

**PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (Pb) DAN ARSEN
(As) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH,
KADAR HEMOGLOBIN DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI USUS MENCIT
BALB/C**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh:

**ANIS CAHWANI SELF
07140258N**

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir:

**PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (Pb) DAN ARSEN (As)
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH, KADAR
HEMOGLOBIN DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI USUS
MENCIT BALB/C**

Oleh:

Anis Cahwani Selfi

07140258N

Surakarta, 21 Juli 2018

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama

pembimbing Pendamping



Prof.dr. Marsetyawan HNE. S., M.Sc., Ph.D.
NIDN. 00290948



Ifandari, S.Si., M.Si.
NIS: 01201112162157

LEMBAR PENGESAHAN

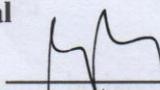
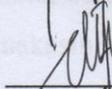
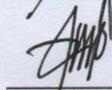
Tugas Akhir:

PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (Pb) DAN ARSEN (As) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH, KADAR HEMOGLOBIN DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIUSUS MENCIT BALB/C

Oleh:

Anis Cahwani Selfi
07140258N

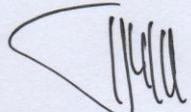
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 4 Agustus 2018

Nama	Tanda tangan	Tanggal
Penguji I: Niniek Yusida, dr., SpPk, M.Sc		5-09-2018
Penguji II: Dra. Dewi Sulistyawati, M.Sc		11-10-2018
Penguji III: Ifandari, S.Si.,M.Si		11-10-2018
Penguji IV: Prof. Marsetyawan HNE.S.,M.Sc,Ph.D		11-10-2018

Mengetahui:

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
UNIVERSITAS SETIA BUDI

Prof. Dr. Marsetyawan HNE. S.,M.Sc.Ph.D.
NIDN. 00290948

Ketua Program Studi
D-IV Analis Kesehatan

Tri Mulyowati. SKM.M.Sc.
NIS: 01201112162151

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada tuhan yang maha esa atas segala rahmat dan hidayahnya yang telah memberikan kekuatan, kesehatan, dan kesabaran untuk ku dalam mengerjakan skripsi ini.

“Allah tidak membebani seseorang melainkan dengan kesanggupannya” (Q.S. Al-Baqarah: 286)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan” (Q.S Al-Insyirah: 5-6)

Aku persembahkan cinta dan sayangku kepada orang tua ku, keluarga, kakak dan adik ku yang telah menjadi motivasi dan inspirasi yang tiada henti memberikan dukungan do'a nya untuk ku. Terima kasih yang tak terhingga buat dosen-dosenku, terutama pembimbingku yang tak pernah lelah dan sabar memberikan bimbingan dan arahan kepada ku.

Teruntuk teman-teman angkatanku yang telah membantu, berbagi keceriaan dan melewati setiap suka dan duka selama kuliah. Terimakasih untuk semuanya.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar keserjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam dalam daftar pustaka

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/ Tugas Akhir orang, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Juli 2018



Anis Cahwani Selfi
NIM. 07140258N

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan syukur kepada tuhan yang maha esa berkat rahmat dan karunianya, penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul: PENGARUH PEMBERIAN TIMBAL (Pb) DAN ARSEN (As) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH, KADAR HEMOGLOBIN DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI USUS MENCIT BALB/C. Tujuan menulis skripsi ini untuk memenuhi persyaratan ujian untuk memperoleh gelar sarjana sains terapan (SST) pada jurusan DIV-Analis Kesehatan pada Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Terselesainya skripsi ini tidak terlepas dari banyak pihak yang telah memberikan bantuan moril maupun materil baik langsung maupun tidak langsung dalam menyusun skripsi ini hingga selesai terutama kepada yang saya hormati:

1. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi Seurakarta
2. Prof.dr. Marsetyawan HNE. Soesatyo. M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Tri Mulyowati, SKM., M.Sc, selaku ketua program studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta
4. Prof.dr. Marsetyawan HNE.Soesatyo.M.Sc., Ph.D selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi yang sangat membantu kelancaran dalam penyusunan tugas akhir
5. Ifandari, S.Si, M.Si, selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi yang sangat membantu kelancaran dalam penyusunan tugas akhir.

6. Dosen dan staf di lingkungan Universitas Setia Budi Surakarta khususnya Program Studi D-IV Analis Kesehatan yang banyak membantu untuk dapat melaksanakan tugas akhir ini.
7. Teristimewa untuk orang tua ku Nurckholis dan Warni yang selalu mendo'akan, memberikan motivasi dan pengorbanannya baik dari segi materi dan moril sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
8. Terimakasih kepada saudara ku Aisi Andesta Utama, Arnendo Niswar, Amelia Fitri Bungsu, Endang Iliana yang selalu memberikan dukukan moril serta demi terselesaikannya tugas akhir ini.
9. Buat sahabat–sahabat saya Juni Otri, Melisa Ristikayani, Khusnul Khotimah, Siska Azhari, Lidya Montoh, Atika Novarinda, Dwi Elviyana, Noni Nerissa, Tri Wahyu Widiya Wati, Ira Wahyu, terimakasih atas dukungan, bantuan, bantuan dan do'a.
10. Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Akhir kata penulis ucapkan terimakasih kepada pihak yang telah membantu dan penulis berharap semoga tugas akhir ini dapat bermanfa'at bagi kita semua dan menjadi bahan masukan bagi dunia pendidikan.

Surakarta, 28 Juli 2018
Penulis

Anis Cahwani Selfi
NIM. 07140258N

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Mencit <i>Balb/c</i>	6
2. Timbal (Pb).....	6
a. Pengertian Logam Timbal	6
b. Sifat Logam Timbal.....	7
c. Mekanisme Toksisitas	9
d. Keracunan Timbal	9
3. Arsen	12
a. Pengertian Arsen (As)	12
b. Karakteristik arsen.....	14

c. Sumber Pemaparan	15
d. Efek keracunan arsen	15
4. Hemoglobin	16
5. Sistem Imun Tubuh	18
B. Landasan Teori	22
C. Kerangka Konsep	24
D. Hipotesis	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
A. Rancangan Penelitian	25
B. Waktu atau Tempat Penelitian	25
C. Populasi dan Sampel	25
1. Populasi	25
2. Sampel	25
D. Variabel Penelitian	26
E. Definisi Operasional Variabel	26
F. Bahan dan Alat	26
1. Alat	26
2. Bahan	26
G. Prosedur Kerja	27
1. Persiapan hewan coba	27
2. Pengambilan sampel darah	28
3. Prosedur pembuatan preparat histopatologi	28
H. Analisis Hasil	30
I. Alur Penelitian	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Hasil Penelitian	32
B. Pembahasan	37
1. Jumlah limfosit dalam darah	37
2. Kadar hemoglobin dalam darah mencit	39
3. Gambaran histologi pada usus	41
C. Keterbatasan Penelitian	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rerata Jumlah Limfosit Minggu Ke-2 dan Minggu Ke-4 Pada Pemberian Timbal dan Arsen	33
Tabel 2. Rerata Kadar Limfosit Minggu Ke-2 dan Minggu Ke-4 Pada Pemberian Timbal dan Arsen	33
Tabel 3. Uji Homogenitas Jumlah Limfosit	34
Tabel 4. Uji Normalitas Jumlah Limfosit.....	34
Tabel 5. Uji Homogenitas Kadar Hemoglobin.....	35
Tabel 6. Uji Normalitas Kadar Hemoglobin	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka Konsep.....	24
Gambar 2. Alur Penelitian	31
Gambar 3. Mikroskopis Usus kelompok Kontrol (A) Minggu ke-2 dan (B) Minggu Ke-4 (100x, HE).....	36
Gambar 4. Mikroskopis Usus kelompok Perlakuan Timbal (C) Minggu ke-2 dan (D) Minggu Ke-4 (100x, HE)	36
Gambar 5. Mikroskopis Usus kelompok Perlakuan Arsen (E) Minggu ke-2 dan (F) Minggu Ke-4 (100x, HE)	37
Gambar 6. <i>Tissue Prosesor</i>	50
Gambar 7. <i>Cassete</i>	50
Gambar 8. Pembedahan Mencit.....	50
Gambar 9. Timbangan	50
Gambar 10. Mikrotom	51
Gambar 11. Tahap Dehidrasi Dengan Alkohol Bertingkat.....	51
Gambar 12. Larutan Pewarnaan HE	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Surat Etical Clereance</i>	49
Lampiran 2. Dokumentasi Peneliti.....	50
Lampiran 3. Data Mentah Kadar Hemoglobin & Jumlah Limfosit	52
Lampiran 4. Analisis Data.....	52

DAFTAR SINGKATAN

ALAD	: <i>Asam δ-aminolevulinat dehidratase</i>
As	: Arsen
As ₂ O ₃	: <i>Arsenic Trioksida</i>
As ₂ O ₃	: <i>Diarsen Trioksida</i>
CO ₂	: <i>Karbon Dioksida</i>
EDTA	: <i>Ethilen Diamine Tetra Asetat</i>
Hb	: Hemoglobin
H ₂ AsO ₄	: <i>Arsenic acid</i>
g/dl	: gram/deciliter
O ₂	: Oksigen
Pb	: Timbal
sIg	: <i>Surface Immunoglobulin</i>
TCR	: <i>T-cell receptor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

INTISARI

Selfi A.C. 2018. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Dan Arsen (As) Terhadap Jumlah Limfosit Darah, Kadar Hemoglobin dan Gambaran Histopatologi Usus Mencit *Balb/c*. Program studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Timbal dan arsen merupakan logam yang bersifat sangat toksik. Logam ini dapat mempengaruhi sumsum tulang sehingga merubah komposisi sel darah. Orang yang terpapar timbal dan arsen dapat mengalami radang dan kerusakan pada usus. Kerusakan pada usus berupa kerusakan vesikel mukosa dan vesikel epitel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian timbal dan arsen terhadap jumlah limfosit darah, kadar hemoglobin dan histologi usus mencit *Balb/c*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental terhadap 18 ekor mencit *balb/c* yang terbagi menjadi 3 kelompok dan dilakukan pemberian timbal dan arsen. Hitung jumlah limfosit darah dan kadar hemoglobin dilakukan menggunakan alat *hematologi analyzer*. Pemeriksaan histopatologi usus menggunakan metode pewarnaan hematoksilin eosin. Analisa data yang dilakukan dengan uji *independent t-test*.

Hasil uji *independent t-test* pada penelitian ini untuk hitung jumlah limfosit perlakuan timbal minggu ke-2 ($p=3.13$), minggu ke-4 ($p=2.16$) dan perlakuan arsen minggu ke-2 ($p=3.06$), minggu ke-4 ($p=4.33$). Hasil uji statistik kadar Hb perlakuan timbal minggu ke-2 ($p=13.56$), minggu ke-4 ($p=10.76$) dan perlakuan arsen minggu ke-2 ($p=15.16$), minggu ke-4 ($p=13.83$). Kesimpulan dari penelitian ini, pemberian timbal dan arsen pada mencit *Balb/c* tidak berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah limfosit, kadar hemoglobin dan histologi usus.

Kata kunci: hemoglobin, arsen, timbal, limfosit, usus.

ABSTRACT

Selfi, A.C. 2018. 2018. *Effect of Giving Lead (Pb) and Arsenic (As) on Blood Lymphocyte Counts, Hemoglobin Levels and Intestine Histopathology Features of Balb/c Mice*. D-IV Health Analyst study program, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University Surakarta

Lead and arsenic are very toxic metals. This metal can affect the bone marrow so it changes the composition of blood cells. People who are exposed to lead and arsenic can get inflammation and damage of the intestine. Damage to the intestines is damage to mucosal vesicles and epithelial vesicles. This study aims to determine the effect of lead and arsenic on blood lymphocyte count, hemoglobin level and intestinal histology of Balb/c mice.

This research is an experimental study of 18 balb/c mice divided into 3 groups and given lead and arsenic. Calculate blood lymphocyte count and hemoglobin level using hematology analyzer. Examination of intestinal histopathology using hematoxylin eosin staining method. Data analysis was carried out by independent t-test.

The results of independent t-test in this study of count lymphocyte lead treatment in the second week ($p = 3.13$), 4th week ($p = 2.16$) and 2nd week arsenic treatment ($p = 3.06$), week 4 ($p = 4.33$). The results of the statistical test for Hb levels were lead treatment 2 weeks ($p = 13.56$), 4th week ($p = 10.76$) and 2nd week arsenic treatment ($p = 15.16$), 4th week ($p = 13.83$). The conclusion of this study, the giving of lead and arsenic in Balb/c mice did not significantly influence lymphocyte counts, hemoglobin levels and intestinal histology.

Key word: lead, arsenic, hemoglobin, lymphocytes, intestinal.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pencemaran logam berat terhadap lingkungan merupakan suatu proses yang erat hubungannya dengan penggunaan bahan tersebut oleh manusia. Pencemaran lingkungan oleh logam berat dapat terjadi jika industri yang menggunakan logam tersebut tidak memperhatikan kesehatan lingkungan, terutama pembuangan limbah. Limbah yang dibuang dapat menyebabkan terjadinya polutan. Polutan adalah suatu sisa bahan yang di buat, digunakan atau dibuang. Polutan ada dua macam yaitu: polutan *degradable* yaitu polutan yang dengan cepat diuraikan melalui proses alami dan apabila melebihi kapasitas. Polutan non *degradable*, adalah bahan dan racun, seperti timbal, arsen, garam merkuri dan logam berat lainnya.

