

PENGARUH PEMBERIAN SENYAWA Arsen (As) dan Timbal (Pb) TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA dan GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG PADA MENCIT BALB/C

TUGAS AKHIR



Oleh :
Lidya Montoh
07140277N

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

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas akhir :

**PENGARUH PEMBERIAN SENYAWA TIMBAL (Pb) dan ARSEN (As)
TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA dan GAMBARAN
HISTOPATOLOGI LAMBUNG PADA MENCIT BALB/C**

Oleh :

Lidya Montoh

07140277N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 2 Agustus 2018

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I : Niniek Yusida, dr., SpPK, M.Sc.		25-1-19
Penguji II : Dra. Dewi Sulistyawati, M.Sc.		7-2-19
Penguji III : Ifandari, S.Si., M.Si.		7-2-19
Penguji IV : Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M. Sc. Ph.D.		7-2-19

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Setia Budi



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

NIDN : 00290948

Ketua Pogram Study

D-IV Analis Kesehatan

Tri Mulyowati, SKM, M.Sc.

NIS : 0120111216215

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang.

(amsal 23:18)

*Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu;
Aku akan meneguhkannya, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan
tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan.*

(yesaya 41:10)

Persembahkan syukurku untuk:

Tuhan Yesus Kristus

Papa, mama & reiky yang selalu memberikan semangat dan motivasi

Seluruh keluarga besar dan sahabat-sahabat

Teman-teman seperjuangan

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tugas akhir ini yang berjudul **PENGARUH PEMBERIAN SENYAWA TIMBAL (Pb) dan ARSEN (As) TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA dan GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG PADA MENCIT BALB/C** adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesajaraan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendaat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 2 Agustus 2018



Lidya Montoh

NIM. 07140277N

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah Bapa di Sorga, karena atas kasih karunia dan anugrah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN SENYAWA TIMBAL (Pb) dan ARSEN (As) TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA dan GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG PADA MENCIT BALB/C”**. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Sains Terapan pada Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusun tugas akhir ini tidak dapat lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari banyak pihak. Dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak yang terlibat langsung maupun tidak, khususnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang luar biasa, atas kelimpahan berkat, perlindungan, serta pertolongan-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M. Sc. Ph.D, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M. Sc. Ph.D, selaku Dosen pembimbing utama dan Ifandari, Si., M.Si, selaku Dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu, dan motivasi selama selama penelitian dan penulisan tugas akhir ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu dami kelancaran dan selesainya tugas akhir ini.
7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta dan Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.

8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjukkan dan membantu kelancaran dan selesainya tugas akhir ini.
9. Papa, mama, ka reiky serta seluruh keluarga besarku, yang selalu memberikan doa, cinta kasih, dukungan, dan semangat.
10. Keluarga besar PMK Katharos dan MUDA 2014 yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan semangat. Keep Spirit Of Excellent.
11. Teman timku dalam penelitian, anis cahwani selfi untuk bantuan, motivasi dan kerjasamanya.
12. Teman-teman kosku (kos Nagaya) yang sudah memberikan dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan tugas akhir.
13. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam tugas akhir ini. Kritik dan Saran yang membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 2 Agustus 2018

Lidya Montoh

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan masalah.....	3
C. Tujuan penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Logam berat.....	5
2. Arsen	6
3. Timbal	10
4. Sistem Imun.....	16
5. Hewan uji	23
a. Klasifikasi Mencit Balb/c.....	23
b. Biologi mencit.....	23
c. Reproduksi Mencit.....	24

d. Karakter Utama.....	24
B. Landasan Teori.....	25
C. Hipotesis.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
A. Waktu dan Tempat Penelitian	30
B. Rancangan Penelitian	30
C. Populasi dan Sampel	32
1. Populasi	32
2. Sampel	32
D. Variabel Penelitian	32
1. Variabel Bebas (<i>independent</i>)	32
2. Variabel terikat (<i>dependent</i>)	32
E. Definisi Operational Variabel	33
F. Alat dan Bahan.....	33
1. Alat	33
2. Bahan.....	33
G. Prosedur Penelitian	34
1. Penyiapan hewan uji.....	34
2. Penentuan dosis dan pembuatan larutan.....	34
3. Pembuatan larutan pewarnaan tripan.....	35
4. Perlakuan pada hewan uji	35
5. Hitung jumlah limfosit	37
6. Uji histopatologi	38
H. Teknik Pengumpulan Data	39
I. Teknik Analisis Data.....	39
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
A. Hasil	40
1. Jumlah limfosit pada organ limfa	40
2. Hasil uji histopatologi	43
B. Pembahasan	44
1. Jumlah limfosit dalam organ limfa	44

