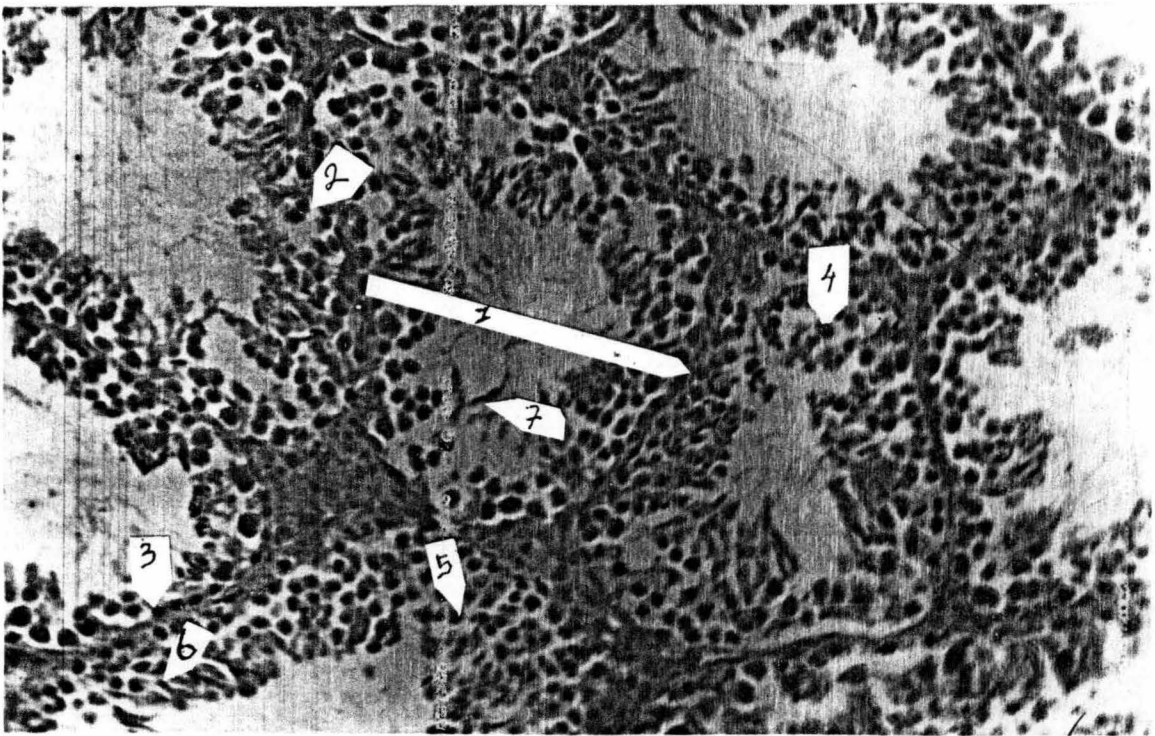
Gambar 2. Gambaran Histopatologi Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 125 ppm. Dengan Pewarnaan H.E.. Pembesaran 100 X.

- Ket :
1. Diameter Tubulus Seminiferus
 2. Sel Sertoli
 3. Sel Spermatogonium
 4. Sel Spermatisit Primer
 5. Sel Spermatisit Skunder
 6. Sel Spermatisid
 7. Sel Spermatozoa



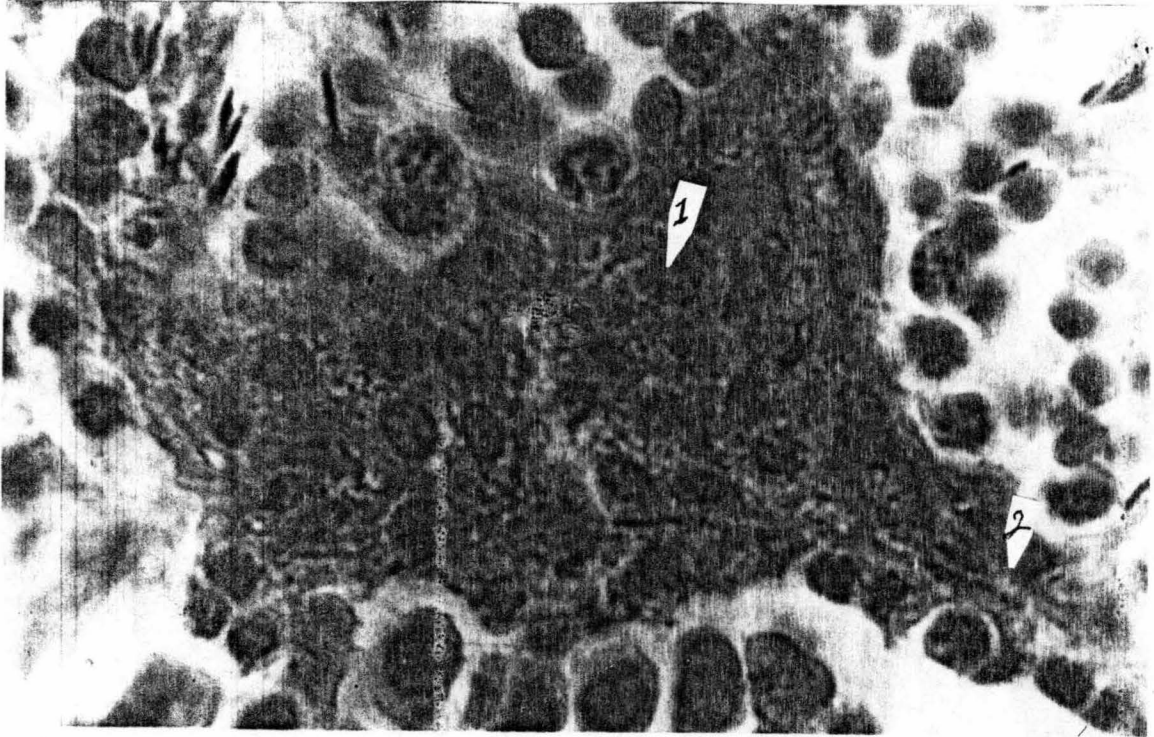
Gambar 3. Gambaran Histopatologi Testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 250 ppm. Dengan Pewarnaan H.E.. Pembesaran 100 X.

- Ket :
1. Diameter Tubulus Seminiferus
 2. Sel Sertoli
 3. Sel Spermatogonium
 4. Sel Spermatisit Primer
 5. Sel Spermatisit Skunder
 6. Sel Spermatid
 7. Sel Spermatozoa



Gambar 4. Gambaran Histopatologi testis Mencit Yang Diberi Larutan Timbal Konsentrasi 500 ppm. Dengan Pewarnaan H.E., Pembesaran 100 X.

- Ket :
1. Diameter Tubulus Seminiferus
 2. Sel Sertoli
 3. Sel Spermatogonium
 4. Sel Spermatosit Primer
 5. Sel Spermatosit Skunder
 6. Sel Spermatid
 7. Sel Spermatozoa



Gambar 5. Gambaran Histopatologi Sel Leydig testis Mencit Normal, Dengan Pewarnaan H.E., Pembesaran 400 X.

Ket : 1. Sel Leydig
2. Membrana Basalis