Polusi timbal merupakan salah satu dari permasalahan kesehatan di seluruh dunia, terutama di Negara berkembang seperti Afrika, Asia, dan Amerika Latin. Pembakaran bahan bakar minyak pada kendaraan menjadi sumber terbesar timbal yang mengkontaminasi atmosfer. Sifat toksikologi timbal banyak diteliti yang terutama efek karsinogeniknya. Timbal dapat menyebabkan stres oksidatif dan meningkatkan pembentukan radikal bebas dan dapat menurunkan sistem antioksidan di jaringan. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan molekul di dalam sel. Timbal memperkuat efek besi dan dapat menimbulkan peroksida lipid invitro dan dapat menyebabkan kematian sel. Timbal dalam pangan batas

maksimumnya menurut Standar Nasional Indonesia (2009) antara lain: buah dan sayur serta 0,2 mg/kg, kecap 1,0 mg/kg, air mineral alami 0,1, udang dan krustasea lainnya 0,5 mg/kg, kerang moluska dan teripang 2 mg/kg, teh 2,0 mg/kg dan lainnya. Timbal dapat menghambat aktivitas enzim–enzim yang terlibat dalam pembentukan Hemoglobin (Hb). Timbal dapat mengganggu biosintesis pembentukan heme dalam sumsum tulang. Orang yang menderita keracunan timbal dapat menyebabkan terjadinya anemia. (Tong *et al*, 2000, Gurrer *et al*, 2001, BSN, 2009).

Arsen adalah racun protoplasmik karena pengaruhnya terhadap kelompok sulfida yang mengganggu enzim sel, respirasi sel, dan mitosis. Keracunan arsen kronis dan penggunaan arsenik obat terlarang sejak lama. Arsen digunakan secara oral sebagai larutan pembeku dalam campuran tonik dan dalam pengobatan asma, leukemia dan lainnya. Arsen dalam pangan batas maksimumnya menurut Standar Nasional Indonesia (2009) antara lain: es krim 0,5 mg/kg, lemak dan minyak hewani 0,1 mg/kg, ikan, kerang, dan udang 1,0 mg/kg, gula pasir 1,0 mg/kg, garam 0,1 kg/mg, air mineral alami 0,05 mg/kg dan lain-lain (BSN, 2009).

Arsen ditemukan di air, tanah, dan udara. Unsur arsen yang dijumpai sebagai hasil sampingan dari peleburan timah, seng, tembaga dan logam lainnya. Arsen dilepas ke lingkungan dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Keracunan akut arsen dapat menyebabkan muntaber dengan campuran darah, koma, bahkan kematian. Keracunan kronis yang disebabkan oleh arsen dapat menimbulkan perdarahan dan menimbulkan terjadinya kanker kulit. Menurut *National Institute For Occupational Safe and Health* (1975) arsen anorganik bertanggung jawab

terhadap berbagai gangguan kesehatan kronis terutama kanker (Endrinaldi, 2009, Istarani & Ellina, 2014).

Kasus kontaminasi arsen dilaporkan terjadi di Bangladesh. Warga di Bangladesh menggunakan air sumur yang tercemar arsen sebagai sumber air minum utama. Diperkirakan 35 sampai 57 juta penduduk di negara ini menjadi korban dalam kasus pencemaran. Pemerintah Bangladesh dan organisasi non-pemerintah terlibat aktif memerangi masalah ini. Penduduk Bangladesh menggunakan sumur pompa untuk mengambil air di lapisan tanah. Menurut data penggunaan air minum yang berasal dari sumur-sumur pompa ini mencapai 95% dari keseluruhan populasi Bangladesh (Paul, 2004).

Kasus keracunan arsen yang dilaporkan terjadi di Makassar, Indonesia yang menyebabkan 63 orang keracunan dan 2 orang meninggal di desa Mallasoro, kecamatan Bangkala, kabupaten Jeneponto, Sulawesi Selatan pada 30 Agustus 2016 akibat mengkonsumsi kerang yang mengandung arsen. Hasil dari uji laboratorium terhadap sampel daging kerang yang menyebabkan keracunan misal di Mallasoro oleh BPOM menunjukkan positif mengandung arsen (Chandra, 2016)

Keracunan Arsen per oral dapat menimbulkan kematian apabila paparan arsen melewati dari dosis letal karena dapat terjadinya kerusakan saluran pencernaan, kehilangan cairan, ataupun kolaps vaskuler. Paparan Arsen menyebabkan eksfoliasi sel epitel mukosa duodenum, sehingga terjadi perforasi yang dapat mengakibatkan shock hipovolemik (Hasyim, 2005).

Berdasarkan banyaknya jenis penyakit yang dapat timbul akibat paparan dari timbal dan arsen maka, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian timbal dan arsen terhadap jumlah limfosit darah, kadar hemoglobin dan gambaran histopatologi usus mencit *Balb/c*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh paparan timbal dan arsen terhadap jumlah limfosit dalam darah mencit *Balb/c*?
2. Bagaimana pengaruh paparan timbal dan arsen terhadap kadar hemoglobin mencit *Balb/c*?
3. Bagaimana gambaran dari histopatologi pada usus mencit *Balb/c* akibat paparan timbal dan arsen?

C. Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh paparan timbal dan arsen pada jumlah limfosit mencit *Balb/c*
2. Untuk mengetahui pengaruh paparan timbal dan arsen pada jumlah hemoglobin mencit *Balb/c*
3. Untuk mengetahui gambaran dari histopatologi pada usus mencit *Balb/c* akibat paparan timbal dan arsen

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

- a. Penelitian ini dapat menjadi landasan atau penerapan media untuk pembelajaran
- b. Menambah referensi bacaan perpustakaan pada institusi pendidikan program studi D-IV Analis Kesehatan dan dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat Praktis

- a. Bagi peneliti, dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan peneliti tentang bahaya timbal dan arsen.
- b. Bagi masyarakat, penelitian ini diharapkan dapat memberi pengetahuan tentang bahaya arsen dan timbal pada masyarakat

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Mencit *Balb/c*

Mencit *balb/c* merupakan anggota muridae (tikus-tikus) yang ukurannya lebih kecil. Mencit biasanya terdapat di rumah dan sering disebut sebagai hewan hewan pengganggu. Mencit ini termasuk ke dalam mamalia yang terbanyak di dunia. Mencit *balb/c* banyak digunakan sebagai hewan percobaan untuk penelitian biomedis, pengujian dan Pendidikan. Cara penanganan mencit ini yaitu mencit dapat diangkat kemudian genggam pangkal ekor antari jari telunjuk dengan ibu jari (Priyanto, 2015)

Kontrol adalah variable yang berpengaruh terhadap variable terikat, tetapi pengaruhnya ditiadakan atau dikendalikan dengan cara kontrol (diisolasi) pengaruhnya. Pengontrolan dapat dilakukan melalui pengembangan desain penelitiannya kondisinya dibuat sama atau atau secara statistic tertentu. Kontrol digunakan sebagai pembanding atau kelompok yang tidak dikenai perlakuan (Jaedun, 2011).

2. Timbal (Pb)

a. Pengertian Logam Timbal

Timbal atau yang sering disebut timah hitam dan di dalam bahasa ilmiahnya disebut dengan kata *plumbum* (Pb). Walaupun timbal bersifat lunak dan lentur, tetapi sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, susah larut dalam air

dingin, air panas dan air asin. Timbal dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat, dan asam sulfat pekat (Palar, 2008).

Timbal adalah logam berat alami yang terdapat di kerak bumi. Timbal adalah logam yang mendapat perhatian karena bersifat toksik yaitu melewati minuman, makanan, air, udara, dan debu yang tercemar (Widowati *et al*, 2008). Timbal adalah logam yang sangat beracun pada dasarnya tidak dapat dihilangkan serta tidak terurai menjadi zat lain (Sunu dalam Sihite, 2015).

Timbal ditemukan di lingkungan dalam bentuk senyawa. Sebagian besar senyawa timbal anorganik dalam bentuk Pb Asetat, Pb Azida, Pb Bromit, Pb Nitrat, Pb Asetat dan lainnya. Timbal memiliki berat atom 207,21, nomer atom 82, titik leleh $327,4^{\circ}\text{C}$ dan titik didih 1.620°C dan timbal mempunyai sifat lunak, berwarna biru atau silver abu abu. Timbal merupakan logam berat karena berat jenisnya lebih dari 5 kali lebih berat dari pada berat jenis air (Fardiaz dalam Sudarwin, 2008).

b. Sifat Logam Timbal

Menurut Fardiaz (1992), Timbal banyak digunakan berbagai keperluan karena sifatnya sebagai berikut:

1. Sifat kimia timbal menyebabkan logam ini berfungsi sebagai lapisan pelindung jika kontak dengan udara lembab
2. Densitas timbal tinggi dibandingkan dengan logam lainnya kecuali emas dan merkuri.
3. Titik cair timbal rendah jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal
4. Timbal adalah logam lunak mudah di ubah menjadi berbagai bentuk

5. Timbal dapat membentuk *alloy* dengan logam lainnya. *Alloy* yang terbentuk mempunyai sifat berbeda dengan timbal murni.

Menurut Sunu dalam Sihite (2015), timbal dapat digunakan pada produk-produk logam seperti amunisi, pelapis kabel, bahan kimia, pipa, pewarna dan solder. Logam ini sebagai campuran pada pelapis keramik. Timbal digunakan pada kehidupan sehari-hari yaitu:

1. Sebagai bahan aditif pada bahan baku bensin, untuk mengurangi pembakaran oleh mesin kendaraan.
2. Pada produk logam seperti amunisi, pelapis kabel, pipa, solder, bahan kimia, dan pewarna.
3. Pada bentuk timbal oksida pada produksi baterai penyimpanan untuk mobil.
4. Bahan campuran pelapis keramik yang membentuk sifat mengkilap pada keramik (Fardiaz, 1992).

Menurut Putri (2010) timbal adalah salah satu logam yang pertama-tama dilebur dan digunakan untuk keperluan industri. Proses masuknya timbal melalui pernafasan, oral (makanan dan minuman) dan penetrasi pada lapisan kulit (Palar, 2008).

Penyerapan melalui oral masuk ke dalam saluran pencernaan dan masuk ke dalam darah (Fardiaz dalam Naria, 2005). Penyerapan melewati kulit terjadi karena timbal dapat larut dalam minyak dan lemak (Palar, 2008). Unsur timbal terserap kedalam tubuh untuk keluar dari tubuh memerlukan waktu yang lama (Sunu dalam Sihite, 2015). Kemudian sebagian timbal akan disekresikan melalui urin atau feses (Widowati *et al*, 2008).

Gejala keracunan timbal yang disebabkan oleh kandungan timbal di dalam darah. Semakin tinggi kandungan timbal di dalam darah maka berbahaya bagi kesehatan tubuh. Daya racun timbal yang ada di dalam tubuh yaitu disebabkan oleh penghambat kerja enzim oleh ion-ion timbal (Sunu dalam Sihite, 2015). Jika timbal yang masuk kedalam kulit, tertelan dan kemudian masuk di dalam peredaran darah terkontaminasi pada jaringan pada tulang, hati, ginjal, pankreas dan paru.

c. Mekanisme Toksisitas

Timbal dapat menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam pembentukan hemoglobin (Hb). Timbal diabsorpsi oleh darah ke organ tubuh sebanyak 95% dan timbal dalam darah akan diikat oleh eritrosit. Timbal dalam plasma sebagian yang berdifusi dan keseimbangan terdapat pada jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, ginjal dan hati) dan pada jaringan keras (tulang, kuku, rambut, dan gigi) (Palar, 2008).

d. Keracunan Timbal

Keracunan yang ditimbulkan oleh senyawa logam timbal dapat terjadi karena masuknya senyawa logam ke dalam tubuh. Proses masuknya timbal dapat melalui beberapa cara yaitu melalui pernafasan, oral (melalui makan dan minuman) dan penetrasi pada lapisan kulit. Penyerapan melalui pernafasan akan masuk ke dalam pembuluh darah paru-paru. Logam timbal yang masuk ke paru akan terserap dan berikatan dengan darah di paru untuk kemudian diedarkan keseluruh jaringan dan organ tubuh (Palar, 2008).

Menurut Ardyanto (2005) timah hitam dan senyawa yang masuk di dalam tubuh manusia melalui saluran pernafasan dan saluran pencernaan, sedangkan

absorpsi melalui kulit sangat kecil. Bahaya yang ditimbulkan oleh timbal tergantung pada ukuran partikelnya. Partikel yang lebih kecil dapat tertahan pada paru, sedangkan partikel yang lebih besar akan mengendap di saluran nafas bagian atas.