2. Uji histopatologi	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
DAFTAR LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. kerangka pikir	28
Gambar 2. Alur penelitian	31
Gambar 3. Pengamatan Mikroskopis Limfosit.....	41
Gambar 4a. Gambar mikroskopik lambung minggu ke-2.....	43
Gambar 4b. Gambar mikroskopik lambung minggu ke-4.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rerata hitung jumlah limfosit pada minggu ke-2 dan ke-4	40
Tabel 2. Tabel nilai signifikansi Hasil uji Independent sample t test.....	42
Tabel 3. Berat badan mencit (gram)	64
Tabel 4. Berat badan dan jumlah volume perlakuan	65
Tabel 5. Data mentah jumlah limfosit	65
Tabel 6. Rerata dan standar deviasi dari penelitian ini.....	66
Tabel 7. Normalitas dan homogenitas hasil dari minggu ke-2 dan ke-4.....	67
Tabel 8. Tabel <i>uji independent t test</i>	68

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i>	55
Lampiran 2. Perhitungan dosis dan jumlah pemberian	56
Lampiran 3. Gambar alat dan bahan	58
Lampiran 4. Gambar praktek hitung jumlah limfosit.....	59
Lampiran 5. Gambar Praktek uji histopatologi lambung	61
Lampiran 6. Hasil penimbangan BB hewan uji mencit dan volume pemberian...	64
Lampiran 7. Hasil analisis statistik jumlah hitung limfosit.....	67
Lampiran 8. Foto hasil Uji histopatologi lambung	76
Lampiran 9. Foto ukuran limpa.....	78

DAFTAR SINGKATAN

- PBS : *Phosphate Buffered Saline*
- CRP : *C-Reactive Protein*
- NK : *Natural Killer Cell*
- IN : *Improved Neubauer*
- HE : *Hematoxylin Eosine*
- NH₄Cl: *Tris Buffered Ammonium Chloride*
- UPHP : Unit pemeliharaan hewan percobaan
- g : Gram
- mg : Miligram
- ml : Mililiter
- kg : Kilogram
- L : Liter
- BB : Berat badan

INTISARI

Lidya M. 2018. PENGARUH PEMBERIAN SENYAWA ARSEN (As) dan TIMBAL (Pb) TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA dan GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG PADA MENCIT BALB/C. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Arsen dan timbal merupakan logam berat yang bersifat racun dan sangat berbahaya bagi kesehatan. Arsen dan timbal dapat masuk kedalam tubuh melalui sistem pernafasan dan pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian arsen dan timbal terhadap hitung jumlah limfosit pada limpa mencit Balb/c dan gambaran histopatologi organ lambung.

Metode penelitian ini termasuk eskperimental laboratorik dengan menggunakan 18 ekor mencit Balb/c yang dibagi dalam 3 kelompok perlakuan yaitu, kontrol negatif, perlakuan arsen, dan perlakuan timbal. Pemeriksaan limfosit dilakukan dengan isolasi limfosit limpa dengan perhitungan cara manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*, dan untuk gambaran histopatologi lambung diperoleh dari pengamatan preparat dengan menggunakan pengecatan *Hematoxylin Eosin*. Data berupa hitung jumlah limfosit limpa diolah menggunakan uji t test (*Independent test*).

Hasil uji t test (*Independent test*) untuk kelompok kontrol negatif minggu ke-2 dan perlakuan arsen minggu ke-2 ($P=0,014$), kelompok kontrol negatif minggu ke-2 dan perlakuan timbal minggu ke-2 ($P=0,033$) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P<0,05$), dan untuk kelompok kontrol negatif minggu ke-4 dan perlakuan arsen minggu ke-4 ($P=0,113$), kelompok kontrol negatif minggu ke-4 dan perlakuan timbal minggu ke-4 ($P=0,077$) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P>0,05$). Gambaran histopatologi lambung minggu ke-2 dan ke-4 menunjukkan tidak adanya kerusakan pada mukosa lambung setelah pemberian arsen dan timbal.

Kata kunci : Arsen, timbal, mencit Balb/c, limfosit, lambung.

ABSTRAK

Lidya M. 2018. THE EFFECT OF COMPOUNDING ARSENIC (As) and LEAD (Pb) COUNT ON SPLEEN LYMPHOCYTE and GASTRIC HISTOPATHOLOGY of MICE BALB/C. D-IV Program Analyst Study of Health, University of Setia Budi.

Arsenic and lead is a heavy metal that is toxic and very dangerous for health. Arsenic and lead can enter the body through the respiratory and digestive systems. This study aims to determine the effect of arsenic and lead on the number of lymphocytes in the spleen of mice Balb/c and an overview of gastric organ histopathology.

This research method includes laboratory experimental using 18 mice Balb/c were divided into 3 treatment groups, namely, the negative control, treatment of arsenic and lead treatment. Lymphocyte examination performed with spleen lymphocyte isolation with the calculations manually using the *Improved Neubauer* counting room, and for an overview of gastric histopathological preparations obtained from observations using *Hematoxylin eosin* staining. Data such as counting the number of spleen lymphocytes processed using t test (*Independent test*).

The results of t test (*Independent test*) for the negative control group 2nd week and the treatment of arsenic week 2 ($P = 0.014$), the negative control group 2nd week and the treatment of lead week 2 ($P = 0.033$) showed a difference significant ($P < 0.05$), and for the negative control group week 4 and treatment of arsenic week 4 ($P = 0.113$), the negative control group week 4 and treatment week 4 lead ($P = 0.077$) showed no significant difference ($P > 0.05$). Histopathologic features of gastric week 2 and 4 showed no damage to the gastric mucosa after given arsenic and lead.

Keywords: Arsenic, lead, Balb/c mice, lymphocytes, stomach.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Perkembangan dan kemajuan di bidang transportasi dan industri rumah tangga meningkat akibat kebutuhan yang harus dipenuhi, hal ini berdampak pada meningkatnya polusi udara dan kebutuhan rumah tangga yang tanpa disadari mengandung logam berbahaya, salah satu logam berbahaya yang dapat ditemui yaitu arsen dan timbal. Arsen sudah dikenal masyarakat sejak lama dan merupakan salah satu unsur paling beracun. Arsen sendiri banyak digunakan sebagai racun pembunuh, digunakan dalam industri logam, pabrik gelas, produksi bahan warna (pigmen) dan industri yang memproduksi bahan kimia arsen.

Menurut Badan Standardisasi Nasional (2009), batas maksimum arsen dalam pangan seperti daging dan hasil olahannya 0,05 mg/kg, acar sayuran dan buah 1,0 mg/kg, telur dan produk-produk telur 0,5 mg/kg, es lilin 0,5 mg/kg, dan masih banyak lagi. Arsen 100-300 mg dapat berakibat fatal bila masuk kedalam tubuh, sehingga batas toksisitas arsen pada manusia adalah 0,05 mg/kg, dimana dosis ini dihubungkan dengan kejadian distress saluran cerna pada individu. Arsen dapat dijumpai dalam tanah, udara dan air.

Batas maksimal timbal dapat ditemukan dalam pangan yang ditetapkan Badan Standardisasi Nasional (2010), seperti daging dan hasil olahannya 1,0 mg/kg, buah dan sayur serta hasil olahannya 0,5 mg/kg, ikan dan hasil olahannya 0,03 mg/kg, garam 10,0 mg/kg, madu 2,0 mg/kg. Timbal yang masuk melalui

saluran pernafasan dan pencernaan dapat berdampak buruk bagi kesehatan, dan untuk kadar timbal dalam plasma darah diatas 0,10 mg/L sudah dianggap toksik dan memiliki efek merusak pada tubuh manusia. Timbal sendiri bisa terkandung dalam air, tanah dan udara.

Arsen dan timbal tergolong ke dalam logam berat. Logam berat dikenal sebagai elemen yang mempunyai daya racun yang sangat potensial dan memiliki kemampuan terakumulasi didalam tubuh manusia, dan bahkan tidak sedikit yang menyebabkan kematian. Logam berat juga bisa ditemukan dalam bidang industri dan dapat mencemarkan lingkungan jika industri yang menggunakan logam tersebut tidak memperhatikan keselamatan lingkungan, terutama saat membuang limbahnya. Arsen dan timbal dapat mengakibatkan beberapa dampak negatif bagi kesehatan manusia. Dampak negatif yang disebabkan akibat keracunan timbal, yaitu anemia dan kelumpuhan. Dalam kasus berat timbal dapat menyebabkan kematian, terutama pada anak-anak (Anonim, 1988; Goodman & Gilman, 1970). Arsen yang masuk ke dalam tubuh dan terakumulasi dalam waktu yang lama dapat menyebabkan: iritasi usus dan lambung dimana terjadi pengelupasan sel epitel permukaan sehingga menyebabkan eksfoliasi sel epitel permukaan dan mengurangi sekresi mukus yang merupakan barier protektif terhadap serangan asam, hal ini terkait dengan dirangsangnya sistem saraf otonom yaitu parasimpatis yang akan menyebabkan meningkatnya sekresi asam lambung, penurunan produktivitas sel darah putih dan darah merah, perubahan kulit dan iritasi paru, arsen juga memberikan kesempatan kanker berkembang lebih cepat (Agustina, 2014). Toksisitas logam dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu lamanya