Absorpsi timbal melalui saluran pernafasan dipengaruhi oleh proses deposisi yaitu terjadi di nosofaring, saluran trakeobronkhial, dan alveolus. Deposisi tergantung dari ukuran partikel timbal volume pernafasan dan daya larut. Partikel yang lebih besar banyak terdapat di saluran pernafasan bagian atas dibandingkan dengan partikel yang lebih kecil. Proses pembersihan mukosiliar, dan proses pembersih alveolar (Ardyanto, 2005). Keracunan timbal disebut juga dengan plumbulisme. Plumbulisme ada beberapa bentuk yaitu:

1. Inhibisi Enzim

Timbal berkoordinasi dengan gugus fungsi *sulphhidril* dalam enzim. Ini dapat menyebabkan inhibisi kerja enzim. Manifestasinya lebih jelas dari efek penghambatan timbal adalah gangguan dalam biosintesis heme. Heme merupakan biomolekul yang mengandung besi, dimana merupakan prekursor pembentukan hemoglobin, pigmen yang membawa oksigen dalam sel darah merah. Pada orang yang menderita keracunan timbal, sel darah merah yang belum matang disebut *retikulosit* dan *sel bercak basofil*, muncul dalam sirkulasi yang menyebabkan anemia (Mardiani, 2008).

2. Kerusakan Ginjal

Adanya peningkatan kehilangan asam amino, glukosa, dan fosfat dalam urin yang menyebabkan kerusakan tubular yang gagal menyerap

kembali zat-zat selengkap sel tubular yang normal. Pemaparan timbal yang lebih sedikit menyebabkan *nefritis kronik*, penyakit yang bersifat merusak dan menyusutkan jaringan ginjal (Sudarmaji *et al*, 2006).

3. Gangguan Saraf

Sistem saraf adalah sistem yang paling sensitif terhadap daya racun yang disebabkan oleh timbal (Palar, 2008). Pemaparan timbal yang terus menerus dalam waktu lama menyebabkan ensefalopati atau kerusakan otak melalui dua mekanisme. Pertama kapiler- kapiler darah mencapai otak mulai bocor dan menyebabkan edema. Tidak ada ruang yang cukup untuk mengakomodasi pembengkakan otak dalam tengkorak. Karena itu, sel otak mengalami kerusakan. Kedua sel yang menyusun saraf motorik rusak dan pelaksanaan rangsangan saraf terganggu. Anak-anak lebih sensitif mengalami kerusakan saraf dari pada orang dewasa. Orang dewasa kebanyakan efek neurotoksik terbalik yaitu setelah pemaparan timbal berhenti, berbeda pada anak-anak. Timbal menimbulkan kerusakan otak dengan gejala *epilepsy*, halusinasi, kerusakan otak besar, dan delirium (Widowati *et al*, 2008).

4. Masalah Tingkah Laku

Seseorang yang terpapar timbal pada dosis kecil maka manifestasi kerusakan sarafnya sendiri dalam bentuk masalah tingkah laku. Pada kasus seperti ini menimbulkan gejala seperti kegembiraan, kegelisahan, insomnia, mimpi buruk, kerusakan memori, dan kehilangan konsentrasi. Pada orang dewasa efek ini kebalikannya terjadi setelah pemaparan timbal berhenti.

Gambaran pada anak-anak berbeda. Beberapa kasus gejala serangan timbal pada anak-anak beberapa tingkah laku permusuhan, agresif, dan destruktif. Pada kasus anak yang menderita keterbelakangan mental dan hiperkinesis. Keterbelakangan mental diikuti dengan pendidikan yang tidak normal kemudian tingkah laku yang impulsif dan cenderung kasar (Sudarmaji *et al*, 2006).

5. Efek Teratogenik

Telah diamati wanita yang telah pada masa kana-kanak plumbulisme dapat melahirkan anak-anak yang mengalami cacat lahir. Ini berarti bahwa seorang wanita yang tumbuh di lingkungan yang tercemar timbal, beberapa tahun kemudian akan menurunkan kepada anaknya. Selama masa dewasa, timbal terkonsentrasi di dalam tulangnya. Selama kehamilan, kalsium diambil dari tulang wanita dan masuk keperedaran darah dan akan masuk kedalam plasenta untuk pembentukan kerangka embrio. Pada proses ini timbal keluar dari tulang dan menembus plasenta dan masuk ke janin yang menyebabkan efek teratogenik (Hanna *et al*, 2005).

3. Arsen

a. Pengertian Arsen (As)

Arsen (As) merupakan suatu logam toksik yang sering diklasifikasikan sebagai logam Arsen yang bersifat non logam. Arsen tidak membentuk logam kation, melainkan arsen membentuk anion seperti H_2AsO_4 (Hayati, 2009). Arsen dalam air tanah terbagi dalam 2 bentuk, yaitu bentuk tereduksi terbentuk dalam

kondisi anaerobik sering disebut dengan arsenit. Bentuk lainnya adalah bentuk teroksidasi terjadi pada kondisi aerobik dan umumnya disebut arsenat (Istarani & Elina, 2014).

Arsen putih (As_2O_3) biasanya digunakan untuk membasmi rumput liar. Sedangkan senyawa arsenik tertentu dimanfaatkan dalam peleburan gelas, pengawet kayu dan kulit, bahan pencelup, pigmen/kembang api, dan bahan kimia. Arsen dapat menyebabkan kerusakan kesehatan pada tubuh manusia apabila arsen terkandung dalam air minum lebih dari 100 ppm. Gejala keracunan kronis berupa iritasi usus, kerusakan saraf, dan sel, kelainan kulit atau melanoma serta kanker usus ini dapat terjadi di negara-negara yang memproduksi emas dan logam dasar diantaranya adalah Afrika Selatan, Zimbabwe, India, Thailan, Cina, Filipina, dan Mexico (Herman, 2006).

Arsen memiliki karakteristik yang serupa dengan fosfor, dan sering digunakan sebagai pengganti dalam berbagai reaksi biokimia dan juga racun. Arsen memiliki titik didih 614°C dan titik lebur 817°C . Jika dipanaskan arsen akan teroksidasi menjadi oksida arsenik, yang berbau seperti bawang putih. Zat dasar arsen ditemukan dalam dua bentuk padat yang berwarna kuning dan metalik, dengan berat jenis 1,97 dan 5,73 (Sukandarrumidi *et al*, 2018).

Pemaparan arsen terhadap manusia terjadi dari sumber alami, sumber industri, dan sumber pertanian. Arsen ditemukan juga dalam bijih tambang berbagai logam seperti emas, timbal, tembaga, timah, dan zink. Arsen dilepas ke atmosfer sebagai produk samping dari peleburan bijih tambang nonfero, dari proses pembuatan pestisida, dan dari pembakaran kaca yang digunakan untuk

pembuatan gelas. Senyawa arsen terkadang dipakai sebagai pestisida, maka debu dan gas yang dilepaskan dari mesin pemisah biji kapas dan dari mesin pemotong tembakau mengandung arsen (Sukandarrumidi *et al*, 2018).

Pembakaran bahan bakar fosil terutama batubara, mengeluarkan sejumlah As_2O_3 ke lingkungan dan sebagian besar akan masuk kedalam perairan. Arsen terdapat di dalam bersama-sama dengan mineral fosfat, dan di lepaskan di lingkungan sama dengan senyawa fosfor. Beberapa senyawa phenyl-arsenik sebagaimana arsenik acid digunakan sebagai aditif pada peternakan ayam untuk melawa serangan penyakit. Penggunaan lain dari arsen ditemukan dalam bidang peleburan baja, dimana digunakan sebagai doping germanium dan silicon atau dalam produksi gallium arsenid dan indium arsenid (Frank, 2004)

Menurut Sari yang mengutip pendapat Frank (2004), selain menyebabkan efek lokal di tempat kontak suatu zat toksik akan menyebabkan kerusakan bila diserap oleh organisme. Absorbs dapat terjadi melalui kulit, saluran cerna, dan saluran nafas. Sifat dan zat kimia terhadap organisme tergantung dari kadarnya di organ. Kadar ini tidak hanya tergantung pada konsentrasi dosis yang diterima, akan tetapi juga pada faktor lain misalnya, derajat absorbs, distribusi, dan ekskresi.

b. Karakteristik arsen

Arsen berwarna abu-abu, namun bentuk ini jarang ada di lingkungan. Arsen di air ditemukan dalam bentuk senyawa dengan satu atau lebih elemen lain (Wijayanto, 2005). Arsen secara kimia memiliki karakteristik yang serupa dengan fosfor, dan sering dapat digunakan sebagai pengganti dalam berbagai reaksi

biokimia dan juga beracun. Ketika dipanaskan arsen akan cepat teroksidasi menjadi oksida arsen yang berbau seperti bawang putih. Arsen dan beberapa senyawa arsen juga dapat langsung tersublimasi, berubah dari padat menjadi cairan terlebih dahulu. Zat dasar arsen ditemukan dalam dua bentuk padat berwarna kuning dan metalik, dengan berat jenis 1,97 dan 5,73 (Sukandarrumidi *et al*, 2018).

c. Sumber Pemaparan

Paparan arsen dapat terjadi melalui proses inhalasi, absorpsi terhadap kulit, ingesti atau oral dan secara parenteral. Sebagian besar manusia seluruh dunia dapat terkontaminasi arsen secara kronis. Paparan arsen juga dapat terjadi pada pekerja perkebunan, pabrik keramik, pembuatan kaca, peleburan dan penyulingan biji besi, proses produksi untuk produk pertanian seperti pestisida dan herbisida (Tchounwou *et al*, 2004).

d. Efek keracunan arsen

Efek arsen anorganik terhadap darah yaitu dapat mempengaruhi sumsum tulang dan mengubah komposisi sel darah, pada hati menyebabkan nekrosis dan sirosis hati dan pada ginjal menyebabkan kerusakan pembuluh tubulus dan glomerulus ginjal. Ginjal yang pertama kali dipengaruhi oleh arsen adalah glomerulus sehingga terjadi proteinuria. Arsen juga dapat menggantikan fosfor yang sudah disimpan selama bertahun-tahun dalam jaringan tulang. Pada sistem sel mengakibatkan kerusakan mitokondria sehingga menyebabkan sel mati (Endrinaldi, 2009). Gejala klinis awal pada intoksikasi arsen akut mungkin berupa nyeri otot, mual dan muntah yang parah, sakit perut kolik, dan diare yang banyak disertai tinja air susu.

Kerusakan kapiler menyebabkan vasodilatasi umum, bukan tindakan korosif langsung, menyebabkan transudasi cairan di lumen usus, pembentukan vesikal mukosa, dan penggilingan fragmen jaringan. Pasien mungkin mengompol, kram otot, mati rasa di tangan dan kaki, ruam kemerahan di tubuh dan kehausan yang hebat (Hasyim, 2005).

Keracunan yang parah terjadi pada kulit menjadi dingin dan keruh, dan beberapa tingkat keruntuhan sirkulasi biasanya terjadi bersamaan dengan kerusakan ginjal dan penurunan output urin. Kebingungan sering terlihat bersamaan dengan perkembangan psikosis yang terkait dengan delusi paranoid, halusinasi, dan delirium. Akhirnya, kejang, koma, dan kematian, biasanya karena syok, bisa terjadi (Hasyim, 2005).

Pengaruh arsen menyebabkan kerusakan pembuluh tubulus dan glomerulus pada ginjal di dalam darah arsen anorganik dapat menyebabkan nekrosis sentral dan nekrosis hati. Senyawa arsen adalah protoplasmik yang menyerang enzim. Gejala kronis timbal arsen mengakibatkan:

1. Kerusakan jantung, menyebabkan lemah dan gangguan pernafasan
2. Gangguan saraf, menyebabkan penurunan koordinasi motor dan neuritis.
3. Gangguan pencernaan, menyebabkan sakit perut, muntah, dan diare.
4. Infeksi kulit, menyebabkan dermatitis dan kebutakan (Hayati, 2009).

4. Hemoglobin

Hemoglobin adalah porfirin besi yang terikat pada protein globulin. Sel darah merah mengandung hemoglobin yang membawa oksigen (O₂) dan karbon dioksida (CO₂). Hemoglobin merupakan proteinida yang berfungsi mengangkut

oksigen untuk disebarkan di seluruh tubuh. Hemoglobin bisa diukur secara kimia dan jumlah Hb/100 ml darah digunakan sebagai indeks kapasitas pembawa oksigen pada darah. Molekul hemoglobin terdiri dari dua bagian utama yaitu *heme* dan *globin*. *Globin* mengandung empat rantai protein. Hemoglobin diberi nama berdasarkan struktur rantai proteinnya. Hemoglobin normal pada orang dewasa (HbA) terdiri dari 2 rantai *alpha-globulin* dan 2 rantai. *Heme* dari molekul hemoglobin mengandung zat besi yang terdapat didalam tubuh sebagian besar terdapat didalam hemoglobin, myoglobin dan pritein otot. Hal ini dikarenakan zat besi merupakan komponen utama dalam pembentukan hemoglobin (Estridge & Barbara, 2000).