konsumsi, kadar logam yang termakan, umur, jenis kelamin, spesies, kondisi fisik, kebiasaan makan-makanan tertentu, dan kemampuan tubuh untuk mengakumulasi logam (Darmono, 1995). Efek toksik dalam logam berat dapat mengakibatkan gangguan kesehatan yang berupa sakit pada tubuh individu yang terpapar logam terlalu lama.

Berdasarkan pernyataan di atas maka peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian senyawa arsen dan timbal terhadap hitung jumlah limfosit pada limpa dan gambaran histopatologi lambung khususnya pada epitelium dan villi mencit Balb/c.

B. Rumusan masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ada pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap jumlah limfosit pada limpa?
2. Apakah ada pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap gambaran histopatologi lambung?

C. Tujuan penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap jumlah limfosit pada limpa.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap gambaran histopatologi lambung.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat, baik secara teoritis maupun praktis.

1. Manfaat secara teoritis diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek arsen dan timbal terhadap hitung jumlah limfosit dan gambaran histopatologi lambung.
2. Manfaat secara praktis diharapkan dapat memberikan informasi kepada bahaya arsen dan timbal bagi kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Logam berat

Logam digolongkan ke dalam dua katagori, yaitu logam berat dan logam ringan. Logam berat ialah logam yang mempunyai berat 5 gram atau lebih untuk setiap cm^3 , sedangkan logam ringan ialah logam yang beratnya kurang dari 5 gram setiap cm^3 (Darmono, 1995). Logam berat dikenal sebagai elemen yang mempunyai daya racun yang sangat potensial dan memiliki kemampuan terakumulasi di dalam tubuh manusia. Bahkan tidak sedikit yang menyebabkan kematian. Logam berat juga bisa ditemukan dalam bidang industri dan dapat mencemarkan lingkungan jika industri yang menggunakan logam tersebut tidak memperhatikan keselamatan lingkungan, terutama saat membuang limbahnya. Dampak yang ditimbulkan, logam berat akan terakumulasi pada jaringan tubuh dan menimbulkan keracunan pada manusia, hewan dan tumbuhan apabila melebihi batas toleransi (Gayatri & Riza VT, 1994). Masuknya logam berat dalam tubuh dapat melalui mulut, yaitu wadah (minuman/makanan kaleng), makanan yang terkontaminasi alat masak dan juga melalui pernafasan seperti buangan limbah, asam dari pabrik dan proses industri.

Toksisitas logam ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu lamanya konsumsi, kadar logam yang termakan, umur, jenis kelamin, spesies, kondisi fisik, kebiasaan makan-makanan tertentu, dan kemampuan tubuh untuk mengakumulasi

logam (Darmono, 1995). Beberapa logam yang berbahaya dan dapat bersifat toksik, yaitu timbal (Pb), merkuri (Hg), arsen (As), kadmium (Cd) (Agustina, 2014). Penyebab utama logam berat menjadi bahan pencemar berbahaya adalah karena sifatnya yang tidak dapat dihancurkan (*non degradable*) oleh organisme hidup yang ada di lingkungan. Akibatnya, logam-logam tersebut terakumulasi ke lingkungan, terutama mengendap di dasar perairan membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik secara absorpsi dan kombinasi.

2. Arsen

Arsen atau sering disebut arsenik adalah zat kimia yang ditemukan sekitar abad-13 dan dikenal dengan simbol (As), memiliki nomor atom 33, bobot atom 74,92, bobot jenis $5,72 \text{ g/cm}^3$, titik leleh $817 \text{ }^\circ\text{C}$ (subl), titik didih $613 \text{ }^\circ\text{C}$ (subl), tekanan uap 0 Pa, dengan unturnya yang terdapat di berbagai tempat dan terbentuk di dalam tanah secara alami pada lapisan kerak bumi. Arsen sendiri sangat jarang ditemukan di alam dalam bentuk elemen murni, namun arsen organik sebagai arsenobetain banyak terdapat pada tumbuhan, mikrobiota, dan sistem biologi lain. Arsen sangat beracun bila dijumpai dalam tanah, udara dan air (Agustina, 2014).

Arsen dalam air dan tanah terbagi ke dalam dua bentuk, yaitu bentuk tereduksi dan bentuk teroksidasi. Bentuk tereduksi terbentuk dalam kondisi anaerob dan sering disebut dengan arsenit. Bentuk lainnya yaitu bentuk teroksidasi yang terjadi pada kondisi aerobik dan pada umumnya disebut sebagai arsenat. Bukan hanya itu saja, arsen juga terdiri dari arsen organik dan arsen anorganik. Arsen organik bersifat kurang toksik sedangkan arsen anorganik

bersifat toksik (Ratnaike, 2003). Hal ini disebabkan karena arsen organik yang masuk ke dalam tubuh tidak mudah diserap masuk ke dalam sel dan mengalami metabolisme yang terbatas. Jutaan manusia di dunia bisa terpapar arsen anorganik akibat konsumsi dari air minum dan makanan yang terkontaminasi arsen bahkan bisa juga melalui pigmen pewarna yang digunakan dalam industri kosmetik seperti *eyeshadow* yang seringkali mengandung unsur beracun termasuk arsen (Sainio *et al.*, 2000).

a. Sumber Arsen

Manusia dapat terpapar arsen dari sumber antropogenik maupun alami. Keberadaan arsen di alam (meliputi keberadaan di batuan (tanah) dan sedimen, udara, air, dan biota), produksi arsen di dalam industri, penggunaan dan sumber pencemaran arsen di lingkungan. Bentuk tereduksi dari arsen (*arsenate maupun arsenite*) sering dijumpai dalam produk-produk industri, limbah pertanian dan di permukaan air (Mashkooor *et al.*, 2013). Sumber lain pencemaran arsen termasuk menghirup udara dalam ruangan yang mengandung polutan dari pembakaran batu bara dan asap rokok serta proses pembakaran batubara (Kapaj *et al.*, 2006). Sumber paparan terbesar dari arsen dan logam berat lain umumnya berasal dari makanan seperti *seafood*, beras, jamur dan produk dari unggas (Smedley & Kinniburgh 2002, Jones 2007, Petroczi & Naughton 2009, Nepusz *et al.*, 2009).

b. Absorpsi dan Distribusi Arsen

Absorpsi senyawa arsen tergantung dari bentuk kimianya. Arsen yang bentuknya sukar larut seperti *arsenic sulphide* dan *lead arsenate* memiliki kecepatan absorpsi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan bentuk arsen yang mudah larut, baik melalui inhalasi maupun rute oral. Lokasi absorpsi arsen terjadi di dalam saluran pencernaan, khususnya usus halus melalui proses elektrogenik yang melibatkan gradient proton (H⁺). Setelah proses absorpsi, tubuh akan mendistribusi arsen dalam eritrosit dan plasma. Distribusi dalam eritrosit dan plasma darah tergantung pada valensi dan dosis pemberian arsen serta spesies hewan. Sebagian besar spesies hewan setelah paparan arsen menunjukkan konsentrasi terbesar ditemukan di dalam ginjal, limpa, organ hati dan paru. Beberapa minggu kemudian arsen akan terakumulasi di dalam jaringan ektodermal seperti kuku dan rambut akibat akumulasi arsen dengan konsentrasi tinggi akan terikat oleh protein yang mengandung sulfur dalam jaringan tersebut (Eisler, 2004).

c. Dampak Arsen bagi kesehatan

Arsen dikenal dapat menyebabkan kanker. Orang yang terlalu banyak terkena zat arsen atau terlalu banyak mengkonsumsinya dari air minum disebut sebagai arsenikosis. Dampak yang ditimbulkan arsen diantaranya gangren dan keratosis. Arsen sendiri diketahui mampu menembus plasenta dan uterus, serta bagian otak dengan melewati *blood*

brain barrier sehingga mempengaruhi kerja sistem saraf pusat. Arsen juga dapat merusak ginjal dan bersifat racun yang sangat kuat (Ali, 2012).

Akibat merugikan dari arsen bagi kesehatan manusia adalah apabila terkandung >100 ppb dalam air minum, dengan gejala keracunan kronis berupa kerusakan syaraf dan sel, iritasi usus, kelainan kulit atau melanoma serta kanker usus. Ini terjadi di negara-negara yang memproduksi emas dan logam dasar di antaranya Zimbabwe, India, Thailand, Afrika selatan, Filipina, Cina, dan Meksiko (Herman, 2006).