Proses katabolisme dimulai dengan oksidasi jalan metilen yang terdapat pada cincin heme oleh sistem enzim heme oksigenase. Enzim akan membuka cincin pirol dan merubahnya menjadi bentuk linear. Atom ferro yang letaknya ditengah cincin parifin membuat senyawa ini menjadi lebih mudah dioksidasi dan dan menjadi ferri. Hasil pembukaan cincin heme ini merupakan verdoglobin, sedangkan tetrapirrol yang tersisa akan dibelah dan menjadi biliverdin. Co_2 dan atom besi dilepas dan protein globulin yang tersisa dipecahkan oleh enzim protease. Asam amino kelak akan dapat dipakai lagi untuk membentuk protein atau dipecahkan lebih lanjut dan besi yang dilepas disimpan dan akan menjadi cadangan besi tubuh. Kadar Hb adalah ukuran pigmen respiratori dalam bentuk butiran darah merah. Jumlah Hb dalam darah normal yaitu 15 g setiap 100 ml darah dan biasanya jumlah ini 100%. Nilai normal menurut skala A.V Hoffbrand, nilai normal Hb orang dewasa adalah 13,5-17,5 g/dl. Sedangkan wanita dewasa

11,5-15,5 g/dl. Sedangkan menurut WHO adalah: wanita 12,0 dan laki-laki 13,0. Factor yang mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah yaitu pola makan, usia, jenis kelamin, logam berat, genetik, lama kerja, kebiasaan merokok (Estridge & Barbara, 2000)

5. Sistem Imun Tubuh

Sistem imun adalah suatu jejaring didesain untuk hemostasis molekul yang besar (oligomer) dan sel dasar yang proses pengenalannya spesifik. Sistem imun terjadi di jaringan kompleks sel imun, sitokin, jaringan limfoid, dan organ yang bekerja dalam mengeliminasi bahan infeksius dan antigen lain. Antigen adalah substansi yang dapat menimbulkan respon imun (bakteri, serbuk sari, jaringan transplantasi). Jika bahan infeksius tidak bisa dihentikan oleh barier dan khemis, maka bahan infeksius akan masuk melalui kulit atau membran mukosa dan awal akan terjadinya lini pertama dari mekanisme pertahanan imunoserologi yang di sebut dengan respon imun atau non spesifik atau alami (Baratawidjaja, 2006).

Imun atau kekebalan sistem mekanisme pada organisme yang melindungi tubuh terhadap pengaruh benda asing dari luar dengan mengidentifikasi dan membunuh patogen serta sel tumor. Sistem ini akan mendeteksi berbagai macam pengaruh organism dari luar seperti dari infeksi bakteri, virus, sampai cacing parasit serta menghancurkan zat-zat asing lainnya supaya jaringan tetap berfungsi seperti biasa. Pertahanan imun terdiri dari sistem imun spesifik dan non spesifik. Disebut non spesifik karena tidak ditunjukkan terhadap mikroba tertentu, telah ada, dan berfungsi dari sejak lahir. Imunitas spesifik muncul lebih lambat (Baratawidjaja, 2006).

Sistem imun terbentuk dari sel-sel darah putih, sumsum tulang, dan jaringan limfosit di antara sel darah putih (leukosit) yang terlibat dalam imunitas adalah limfosit B dan limfosit T. Respon imun adalah cara yang dilakukan oleh tubuh untuk mempertahankan diri dari stres yang dapat mempengaruhinya. Asal spesifitas respon imun amplikasi adalah dari sel B dan sel T antigen tertentu (Baratawidjaja & Rengganis, 2009).

Mekanisme sistem imun digunakan oleh tubuh dalam mempertahankan keutuhan untuk melindungi dari bahaya yang timbul dari berbagai bahan pada lingkungan hidup yang dianggap asing bagi tubuh. Reaksi oleh sel dan molekul dan dalam sistem imun terhadap mikroba disebut dengan respon imun. Respon imun terbagi dua yaitu imunitas alamiah dan sistem imun adaptif /spesifik. Limfosit merupakan sistem imun adaptif. Sistem imun spesifik adalah respon yang didapat dari stimulasi oleh antigen dan dapat meningkatkan pada paparan. Dan dapat merespon secara selektif terhadap benda asing atau antigen sehingga terbentuknya memori spesifik. Respon imun spesifik meliputi aktivasi dan maturasi sel T, sel mediator dan sel B untuk memproduksi antibodi yang cukup untuk melawan antigen (Baratawidjaja, 2006, Benjamini *et al.*,2000, Baratawidjaja & Rengganis, 2009).

a. Respon Imun Non Spesifik/Alami

Respon imun non spesifik merupakan respon imun yang didapat dari lahir dan komponen yang ditemukan pada saat tubuh sehat. Sistem imun non spesifik mempunyai komponen utama yaitu: pertahanan fisik/mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan humoral, dan pertahanan selular. Respon imun non spesifik merupakan

petahan yang paling pertama untung menghadapi serangan mikroba dan memberikan respon langsung (Sudiono, 2014).

Tubuh mempertahankan diri dari serangan antigen (bakteri) yang masuk dengan menghancurkan antigen (bakteri) tersebut dengan bantuan fagositosis, dan tidak peduli terhadap adanya perbedaan substansi asing tersebut. sel leukosit dan fagosit berperan sangat penting terutama makrofag, netrofil dan monosit. Manifestasi respon imun non spesifik yaitu reaksi inflamasi. Jika terjadi infeksi perlu untuk memusatkan sel-sel sistem imun dan yang dihasilkannya ke lokasi infeksi (Sudiono, 2014).

b. Respon Imun Spesifik/Adaptif

Respon imun non spesifik terdiri dari aktivasi fagositosis, sel NK, inflamasi. Respon imun adaptif dimediasi oleh sel limfosit, yaitu dengan cara mengaktivasi proliferasi dan diferensiasi. Respon imun spesifik memiliki ciri-ciri yaitu:

1. Spesifitas

Respon timbul terhadap antigen. Spesifitas dapat terjadi jika limfosit mengepresikan reseptor yang mampu.

2. Diversitas

Diversitas yaitu total dari jumlah spesifitas limfosit terhadap antigen.

3. Memori

Kemampuan limfosit mengingat antigen yang pernah ditemui dan memberi respon yang lebih efektif.

4. Membatasi diri (*self limitation*)

Respon imun normal waktu tertentu setelah ransangan antigen (Sudiono, 2014).

c. Limfosit

Limfosit yaitu turunan dari sel darah putih (leukosit) yang berperan untuk pertahanan adaptif tubuh melawan berbagai penyakit infeksi. Limfosit berasal dari sel induk plorioten yang berdiferensiasi melalui jalur limfoid di dalam hati, sumsum tulang, dan timus dan terbagi menjadi beberapa kelas yang utama (Kresno, 2001). Limfosit terdiri dari sel T, (T_H , T_C , T_R), sel B dan sel NK (Baratawidjaja & Rengganis, 2009). Sel T berdiferensiasi di dalam timus, sedangkan sel B berdiferensiasi di dalam sumsum tulang belakang dan organ limfoid perifer (Baratawidjaja, 2006; Delves *et al.* 2011).

Leukosit mempunyai peranan dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap benda asing. Leukosit dapat bergerak dengan gerakan amuboid dan melalui proses diapadesis dan menembus kedalam jaringan penyambung (Effendi, 2003). Limfosit dapat mengenali antigen secara spesifik karena mempunyai reseptor pada permukaannya yang mampu mengenali antigen tertentu. Reseptor tersebut pada sel T disebut dengan TCR dan *surface immunoglobulin* (sIg) pada sel B (Kresno, 2013). Limfosit B memiliki protein marker *surface Immunoglobulin* M, D, G, A, dan. Sedangkan marker protein pada limfosit T adalah limfosit T_C berupa $CD8^+$ dan limfosit T_H berupa $CD4^+$. Sel T $CD4^+$ memiliki peran yang sangat penting dalam imunitas spesifik yaitu membantu APC dan T $CD8^+$ untuk memulai respon imun spesifik. Limfosit pada umumnya yang teraktivasi akan membelah, mengekspresikan dan memproduksi

sitokin yang dapat mengaktivasi proliferasi dalam organ limfoid (Baratawidjaja, 2000; Delves *et al.* 2011).

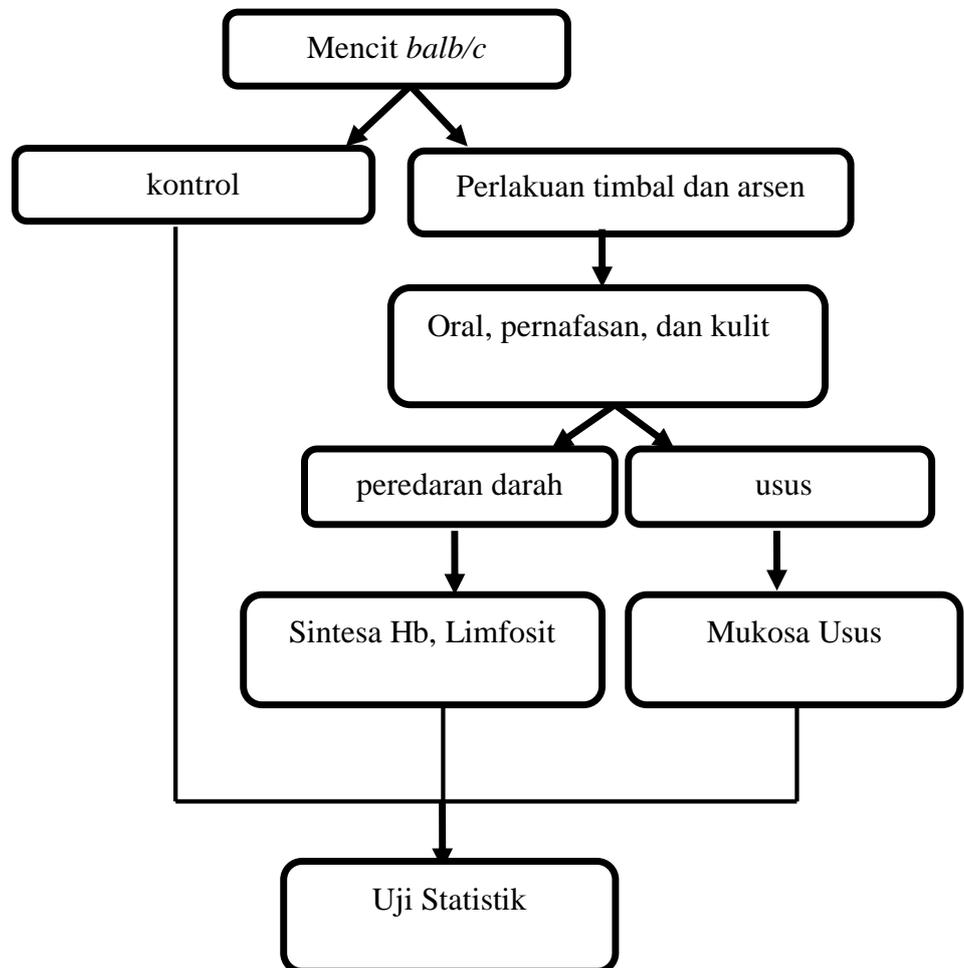
B. Landasan Teori

Menurut Henritig dalam Sembel (2015), timbal adalah salah satu logam yang pertama-tama dilebur dan digunakan untuk keperluan industri. Proses masuknya timbal melalui pernafasan, oral (makanan dan minuman) dan penetrasi pada lapisan kulit. Timbal dapat menghambat aktivitas enzim–enzim yang terlibat dalam pembentukan Hemoglobin (Hb). Timbal diabsorpsi oleh darah ke organ tubuh sebanyak 95% dan timbal dalam darah akan diikat oleh eritrosit. Timbal dalam plasma sebagian yang berdifusi dan keseimbangan terdapat pada jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, ginjal dan hati) dan pada jaringan keras (tulang, kuku, rambut, dan gigi) (Palar, 2008). Keracunan akut arsen menimbulkan gejala muntaber disertai darah. Sedangkan keracunan kronik dapat menimbulkan ikterus, perdarahan pada ginjal dan kanker kulit. Efek arsen anorganik pada darah dapat mempengaruhi sumsum tulang dan mengubah komposisi sel darah. Efek arsen anorganik terhadap darah yaitu dapat mempengaruhi sum-sum tulang dan mengubah komposisi sel darah (Endrinaldi, 2009).

Limfosit dapat mengenali antigen secara spesifik karena mempunyai reseptor pada permukaannya yang mampu mengenali antigen tertentu. Reseptor tersebut pada sel T disebut dengan TCR dan *surface immunoglobulin* (sIg) pada sel B (Kresno, 1996). Limfosit B memiliki protein marker *surface Immunoglobulin* M, D, G, A, dan. Sedangkan marker protein pada limfosit T

adalah limfosit T_C berupa $CD8^+$ dan limfosit T_H berupa $CD4^+$. Sel $T CD4^+$ memiliki peran yang sangat penting dalam imunitas spesifik yaitu membantu APC dan $T CD8^+$ untuk memulai respon imun spesifik. Limfosit pada umumnya yang teraktivasi akan membelah, mengekspresikan dan memproduksi sitokin yang dapat mengaktivasi proliferasi dalam organ limfoid (Baratawidjaja, 2006; Delves *et al.* 2011).