Seseorang yang menelan 100-300 mg arsen dapat berakibat fatal. Batas toksisitas arsen pada manusia adalah 0,05 mg/kg, dimana dosis ini dihubungkan dengan kejadian distress saluran cerna pada individu. Toksisitas arsen LD₅₀ pada mencit secara oral dapat menyebabkan kondisi akut pada dosis 145 mg/kg (BPOM, 2010). Menurut Badan Standardisasi Nasional (2009), batas maksimum arsen dalam pangan, yaitu: daging dan hasil olahannya 0,05 mg/kg, acar sayuran dan buah 1,0 mg/kg, telur dan produk-produk telur 0,5 mg/kg, es lilin 0,5 mg/kg, dan masih banyak lagi.

Kandungan logam berat arsen dapat menyebabkan resiko bagi kesehatan. Risiko kesehatan yang mungkin bisa terjadi apabila telah terkontaminasi kandungan logam berat arsen dan terakumulasi dalam tubuh dalam waktu yang lama antara lain iritasi usus dan lambung dimana terjadi pengelupasan sel epitel permukaan sehingga menyebabkan eksfoliasi sel epitel permukaan dan mengurangi sekresi mukus yang merupakan barier protektif terhadap serangan asam, hal ini terkait dengan

dirangsangnya sistem saraf otonom yaitu parasimpatis yang akan menyebabkan meningkatnya sekresi asam lambung, penurunan produktivitas sel darah putih dan darah merah, perubahan kulit dan iritasi paru, arsen juga memberikan kesempatan kanker berkembang lebih cepat (Agustina, 2014).

Paparan arsen melalui air minum telah dilaporkan menyebabkan kanker pada kulit dan beberapa organ dalam serta terjadinya hiperkeratosis, perubahan pigmentasi, efek pada sistem sirkulasi dan sistem syaraf (Flora *et al.*, 2007).

Pigmen pewarna dalam industri kosmetik yang digunakan sebagai *eye shadow* seringkali mengandung unsur beracun termasuk arsen (Sainio *et al.*, 2000). Kelopak mata memiliki sifat kulit yang sangat halus dan pemakaian *eye shadow* dapat menimbulkan eczema. Selain itu, partikel arsen dapat larut dalam air dan mengalami penyerapan secara perkutan melalui kulit yang basah. Ketika arsen masuk, sistem peredaran darah akan terserap kulit dan pada konsentrasi arsen yang tinggi dapat berpotensi memicu terjadinya karsinogenesis (Jomova *et al.*, 2011).

3. Timbal

Timbal atau timah hitam dengan nama kimia plumbum (Pb) merupakan kelompok logam berat golongan IVA dalam sistem periodik unsur kimia, memiliki nomor atom 82, berat atom 207,2, bertitik lebur 327,4 °C, mempunyai berat jenis sebesar 11,4/1 dan berbentuk padat pada suhu kamar. Pada suhu 550-600 °C, timbal menguap dan membentuk oksigen dalam udara membentuk timbal

oksida. Walaupun bersifat lunak dan lentur, timbal sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, sulit larut dalam air panas, air dingin, dan air asam, timah hitam dapat larut dalam asam nitrit, asam sulfat pekat dan asam asetat (Palar, 1994).

Logam timbal yang mencemari udara terdapat dalam dua bentuk, yaitu dalam bentuk partikel dan gas. Gas timbal terutama berasal dari pembakaran bahan aditif bensin dari kendaraan bermotor yang terdiri dari tetrametil Pb dan tetraetil Pb. Partikel-partikel timbal di udara juga berasal dari sumber lain seperti pabrik Pb oksida, alkil Pb, pembakaran arang dan sebagainya. Polusi terbesar timbal berasal dari pembakaran bensin untuk kendaraan mesin yang kurang sempurna dimana menghasilkan berbagai komponen timbal terutama $PbBrCl \cdot 2PbO$ dan $PbBrCl$ (Fardiaz, 1992). Unsur ini mengalami peningkatan ketika melibatkan atmosfer dan kemudian mencemari tanah serta tanaman. Logam timbal yang mencemari udara bisa dalam bentuk gas dan partikel. Emisi dari gas buangan timbal tetap akan menimbulkan pencemaran udara dimanapun kendaraan itu berada. Tahapan pencemarannya sebagai berikut: sebanyak 5% akan mencemari lokasi dalam radius 20 km, 10% mencemari lokasi dalam radius kurang dari 100 m, dan 35% lainnya terbawa atmosfer dalam jarak yang cukup jauh (Surani, 2002). Logam timbal di alam tidak dapat dihancurkan dan disebut juga sebagai *non essential trace element* dimana memiliki kadar yang tinggi, hal ini membuat timbal sangat berbahaya jika terakumulasi pada tubuh dalam jumlah yang banyak. Masuknya timbal ke dalam tubuh melalui udara, air, dan makanan hanyalah menimbulkan kerugian saja (Nissan, 2008).