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

1. Paparan timbal dan arsen dapat mempengaruhi jumlah limfosit dalam darah.
2. Paparan timbal dan arsen dapat mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah.
3. Paparan timbal dan arsen dapat mempengaruhi kerusakan pada organ usus.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian termasuk penelitian eksperimental laboratorium dengan dengan rancangan penelitian *post test only control grup design*.

B. Waktu atau Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Biologi Universitas Sebelas Maret dan di Laboratorium Universitas Setia Budi. Waktu penelitian dilakukan pada bulan april 2018 sampai dengan bulan juli 2018.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah mencit putih *Balb/c* berumur 7-8 minggu dengan berat badan 20-30 g. Hewan uji diperoleh dari balai pengembangan (BPHP) Universitas Gajah Mada.

2. Sampel

Sampel penelitian adalah 18 ekor mencit *Balb/c* yang dipilih dengan teknik acak sederhana. Sampel dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok 1 sebagai kontrol, sedangkan kelompok II adalah kelompok perlakuan timbal dan kelompok III adalah sebagai kelompok perlakuan arsen. Sampel yang diambil adalah darah vena orbital dari mencit *Balb/c*.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel *independent* pada penelitian ini adalah dosis timbal dan arsen yang diberikan pada mencit *Balb/c*
2. Variabel *dependent* pada penelitian ini adalah hitung jumlah limfosit, kadar Hb dan Histopatologi usus mencit *Balb/c*.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Jumlah limfosit adalah jumlah sel limfosit yang beredar dalam sirkulasi darah, skala berupa numerik dan satuan $10^3/l$.
2. Kadar hemoglobin adalah nilai konsentrasi hemoglobin yang ditemukan dalam darah, Skala berupa numerik dan Satuan g/dl.
3. Histopatologi usus adalah untuk menilai tingkat kerusakan pada usus dengan menggunakan mikroskop, skala berupa ordinal.

F. Bahan dan Alat

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: tabung kapiler, kapas, Tabung EDTA, Alat *Hematologi analyzer*, sonde, tabung vial, tissue, microtome knife, waterbath, deck glass, objek glass, cassette, scalpel blade, tissue processor, label, dll.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: darah, antikoagulan EDTA, *arsenik acid*, timbal, kapas, alkohol 70%, EDTA (*Ethylen*

Diamine Tetra Acid), aquadest, organ usus, formalin 10%, alkohol: 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, xylol, larutan hematoxylin, larutan eosin, *Canada balsam*.

Pada penelitian ini digunakan hewan coba mencit *Balb/c* jantan. Sejumlah 18 ekor, umur 7-8 minggu dengan bobot badan lebih kurang 20g–34g yang di peroleh dari laboratorium hewan percobaan.

G. Prosedur Kerja

1. Persiapan hewan coba

Mencit dipelihara dalam kandang plastik ditutup dengan kawat. Kandang diletakkan dalam ruangan yang mendapatkan cahaya sinar matahari secara tidak langsung. Kandang tempat makan dan tempat minum dibersihkan sekali dalam satu minggu. Mencit diaklimatisasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan timbal dan arsen. Pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari. Pakan yang diberikan berupa pellet dan aquadest. Sampel yang terdiri dari 18 ekor dibagi secara acak dalam 3 kelompok. Kelompok 1 adalah sebagai kontrol, kelompok 2 adalah perlakuan timbal, kelompok 3 adalah perlakuan arsen.

Perlakuan diberikan sesuai dengan kelompok. Sebelum perlakuan dilakukan penimbangan berat badan mencit. Bahan uji diberikan secara oral menggunakan sonde dengan ujung jarum yang tumpul. Sonde dimasukkan dengan hati-hati, kira-kira bahan uji masuk sampai ke dalam lambung. Waktu pemberian uji dilakukan pada pukul 08.00 sampai 09.00 wib. Volume pemberian bahan berdasarkan berat badan mencit dan diberikan setiap hari selama 30 hari. Dosis Timbal yang diberikan adalah 0,026 mg/20gr BB, sedangkan dosis Arsen 0,013 mg/20kg BB.

2. Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan dari vena orbital. Alat dan bahan yang digunakan adalah pipet kapiler, tabung/cup serum yang berisi EDTA sebagai antikoagulan dan alat *hematologi analyzer*.

Cara kerja: Mengambil darah sebanyak 1 ml menggunakan pipet kapiler kemudian memasukkan kedalam tabung/cup serum yang telah diisi antikoagulan EDTA. Setelah diambil kemudian diperiksa jumlah limfosit dan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematologi analyzer*

3. Prosedur pembuatan preparat histopatologi

- Memotong jaringan organ usus

Jaringan dipotong dengan ukuran 1cm x 1cm memudahkan *fiksasi* supaya cairan *fiksasi* dapat menyerap sampai ke seluruh jaringan

- Tahap pengawetan/ *fiksasi*

- Organ usus yang sudah diambil direndam ke dalam cairan formalin 10% selama 24 jam

- Tahap *dehidrasi*

Jaringan yang sudah difiksasi kemudian direndam kedalam larutan alkohol secara bertahap.

- Larutan alkohol 70%, Larutan alkohol 80%, Larutan alkohol 90% masing masing 1 hari.
- Larutan alkohol 95% 2 hari (2x ganti)

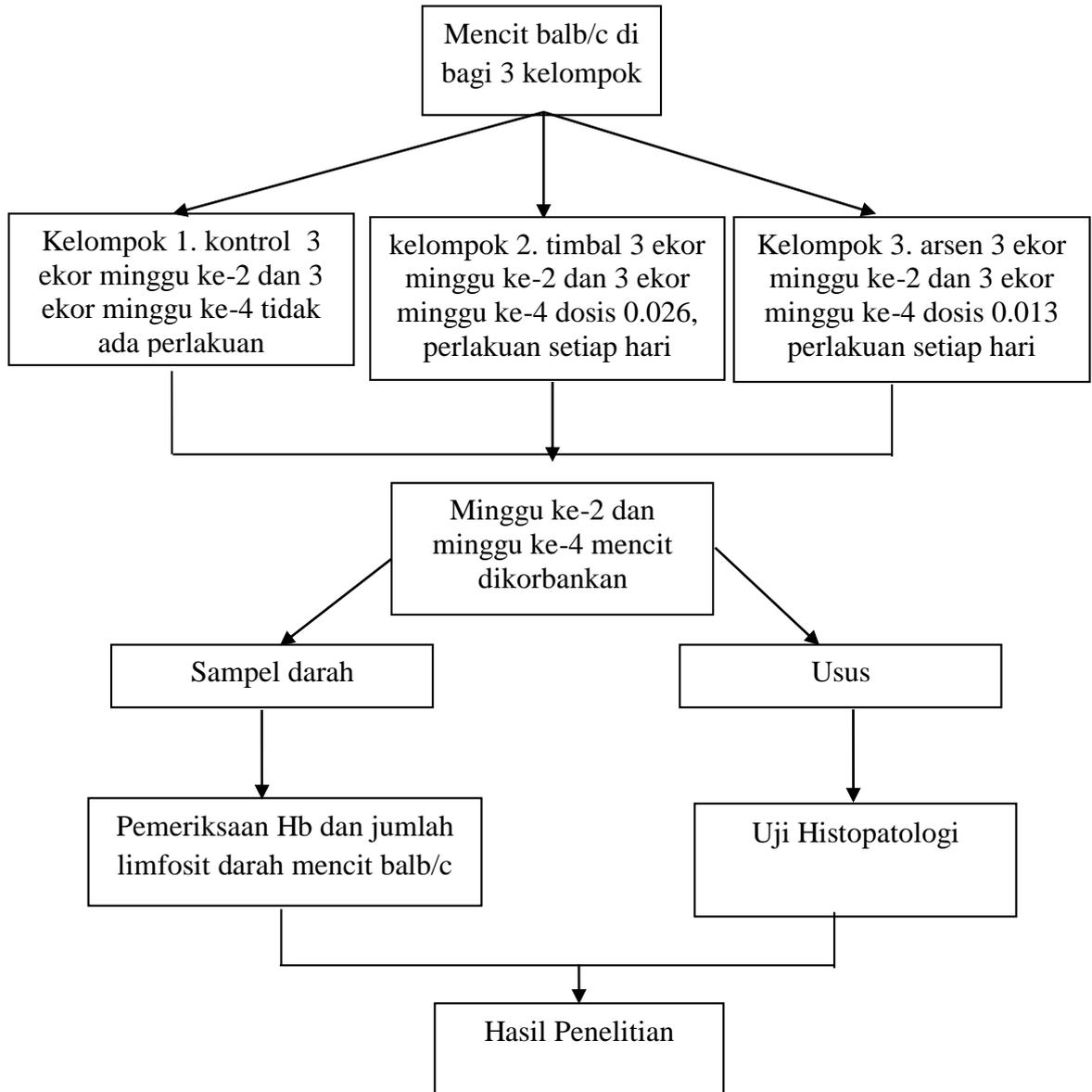
- Tahap pembersihan/ *clearing*
 - Jaringan yang sudah di dehidrasi direndam kedalam cairan xylol yang sudah di letakkan di dalam wadah kaca.
 - Dilakukan 2 kali (xylol I & xylol II) masing-masing 15 menit.
- Tahap pembersihan/ *impregnation*
 - Agar jaringan dapat mudah dipotong maka jaringan dipadatkan dengan parafin
 - Teknik pembersihan dengan paraffin selama 1 jam
- Tahap pengecoran / *blocking*
 - menuangkan sedikit paraffin di bagian pinggir agar tidak bocor.
 - Jaringan di letakkan didasar agar permukaan rata.
 - Menuang paraffin secukupnya agar menutupi seluruh jaringan, hindari terbentuknya *air bubble*
 - Diamkan selama 12 jam.
- Tahap pemotongan jaringan
 - Pisau diletakkan di mikrotom dengan sudut tertentu
 - Merekatkan blok paraffin yang akan di potong pada holder dengan menggunakan *scalpel blade* yang panas
 - letakkan holder berikut blok preparat pada tempatnya di mikrotom, atur jarak preparat yang di pegang oleh holder kearah pisau.
 - setelah di potong pindahkan dengan sengkelet keatas air panas di dalam waterbath pada suhu 55⁰C, kemudian tempelkan pada objek glass. (Muntiha, 2001).

- Pewarnaan yang digunakan adalah hematoxylin eosin (HE)
 - Rendam dengan xylol (4 menit)
 - Rendam dengan alkohol 100% (2 menit), alkohol 95% (2 menit), 90% (2 menit), 80% (2 menit), 70% (2 menit), air kran (3 menit).
 - Rendam di larutan hematoksilin (10-20 menit)
 - Kemudian rendam lagi dengan alkohol dengan gradiasi meningkat: alkohol 70% (4 menit), 80 alkohol (4 menit), alkohol 90% (4 menit), alkohol 95% (4 menit),
 - Rendam lagi ke dalam xylol.
 - Letakkan 1 tetes *Canada balsam* di atas *deck glass* dan tutup keatas kaca object dan dilihat dibawah mikroskop.

H. Analisis Hasil

Data yang diperoleh di analisis dengan program komputer SPSS untuk melihat ada tidaknya perbedaaan jumlah limfosit dan kadar Hb pada perlakuan timbal dan arsen. Uji SPSS menggunakan uji *independent t-test*.

I. Alur Penelitian



Gambar 2.Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Timbal dan arsen merupakan logam berat yang bersifat sangat toksik. Timbal dan arsen dapat masuk ke dalam tubuh yaitu dengan cara terinhalasi, terminum dan termakan. Tingkat paparan di lingkungan umum dapat menimbulkan gangguan dalam fungsi fisiologis dan metabolisme. Penelitian ini dilakukan untuk melihat efek pemberian timbal dan arsen terhadap hitung jumlah limfosit dan pada kadar hemoglobin (Hb), serta melihat gambaran kerusakan terhadap organ usus mencit.

Data WHO tahun 1999, menunjukkan bahwa tingginya kadar timbal di udara menyebabkan terjadinya 200.000–500.000 kasus hipertensi di Bangkok dan menyebabkan 400 kematian setiap tahunnya. Sementara itu di Thailand tercatat bahwa tingginya paparan timbal menyebabkan hipertensi pada 20% orang dewasa (Suparwoko & Firdaus, 2007).

Penelitian ini dilakukan pengambilan darah untuk melihat kadar Hb dan jumlah limfosit, dan untuk melihat gambaran histopatologi organ usus diambil pada mencit yang sudah di paparkan dengan timbal dan arsen. Data penelitian di peroleh berupa kadar hemoglobin, jumlah limfosit dan histopatologi akibat paparan dari timbal dan arsen terhadap usus mencit.