Daerah urban merupakan daerah yang padat akan penduduknya dan sebagian besar anak-anak di daerah itu lebih banyak menyerap timbal daripada orang dewasa terutama pada mereka yang kekurangan gizi dan mempunyai perilaku mengkonsumsi makanan tidak bersih atau berdebu yang dapat mengandung beberapa ribu ppm (1.000 – 3.000 µg Pb/kg). Di London Barat, banyak anak-anak teridentifikasi menderita keracunan akut oleh timbal (O'Neill, 1994).

a. Sumber Timbal

Timah hitam atau plumbum (Pb) dapat ditemukan di sekeliling masyarakat sebagai salah satu bagian alat atau bahan yang digunakan sehari-hari. Timbal dalam dunia industri biasanya digunakan sebagai bahan pembuatan pipa air karena memiliki sifat tahan terhadap korosi, sedangkan pigmen timbal digunakan dalam pembuatan baterai, cat, dan campuran bahan bakar bensin *tetraethyl* (Jensen *et al.*, 1981). Logam berat ini juga dapat ditemukan dalam bahan baku, misalnya industri aki dan *battery*, industri bahan pewarna dan cat, tinta stensil, penghitam rambut, pensil, *tube* pasta gigi dan asap kendaraan bermotor (Anonim, 1988; Wagner, 1971).

b. Absorpsi Timbal

Timbal mengalami proses absorpsi melalui penghirupan, dimana masuknya udara melalui jalur organ pernafasan. Absorpsi timbal melalui proses pernafasan dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu deposisi, pembersihan mukosiliar dan pembersihan alveolus. Deposisi terjadi di

nasofaring, saluran trakeobronkial dan alveolus. Deposisi tergantung pada ukuran partikel timbal, volume pernafasan dan daya larut. Partikel timbal yang lebih besar banyak dideposit pada saluran pernafasan bagian atas dibanding partikel timbal yang lebih kecil (DeRoos, 1997 dan OSHA, 2005). Pembersihan mukosiliar membawa partikel yang ada di saluran pernafasan bagian atas ke nasofaring kemudian ditelan. Rata-rata 10-30% timbal yang terinhalasi diabsorpsi melalui paru-paru dan sekitar 5-10% dari yang tertelan diabsorpsi melalui saluran cerna (Palar, 1994). Tujuan pembersihan alveolar adalah membawa partikel ke eskalator mukosiliar menembus lapisan jaringan paru kemudian menuju kelenjar limfe dan aliran darah. Sebanyak 30-40% timbal yang diabsorpsi melalui saluran pernafasan akan masuk ke aliran darah. Masuknya timbal ke aliran darah tergantung pada ukuran partikel volume pernafasan, daya larut dan variasi faal antar individu (Palar, 1994).

c. Distribusi dan penyimpanan Timbal

Timbal yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh sebanyak 95%. Timbal dalam aliran darah diikat oleh eritrosit. Plasma darah berfungsi dalam mendistribusikan timbal dalam darah ke beberapa bagian yaitu ke jaringan lunak (sumsum tulang, sistim saraf, ginjal, hati) dan ke jaringan keras, tulang, kuku, rambut, gigi (Palar, 1994). Tulang panjang dan gigi mengandung timbal yang lebih banyak dibandingkan tulang lainnya. Pada gusi dapat terlihat *lead line* yaitu pigmen yang berwarna abu-abu pada perbatasan antara gusi dan gigi (Goldstein &

Kippen, 1994). Pernyataan di atas merupakan ciri khas keracunan timbal. Pada jaringan lunak sebagian timbal disimpan dalam aorta, ginjal, otak, hati dan kulit. Timbal yang ada di jaringan lunak bersifat toksik.

d. Ekskresi Timbal

Ekskresi timbal dapat melalui beberapa cara, salah satu yang terpenting yaitu melalui saluran cerna dan ginjal. Ekskresi timbal melalui feces 15%, melalui urine sebanyak 75-80% dan lainnya melalui kuku, rambut, keringat dan empedu (Palar, 1994). Ekskresi timbal melalui saluran cerna dipengaruhi oleh saluran aktif dan pasif kelenjar saliva, pankreas dan kelenjar lainnya di dinding usus, regenerasi sel epitel dan ekskresi empedu. Sedangkan proses ekskresi timbal melalui ginjal adalah melalui filtrasi glomerulus. Kadar timbal dalam urine merupakan cerminan pajanan baru sehingga pemeriksaan timbal urine dipakai untuk melihat pajanan okupasional (Goldstein & Kippen, 1994).