Tabel 1. Rerata Jumlah Limfosit Minggu Ke-2 dan Minggu Ke-4 Pada Pemberian Timbal dan Arsen

Kelompok	Waktu paparan	Jumlah sampel	Rata-rata limfosit ($\times 10^3$ ul)
Kontrol	2	3	4.53 ± 2.12
	4	3	3.53 ± 0.70
Perlakuan timbal	2	3	2.16 ± 1.22
	4	3	3.13 ± 1.09
Perlakuan arsen	2	3	3.06 ± 1.02
	4	3	4.33 ± 1.02

Rerata jumlah limfosit darah pada tabel 1 menunjukkan nilai kelompok kontrol pada minggu ke-2 sebesar 4.53×10^3 ul \pm 2.12 dan minggu ke-4 sebesar 3.53×10^3 ul \pm 0.70. kelompok perlakuan timbal pada minggu ke-2 sebesar 2.16×10^3 ul \pm 1.22 dan minggu ke-4 sebesar 3.13×10^3 ul \pm 1.09. kelompok perlakuan arsen pada minggu ke-2 sebesar 3.06×10^3 ul \pm 1.02 dan minggu ke-4 sebesar 4.33×10^3 ul \pm 1.02.

Tabel 2. Rerata Kadar Limfosit Minggu Ke-2 dan Minggu Ke-4 Pada Pemberian Timbal dan Arsen

Kelompok	Waktu paparan (minggu)	Jumlah sampel	Rata-rata hemoglobin (g/dl)
Kontrol	2	3	14.63 ± 4.10
	4	3	12.90 ± 2.0
Perlakuan timbal	2	3	13.56 ± 0.60
	4	3	10.76 ± 2.35
Perlakuan arsen	2	3	15.16 ± 0.20
	4	3	13.83 ± 0.35

Rerata kadar hemoglobin pada tabel 2 menunjukkan nilai kelompok kontrol pada minggu ke-2 sebesar 14.63 g/dl \pm 4.10 dan minggu ke-4 sebesar 12.90 g/dl \pm 2.0. Kelompok perlakuan timbal pada minggu ke-2 sebesar 13.56 g/dl

± 0.60 dan minggu ke-4 sebesar $10.76 \text{ g/dl} \pm 2.35$. kelompok perlakuan arsen pada minggu ke-2 sebesar $15.16 \text{ g/dl} \pm 0.20$ dan minggu ke-4 sebesar $13.83 \text{ g/dl} \pm 0.35$.

Tabel 3. Uji Homogenitas Jumlah Limfosit

Test of Homogeneity of Variances			
Jumlah Limfosit Dalam Darah			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.701	5	12	.029

Data dari hasil uji homogenitas jumlah limfosit dapat diketahui nilai signifikansinya= $0.029 < 0.05$ menunjukkan bahwa data pada tiga kelompok adalah homogen.

Tabel 4. Uji Normalitas Jumlah Limfosit

Tests of Normality				
KODE		Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
Jumlah Limfosit Dalam Darah	Kontrol Minggu 2	.844	3	.226
	Kontrol Minggu 4	.993	3	.843
	Pb Minggu 2	.964	3	.637
	Pb minggu 4	.916	3	.439
	As minggu 2	.865	3	.281
	As minggu 4	.987	3	.780
	a. Lilliefors Significance Correction			

Hasil uji normalitas jumlah limfosit pada ketiga kelompok menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.226 dan 0.843 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada kelompok kontrol adalah normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan Pb nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.376 dan 0.439 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada perlakuan Pb adalah

normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan As nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.281 dan 0.780 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada perlakuan Pb adalah normal.

Tabel 5. Uji Homogenitas Kadar Hemoglobin

Kadar Hb Darah			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.762	5	12	.069

Hasil uji homogenitas pada kadar hemoglobin dapat diketahui nilai signifikansi kadar Hb = 0,069 < 0.05 menunjukkan bahwa data pada tiga kelompok adalah homogen.

Tabel 6. Uji Normalitas Kadar Hemoglobin

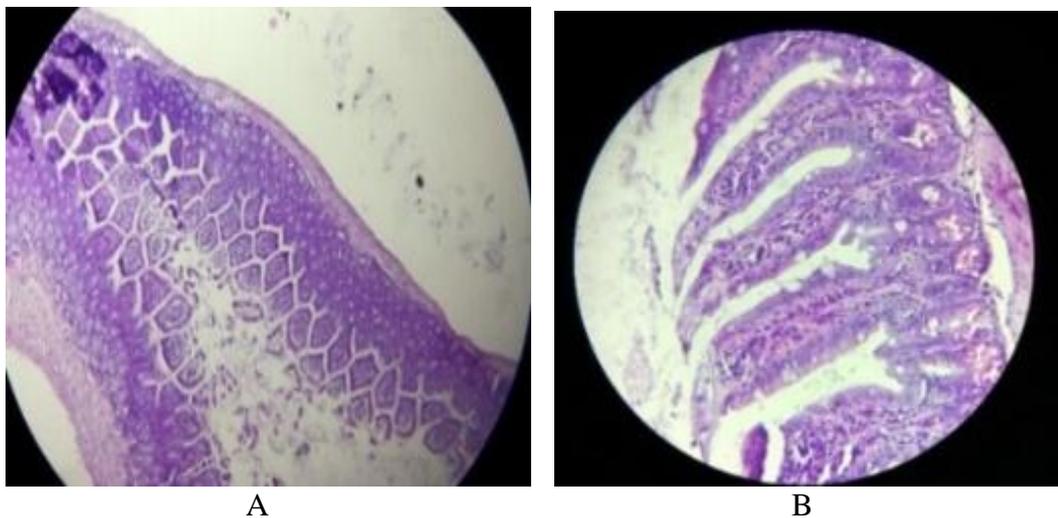
Tests of Normality				
Kode		Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
Kadar Hb Karah	Kontrol Minggu 2	.997	3	.893
	Kontrol Minggu 4	.912	3	.424
	Kadar Hb Pb Minggu 2	.991	3	.817
	Kadar Hb Pb Minggu 4	.993	3	.836
	Kadar Hb As Minggu 2	.923	3	.463
	Kadar Hb As Minggu 4	.993	3	.843

a. Lilliefors Significance Correction

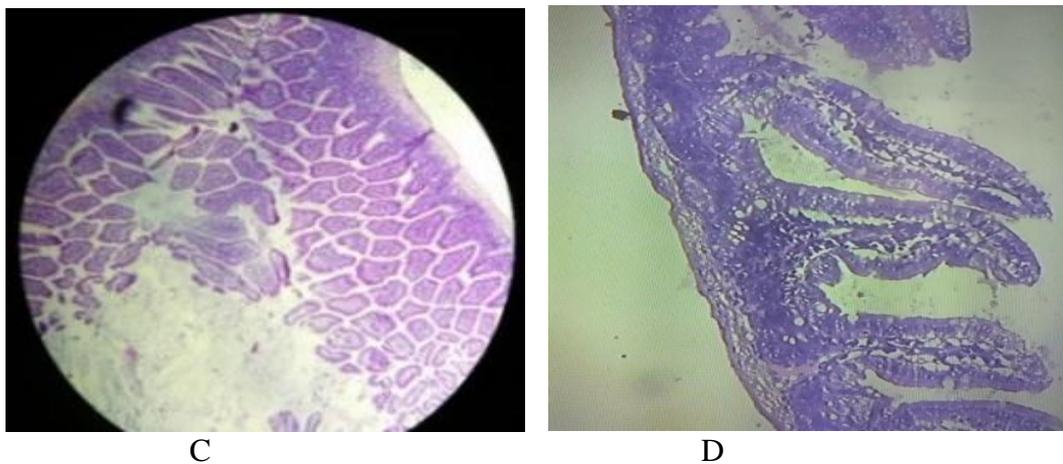
Hasil uji normalitas kadar hemoglobin pada ketiga kelompok menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.893 dan 0.424 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada kelompok kontrol adalah normal. kelompok perlakuan Pb nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada

minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.817 dan 0.836 ($p>0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada perlakuan Pb adalah normal. Kelompok perlakuan as nilai *shapiro-wilk* dengan nilai signifikansi pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 sebesar 0.863 dan 0.843 ($p>0.05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data pada perlakuan Pb adalah normal.

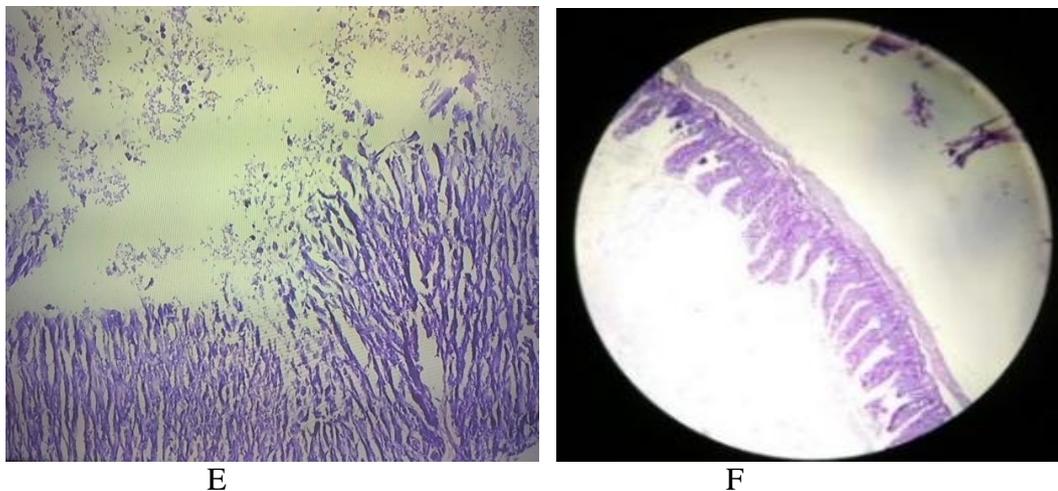
Gambaran Hasil Pengamatan Mikroskopis Usus Mencit *Balb/c* Dapat Dilihat Dibawah Ini:



Gambar 3. Mikroskopis Usus kelompok Kontrol (A) Minggu ke-2 dan (B) Minggu Ke-4 (100x, HE)



Gambar 4. Mikroskopis Usus kelompok Perlakuan Timbal (C) Minggu ke-2 dan (D) Minggu Ke-4 (100x, HE)



Gambar 5. Mikroskopis Usus kelompok Perlakuan Arsen (E) Minggu ke-2 dan (F) Minggu Ke-4 (100x, HE)

B. Pembahasan

1. Jumlah limfosit dalam darah

Limfosit merupakan bagian dari sel darah putih (leukosit) tidak memiliki granula dalam sitoplasma sel kunci pada proses imun spesifik untuk mengenali benda asing yang masuk melalui reseptor antigen. Limfosit terdapat dalam darah serta organ limfoid yaitu: limfa, kelenjar limfa, dan timus. Limfosit mempunyai reseptor antigen yang beragam, tetapi limfosit hanya dapat mengenal satu antigen sehingga pada proses imun limfosit saling bekerja sama untuk mengeliminasi berbagai antigen yang masuk ke dalam tubuh.

Jumlah limfosit normal pada mencit menurut Setyani (2012), berkisar antara $1.00-4.50 \times 10^3$ ul. Hasil penelitian ini rerata jumlah limfosit dalam darah mencit kontrol minggu ke-2 sebesar 4.53×10^3 ul \pm 2.12. Rerata jumlah limfosit mencit minggu ke-2 sedikit di atas normal, hal ini dapat terjadi karena kurangnya

volume sampel darah yang dibutuhkan untuk pengukuran kadar hemoglobin darah dengan menggunakan alat *hematologi analyzer* dan sampel darah yang kurang homogen. Rerata jumlah limfosit dalam darah mencit kontrol minggu ke-4 sebesar $3.53 \times 10^3 \text{ ul} \pm 0.70$ masih dalam batas normal. Pada penelitian ini rerata jumlah limfosit pada mencit perlakuan timbal minggu ke-2 sebesar $2.16 \times 10^3 \text{ ul} \pm 1.22$ dan minggu ke-4 sebesar $3.13 \times 10^3 \text{ ul} \pm 1.09$. Rerata jumlah limfosit mencit perlakuan timbal masih dalam batas normal kemungkinan karena dosis yang digunakan masih relatif aman bagi tubuh sehingga tidak berpengaruh terhadap jumlah limfosit, dibandingkan minggu ke-2 dengan minggu ke-4 terjadi peningkatan jumlah limfosit dalam darah. Adanya peningkatan jumlah limfosit dalam darah kemungkinan karena adanya infeksi sehingga mengharuskan limfosit mengeluarkan jumlah yang lebih banyak untuk merespon.

Pada penelitian ini rerata jumlah limfosit pada mencit perlakuan arsen minggu ke-2 sebesar $3.06 \times 10^3 \text{ ul} \pm 1.02$ dan minggu ke-4 sebesar $4.33 \times 10^3 \text{ ul} \pm 1.02$. Rerata jumlah limfosit mencit perlakuan arsen masih dalam batas normal kemungkinan karena dosis yang digunakan masih relatif aman bagi tubuh sehingga tidak berpengaruh terhadap jumlah limfosit, dibandingkan minggu ke-2 dengan minggu ke-4 terjadi peningkatan jumlah limfosit dalam darah. Adanya peningkatan jumlah limfosit dalam darah kemungkinan karena adanya infeksi sehingga mengharuskan limfosit mengeluarkan jumlah yang lebih banyak untuk merespon.

2. Kadar hemoglobin dalam darah mencit

Hemoglobin adalah komponen penting dari sel darah merah yang memiliki peran dalam transportasi oksigen dengan karbondioksida (Yetireh dan Amir, 2013). Pengukuran kadar hemoglobin dalam darah adalah salah satu uji laboratorium klinis yang sering dilakukan untuk melihat secara tidak langsung pada kapasitas darah dalam membawa oksigen ke sel-sel di dalam tubuh. Pemeriksaan kadar hemoglobin merupakan salah satu indikator yang menentukan seseorang menderita anemia atau tidak (Estridge & Barbara, 2000).

Kadar hemoglobin normal pada mencit berkisar 10-14 g/dl sedangkan pada manusia kadar hemoglobin normal adalah 13-17 g/dl. Kadar hemoglobin dibawah normal merupakan sindrom dari penyakit anemia (Handayani, 2008). Berdasarkan hasil pengukuran kadar hemoglobin darah pada mencit *Balb/c* tanpa perlakuan (kontrol) minggu ke-2 sebesar 14,63 g/dl \pm 4.10. Pada minggu ke-2 terjadi peningkatan diatas normal. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya volume sampel darah yang dibutuhkan untuk pengukuran kadar hemoglobin darah dengan menggunakan alat *hematologi analyzer* dan sampel darah yang kurang homogen. Kadar hemoglobin pada minggu ke-4 sebesar 12,90 g/dl \pm 2.00 masih dalam batas normal.

Rerata kadar hemoglobin pada perlakuan timbal minggu ke-2 sebesar 13,56 g/dl \pm 0.60 dan minggu ke-4 sebesar 10,76 g/dl \pm 2.35 kadar hemoglobin masih dalam batas normal. Pemberian timbal pada mencit *Balb/c* tidak berpengaruh secara signifikan. Penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Intani (2010) & Putri (2010) dimana hasil dari pemberian timbal

tidak berpengaruh terhadap kadar hemoglobin darah. Dibandingkan minggu ke-2 dengan minggu ke-4 terjadi penurunan kadar hemoglobin. Kadar hemoglobin pada perlakuan timbal mengalami penurunan kemungkinan dapat disebabkan oleh terganggunya proses pembentukan hemoglobin. Gangguan ini disebabkan karena masuknya timbal kedalam darah yang dapat menghambat kerja enzim ALAD pada saat pembentukan gugus heme (Lauwerys & Perrine, 2001). Terganggunya pembentukan heme menyebabkan kadar hemoglobin menurun (Lubis, 2013). Penelitian ini sesuai dengan teori Palar (2008) yang mengatakan adanya hubungan timbal dengan kadar hemoglobin darah menandakan konsentrasi timbal yang tinggi di dalam darah sehingga menyebabkan terganggunya pembentukan sel darah merah dan akan menyebabkan terjadinya gangguan kesehatan.

Rerata kadar hemoglobin pada perlakuan arsen minggu ke-2 sebesar $15,16 \text{ g/dl} \pm 0,20$. Pada minggu ke-2 terjadi peningkatan kadar hemoglobin diatas normal. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya volume sampel darah yang di butuhkan untuk pengukuran timbal darah dengan menggunakan alat hematologi analyzer, sampel kurang homogen sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar hemoglobin. Kadar hemoglobin minggu ke-4 sebesar $13,83 \text{ g/dl} \pm 0,35$ masih dalam batas normal. Dibandingkan kadar hemoglobin minggu ke-2 dengan minggu ke-4 terjadi penurunan kadar hemoglobin darah tetapi masih pada range normal. Terjadinya penurunan pada kadar hemoglobin disebabkan karena arsen dapat menurunkan produksi sel darah merah dan sel darah putih. Arsen juga dapat merusak pembuluh darah sehingga menyebabkan kadar hemoglobin menurun.

3. Gambaran histologi pada usus

Pengamatan terhadap histopatologi usus dilakukan secara mikroskopis menggunakan preparat histologi usus mencit *Balb/c* dengan metode pewarnaan HE. Perubahan yang diamati seperti adanya kerusakan pada mukosa usus, dan epitel.

Hasil penelitian pada kelompok kontrol yang hanya diberikan pakan dan aquades tidak menunjukkan adanya kerusakan pada usus mencit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian timbal dengan dosis 0.013 per oral tidak ditemukan kerusakan pada usus mencit *Balb/c*, hal ini tidak sesuai dengan teori Ismayana & Nazruddin (2017) yang menyatakan bahwa pemberian timbal yang bersifat racun dapat menyebabkan usus mengalami kerusakan berupa pengelupasan vili. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada kerusakan dan pengelupasan pada vili usus, hal ini kemungkinan disebabkan karena dosis yang digunakan masih dalam ambang batas normal yang diperbolehkan dan lama perlakuannya kurang sehingga tidak berpengaruh terhadap histologi usus.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian arsen dengan dosis 0.013 per oral tidak dapat mengakibatkan perubahan histologi pada usus mencit *Balb/c*, dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan arsen tidak ada pelepasan epitel dan tidak ada pembentukan vesikel dibawah mukosa. Penelitian ini tidak sesuai dengan teori Hasyim (2005) yang menyatakan bahwa pemberian arsen yang bersifat racun iritan akan menimbulkan transudasi plasma pada kapiler yang membentuk vesikel di bawah mukosa dan epitel gastrointestinal. Bahwa arsen mengiritasi mukosa

duodenum sehingga terjadi pelepasan epitel pada mukosa usus. Arsen tidak berpengaruh kemungkinan terjadi karena dosis yang digunakan masih dalam ambang batas normal yang masih diperbolehkan sehingga tidak menyebabkan terjadinya kerusakan pada usus dan lama perlakuannya kurang sehingga tidak berpengaruh terhadap histologi usus.

C. Keterbatasan Penelitian

Penguasaan ilmu pengetahuan peneliti terhadap imunoserologi dan histologi masih banyak kekurangan dan dalam penelitian mempunyai keterbatasan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan:

1. Pemberian timbal dan arsen pada mencit *Balb/c* terhadap jumlah limfosit tidak ada berpengaruh secara signifikan
2. Pemberian timbal dan arsen pada mencit *balb/c* rata-rata kadar hemoglobin limfosit tidak ada berpengaruh secara signifikan.
3. Pemberian timbal dan arsen tidak ada berpengaruh pada histopatologi usus

B. Saran

1. Perbedaan data hasil pengukuran dalam penelitian ini secara statistik tidak bermakna, hal ini dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang kecil. Untuk itu penting untuk dilakukan penelitian yang sama dengan jumlah sampel lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan dosis yang bertingkat untuk melihat penurunan kadar hemoglobin, dan jumlah limfosit dan juga untuk melihat kerusakan histopatologi pada usus.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardyanto, T. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) Dalam Darah Masyarakat Yang Terpajan Timbal (Plumbum). *Jurnal Kesehatan Lingkungan* (2): 67-76.
- Baratawidjaja, K G. 2006. *Imunologi Dasar* Edisi ke-7. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Universitas Indonesia: 2006.
- Baratawidjaja, K G dan Rengganis, I., 2009. *Imunologi Dasar* Edisi Ke-8. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Universitas Indonesia
- Benjamini, E., Coico, R., Sunshine, G. 2000. *Immunology: A Short Course*, Edisi ke-4, Willey-liss, Inc, Canada.
- (BSN) Badan Standardisasi Nasional. 2009. *SNI 01-7387-2009: Batas Maksimum Cemaran Logam Berat Dalam Pangan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2009. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 tentang penetapan batas maksimum cemaran mikro badan kimia dalam makanan*. Jakarta Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Chandra. W., 2016. Kerang Mengandung Arsenik Dan Sianida. *Kompas* https://www.regional.kompas.com/read/2016/09/21174721/sebabkan_63.orang.keracunan.kerang.mengandung.arsenik.dan.sianida.
- Delves, P. J, Martin, S. J., Burton, D. R. dan Roitt, I. M., 2011. *Roitt's Essential Immunology*, 12 Edition 2, Wiley-Blackwell, UK.
- Effendi, Z., 2003. *Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alerjik dalam Tubuh*. Fakultas Kedokteran: Universitas Sumatera Utara.
- Endrinaldi. 2009. Logam-Logam Berat Pencemar Lingkungan Dan Efek Terhadap Manusia. *Jurnal kesehatan Masyarakat*. 4.1 Jurnal online (diakses 14 juni 2018).
- Estridge, & Barbara., H. 2000. *Basic Medical Laboratory Techniques (4th ed)*. Amerika: Thomson Learning.
- Fardiaz, S., 1992. *Polusi Air dan Udara*, 24,48, 59, 63, 64, Yogyakarta: Kanisius
- Frank, N., 2004. *Ammonia Toxicity to Freshwater Fish: The Effect of pH and Temperature* Edisi ke-2, Van Nostrand Reinhold Company, New York.

- Gurrer H, Ercal. N., Aykin-Burns, N 2001. Toxic Metals and Oxidative Stress. Part 1. Mecanism. Involved in Metal Induced Oxidative Damage. *Curr Top-Med. Chem.* 1:529-539.
- Handayani, W. 2008. *Asuhan Keperawatan Pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Selemba Medika: Jakarta.
- Hanna, M. I., Shaheed, I. B. dan Elias, N. S. 2005. A Contribution on Chromium and Lead Toxicity in Cultured Oreochromis Niloticus. *Egy Ptian Journal aquat. Biol. Fish.*, 9: 177-209.
- Hasyim, D. 2005. Gambaran Histopatologis Duodenum Mencit Balb/c Pada Pemberian Arsen Tioksida Dosis Bertingkat Per Oral. [KTI] Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/21848/1/Djatun.pdf>.
- Hayati, N. 2009. Analisis Arsen (As) Pada Kerang (Bivalvia) Yang Berasal Dari Laut Belawan Tahun 2009 [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Herman, D, Z. 2006. “Tinjauan Terhadap Tailing Mengandung Unsur Pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Dari Sisa Pengolahan Bijih Logam” *Jurnal Geologi Indonesia*.
- Intani, C. Y. 2010. Pengaruh Timbal (Pb) Pada Udara Jalan Tol Terhadap Gambaran Mikroskopis Testis Dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Mencit Balb/c Jantan. *Jurnal Kesehatan*. Universitas Diponegoro.
- Ismayana, R., Nazruddin. 2017. Pengaruh Paparan Timbal (Pb) Terhadap Histopatologis Usus Ikan Nila (Oreochromis niloticus). *Jurnal JJIMVET E-IISN.*, 2(1):12-16.
- Istarani, F. dan Ellina S. P, B. 2014. Studi Dampak Arsen dan Cadmium Terhadap Penurunan Kualitas Lingkungan. *Jurnal Teknik Pomits* vol 3, no 1.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperiment. [Makalah] Disampaikan Pada Kegiatan *In Service I*, Pada Tanggal 20-23 Juni 2011 Di Yogyakarta. Diakses tanggal 22 Agustus 2018. <http://staff.uny.ac.id/sites/default/files/pengabdian/drs-ahmad-jaedun-mpd/metode-penelitian-ekperimen.pdf>.
- Kresno, S. 2001. *IMUNOLOGI: Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium* Edisi ke-IV. Jakarta Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kresno, S. 2013. *Imunologi: Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium*. Edisi Ke-V. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Lawerys, R & Perrine, H. 2001. *Industrial Chemical Exposure Guide Lines For Biological Monitoring 3 rd ed*: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.

- Lubis, B. 2013. Hubungan Keracunan Timbal Dengan Anemia Difisiensi Besi Pada Anak. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* 200/40.1. 2013 hal. 17-21.
- Mardiani T. H. 2008. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Terhadap Kadar Melondialdehyde (MDA) Plasma Mencit [*Tesis*]. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Muntiha., M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. *Jurnal Veteriner Temu Teknisi Non Penelitian*: 156-163.
- Naria, E. 2005. Mewaspada Dampak Bahan Pencemaran Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. Universitas Gadjah Mada.
- Palar, H. 2008. *Pencemaran Dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta. Halaman 178.
- Paul, B. K. 2004. "Arsenic Contamination Awareness Among The Rural Resident Banglades", *Social Science & Medicine*. 1741-1755.
- Putri, M. 2010. Pengaruh Timbal (Pb) Pada Udara Jalan Tol Terhadap Gambaran Mikroskopis Paru Dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Mencit Balb/c Jantan. [*Skripsi*]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Priyanto, T. 2015. Uji Imunomodulator Polisakarida Hasil Ekstraksi Dari Jinten Hitam (*Nigella Sativa L*) Terhadap Tital Leukosit, Jumlah Limfosit Dan Monosit Serta Interleukin-1 β Pada Mencit Balb/c [*Skripsi*]. Jakarta: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Standard Nasional Indonesia 7387. 2009. Batas Maksimum. Cemar Logam Berat dan Pangan.
- Sembel. 2015. *Toksikologi Lingkungan Dampak Pencemaran dari Berbagai Bahan Kimia dalam Kehidupan Sehari-Hari*. Yogyakarta. Andi.
- Setyani., N. 2012. Jumlah Limfosit pada Mencit yang Diberi Konsumsi Ekstrak Alkohol Daun Mimba (*Azadiracta Indica*, A. Juzz) dan Diindiksi Ovalbumin [*Skripsi*]. Jember. Universitas Jember.
- Sihite, H, M., 2015. Analisis Kandungan Timbal Pada Lipstik Import Dan Dalam Negeri Serta Tingkat Pengetahuan Konsumen Dan Pedagang Terhadap Lipstik Yang Beredar Di Pasar Petisah Kota Medan Tahun 2015. [*Skripsi*] Fakultas Kesehatan Masyarakat USU. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Sudarwin. 2008. Analisis Spacial Pencemaran Logam Berat (Pb dan Cd) Pada Sedimen Aliran Sungai Dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah

Jatibarang Semarang, [Tesis], Program Pasca sarjana Universitas Diponegoro, Semarang.

- Sudarmaji, Mukono. J., Corie I. P. 2006. Toksikologi Logam Berat B3 dan Dampaknya Terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Lingkungan FKM. Universitas Airlangga.2.2*: 129-149.
- Sudiono, J. 2014. *Sistem Kekebalan Tubuh*. Jakarta: EGC.
- Sukandarrumidi, Maulana F. W., Rakhman A.N. 2018. *Geotoksikologi: Usaha Menjaga Keracunan Akibat Bencana Geologi*. Yogyakarta. UGM Press.
- Suparwoko & Firdaus F. 2007. Profil Pencemaran Udara Kawasan Perkotaan Yogyakarta: Studi Kasus Di Kawasan Malioboro, Krisdosono, dan UGM Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan*. 4: 2.
- Tchounwou. P. B., Centeno J. A., Patlolla A. K. 2004. Arsenic Toxicity, Mutagenesis And Carcinogenesis. A Health Risk Assessment and Management Approach. *Mol Cell Biochem*. 2555: 47-55.
- Tong, S., Von-Chimding.Y.E., Prapamotol, T., 2000. Environmental Lead Exposure: a Public Healt Problem of Global Dimensions, *Bull*. 78:1068-1077.
- Widowati, W., Santiono, Jusuf., 2008. *Efek Toksik Logam Pencegahan Dan Penanggulangan Pencemaran*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Wijayanto, SE. 2005. Limbah B3 dan Kesehatan. Diakses dari <http://www.dinkesjatim.go.id/images/detailinfo/200504121503-LIMBAH%20B.pdf> pada juli 2018.
- Yetireh, A., Amir H, H. 2013. The effect of occupational Exposure to Lead on Blood Hemoglobin Concentration in Workers of Klormanshah Oil Refinery. *Irania Journal Of Toxocology*. 6. 19, Winter. 2013.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat Etical Clereance



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)

Health Research Ethics Committee

FAKULTAS KEDOKTERAN

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Faculty of Medicine Universitas Muhammadiyah Surakarta

Komplek kampus 4 UMS Gonilan Kartasura, Telp.(0271)716844, Fax.(0271)724883 Surakarta 57102, email:kepk@ums.ac.id

ETHICAL CLEARANCE LETTER

Surat Kelaiaan Etik

No. 1465/A.1/KEPK-FKUMS/IX/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UMS, setelah menelaah rancangan penelitian yang diusulkan menyatakan bahwa:

Health Research Ethics Committee Faculty of medicine of Universitas Muhammadiyah Surakarta, after reviewing the research design, state that:

Penelitian dengan judul:

The research proposal with topic:

pengaruh pemberian timbal dan arsen terhadap jumlah limfosit darah, kadar hemoglobin dan histopatologi usus mencit balb/c

Peneliti:

The researcher:

Nama/ Name : ANIS CAHWANI SELF

Alamat/ Address : kuala mahato rt/004 rw/002 kec. tambusai utara kab. rokan hulu

Institusi/ Institution : ilmu kesehatan universitas setia budi

Telah memenuhi deklarasi Helsinki 1975 dan Pedoman nasional etik penelitian kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004

Has met the declaration of Helsinki 1975 and national health research ethics Department of Health of the Republic of Indonesia in 2004

**dan dinyatakan lolos etik
and ethically approve**

Surakarta,
Ketua/Chairman,
Prof. Dr. dr. EM. Sutrisna, M,Kes.



Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Sonde



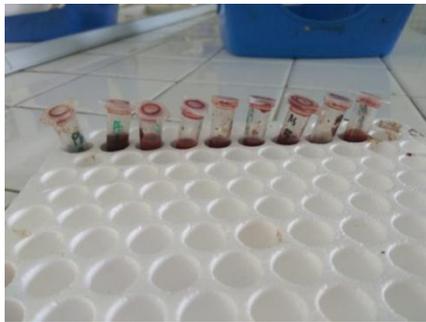
Gambar 6. Tissue Prosesor



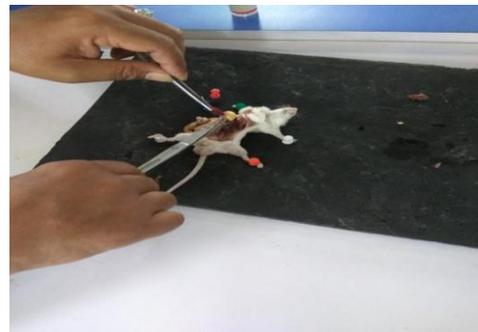
Gambar 2. Pengambilan Sampel Darah



Gambar 7. Cassete



Gambar 3. Sampel Darah



Gambar 8. Pembedahan Mencit



Gambar 4. Alat hematologi analyzer



Gambar 9. Timbangan



Gambar 10. Mikrotom



Gambar 12. Larutan Pewarnaan HE



Gambar 11. Tahap Dehidrasi
Dengan Alkohol Bertingkat



Gambar 12. Waterbath

Lampiran 3. Data Mentah Kadar Hemoglobin & Jumlah Limfosit

Kelompok	Minggu ke	Hewan uji	Kadar HB pada mencit	Kadar limfosit dalam darah
Kontrol	2	1	15.5	2.10
Kontrol	2	2	14.8	3.00
Kontrol	2	3	14.9	4.00
Kontrol	4	4	13.6	2.80
Kontrol	4	5	14.5	3.60
Kontrol	4	6	13.4	3.50
Timbal	2	7	13.0	1.90
Timbal	2	8	13.5	1.10
Timbal	2	9	14.2	3.5
Timbal	4	10	8.3	4.10
Timbal	4	11	11.0	1.10
Timbal	4	12	13.0	3.50
Arsen	2	13	15.4	7.2
Arsen	2	14	15.0	7.4
Arsen	2	15	15.1	5.2
Arsen	4	16	14.2	3.4
Arsen	4	17	13.8	5.4
Arsen	4	18	13.5	4.2

Lampiran 4. Analisis Data

Tests of Normality				
	Kode	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar Hb darah	kontorl negatif minggu 2	.997	3	.893
	control negatif minggu 4	.912	3	.424
	kadar Hb Pb minggu 2	.991	3	.817
	kadar Hb Pb minggu 4	.993	3	.836
	kadar Hb As minggu 2	.923	3	.463
	kadar Hb As minggu 4	.993	3	.843

a. Lilliefors Significance Correction

Homogenitas kadar Hb darah			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.762	5	12	.069

Group Statistics					
	kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	kontorl negatif minggu 2	3	14.633	4.1065	2.3709
	control negatif minggu 4	3	12.900	2.0421	1.1790

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	.896	.397	.655	4	.548	1.7333	2.6479	-5.6183	9.0849	
	Equal variances not assumed			.655	2.932	.560	1.7333	2.6479	-6.8047	10.2714	

	Kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	kontorl negatif minggu 2	3	14.633	4.1065	2.3709
	kadar Hb Pb minggu 2	3	13.567	.6028	.3480

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	3.448	.137	.445	4	.679	1.0667	2.3963	-5.5865	7.7198	
	Equal variances not assumed			.445	2.086	.698	1.0667	2.3963	-8.8463	10.9797	

Group Statistics					
	kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	kontorl negatif minggu 2	3	14.633	4.1065	2.3709
	kadar Hb As minggu 2	3	15.167	.2082	.1202

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	4.333	.106	-.225	4	.833	-.5333	2.3739	-7.1244	6.0578	
	Equal variances not assumed			-.225	2.010	.843	-.5333	2.3739	-10.6977	9.6310	

Group Statistics					
	Kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	control negatif minggu 4	3	12.900	2.0421	1.1790
	kadar Hb Pb minggu 4	3	10.767	2.3587	1.3618

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	.017	.902	1.184	4	.302	2.1333	1.8012	-2.8677	7.1344	
	Equal variances not assumed			1.184	3.920	.303	2.1333	1.8012	-2.9084	7.1750	

Group Statistics					
	kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	control negatif minggu 4	3	12.900	2.0421	1.1790
	kadar Hb As minggu 4	3	13.833	.3512	.2028

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	7.361	.053	-.780	4	.479	-.9333	1.1963	-4.2548	2.3881	
	Equal variances not assumed			-.780	2.118	.513	-.9333	1.1963	-5.8149	3.9482	

Group Statistics					
	Kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	kadar Hb Pb minggu 2	3	13.567	.6028	.3480
	kadar Hb Pb minggu 4	3	10.767	2.3587	1.3618

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	4.392	.104	-3.219	4	.032	-4.4000	1.3671	-8.1956	-.6044	
	Equal variances not assumed			-3.219	2.031	.083	-4.4000	1.3671	-10.1964	1.3964	

Group Statistics					
	Kode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar Hb darah	kadar Hb As minggu 2	3	15.167	.2082	.1202
	kadar Hb As minggu 4	3	13.833	.3512	.2028

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	
kadar Hb darah	Equal variances assumed	.582	.488	5.657	4	.005	1.3333	.2357	.6789	1.9877	
	Equal variances not assumed			5.657	3.251	.009	1.3333	.2357	.6149	2.0517	

Tests of Normality				
	KODE	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 2	.999	3	.942
	Kontrol Negatif Minggu 4	.842	3	.220
	Pb Minggu 2	.842	3	.220
	Pb minggu 4	.855	3	.253
	As minggu 2	.842	3	.220
	As minggu 4	.992	3	.826

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances			
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.701	5	12	.029

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 2	3	3.0333	.95044	.54874
	Kontrol Negatif Minggu 4	3	3.3000	.43589	.25166

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.956	.384	-.442	4	.682	-.26667	.60369	-1.94279	1.40945
	Equal variances not assumed			-.442	2.806	.690	-.26667	.60369	-2.26540	1.73206

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 2	3	3.0333	.95044	.54874
	Pb Minggu 2	3	1.4000	.43589	.25166

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.956	.384	2.706	4	.054	1.63333	.60369	-.04279	3.30945
	Equal variances not assumed			2.706	2.806	.079	1.63333	.60369	-.36540	3.63206

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 2	3	3.0333	.95044	.54874
	As minggu 2	3	2.9000	.87178	.50332

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.004	.953	.179	4	.867	.13333	.74461	-1.93404	2.20070	
	Equal variances not assumed			.179	3.971	.867	.13333	.74461	-1.94010	2.20677	

Group Statistics						
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 4	3	3.3000	.43589	.25166	
	Pb minggu 4	3	4.3667	.37859	.21858	

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.143	.725	-3.200	4	.033	-1.06667	.33333	-1.99215	-.14118	
	Equal variances not assumed			-3.200	3.923	.034	-1.06667	.33333	-1.99935	-.13399	

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Kontrol Negatif Minggu 4	3	3.3000	.43589	.25166
	As minggu 4	3	4.3000	.95394	.55076

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	1.250	.326	-1.651	4	.174	-1.00000	.60553	-2.68122	.68122	
	Equal variances not assumed			-1.651	2.800	.204	-1.00000	.60553	-3.00720	1.00720	

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT DALAM DARAH	Pb Minggu 2	3	1.4000	.43589	.25166
	Pb minggu 4	3	4.3667	.37859	.21858

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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.143	.725	-8.900	4	.001	-2.96667	.33333	-3.89215	-2.04118	
	Equal variances not assumed			-8.900	3.923	.001	-2.96667	.33333	-3.89935	-2.03399	

Group Statistics					
	KODE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
JUMLAH LIMFOSIT	As minggu 2	3	2.9000	.87178	.50332

DALAM DARAH		As minggu 4	3	4.3000	.95394	.55076				
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 LIMFOSIT DALAM DARAH	Equal variances assumed	.000	1.000	-1.876	4	.134	-1.40000	.74610	-3.47151	.67151
	Equal variances not assumed			-1.876	3.968	.134	-1.40000	.74610	-3.47812	.67812

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : ANIS CAHWANI SELFI

Tempat/Tanggal Lahir : Kuala Mahato, 20 April 1995

Jenis Kelamin : Perempuan

Anak Ke : 2 dari 4 Saudara

Agama : Islam

Nama Ayah : NURCHALIS

Nama Ibu : WARNI

Alamat : Kuala Mahato

Pendidikan : 1. TK Arwana Indah Kuala Mahato
2. SDN 002 Kuala Mahato
3. SMP Negeri 003 Kuala Mahato
4. SMK Analis Kesehatan Abdurrab Pekanbaru
5. D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi
Surakarta

Demikianlah daftar riwayat hidup ini saya buat dengan sebenarnya dan dengan rasa penuh tanggung jawab.

Surakarta, September 2018

Anis Cahwani Selfi