Ekskresi timbal pada umumnya berjalan sangat lambat. Waktu paruh timbal di dalam darah kurang lebih 25 hari, pada jaringan lunak 40 hari sedangkan pada tulang selama 25 tahun. Ekskresi yang lambat ini menyebabkan timbal mudah terakumulasi dalam tubuh, baik pada pajanan non okupasional maupun okupasional (Nordberg, 1998).

e. Bahaya timbal bagi kesehatan

Timah hitam sangat potensial menyebabkan keracunan, terutama pada anak-anak. Keracunan timah hitam antara lain menyebabkan anemia karena rusaknya eritrosit, kelumpuhan karena rusaknya jaringan syaraf

pusat dan syaraf tepi, serta rusaknya ginjal, sedangkan dalam kasus berat timah hitam dapat menyebabkan kematian, terutama pada anak-anak (Anonim, 1988; Goodman and Gilman, 1970). Timbal dapat mempengaruhi sistem hematologi karena mengganggu sistem heme dan menyebabkan anemia. Timbal yang meningkat dalam darah dapat mengganggu eritropoiesis dengan menghambat sintesis protoporfirin sehingga meningkatkan resiko anemia. Timbal juga dapat mempengaruhi kemampuan hidup eritrosit dan morfologinya. Keracunan timbal dapat juga mengakibatkan hipertensi, gangguan sintesis darah, kerusakan otak dan hiperaktivitas (Herman, 2006).

Dampak negatif bagi kesehatan bila berpaparan dengan timbal, yaitu pada sistem hemotopoetik, sistem kardiovaskuler, pencernaan, ginjal, sistem reproduksi, dan bersifat karsinogenik (Nordberg, 1998). Menurut Winarno (1993), timbal merupakan racun syaraf (*neuro toxin*) yang bersifat kumulatif, destruktif dan kontinu pada sistem haemofilik, kardiovaskuler dan ginjal.

Kadar timbal dalam plasma darah diatas 0,10 mg/L sudah dianggap toksik dan memiliki efek merusak pada tubuh manusia. Negara-negara maju telah menetapkan kadar maksimal timbal di dalam darah pada batas 0,10 mg/L untuk anak-anak dan 0,15 mg/L untuk dewasa (CDC, 2000). Menurut Badan Standardisasi Nasional (2010), batas maksimal timbal dalam makanan, yaitu: daging dan hasil olahannya 1,0 mg/kg, buah dan

sayur serta hasil olahannya 0,5 mg/kg, ikan dan hasil olahannya 0,03 mg/kg, garam 10,0 mg/kg, madu 2,0 mg/kg, dan masih banyak lagi.

4. Sistem Imun

Imunitas adalah perlindungan terhadap penyakit dan lebih spesifik lagi perlindungan terhadap infeksi. Sel yang bertanggung jawab atas imunitas disebut sistem imun dan respon komponennya secara bersama dan terkoordinasi disebut respon imun (Kresno, 2001). Sel imun didaraskan di tubuh pada darah, epitel, limpa, dan jaringan pengikat. Sel yang ikut dalam respon imun adalah limfosit, sel mast, sel plasma, neutrofil, eosinofil, dan sel yang berperan pada fagositosis (Luiz dan Jose, 2005).

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis patogen, misalnya virus, bakteri, protozoa, fungus, dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi pada orang normal umumnya sangat singkat dan jarang meninggalkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh manusia mempunyai suatu sistem imun yang berperan dalam memberikan respon dan melindungi tubuh dari unsur-unsur patogen tersebut. Respon imun sangat bergantung pada kemampuan sistem imun dalam mengenali molekul asing atau antigen, yang terdapat pada patogen potensial dan kemudian membangkitkan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen bersangkutan. Proses pengenalan antigen dilakukan oleh unsur utama sistem imun yaitu limfosit, yang kemudian diikuti oleh fase efektor yang melibatkan berbagai macam jenis sel. Pengenalan antigen sangat penting dalam fungsi sistem imun normal karena limfosit harus mengenal semua antigen pada patogen potensial dan pada saat

bersamaan harus mengabaikan molekul-molekul jaringan tubuhnya sendiri atau toleransi. Untuk mengatasi hal tersebut, limfosit pada seorang individu melakukan diversifikasi selama perkembangannya sedemikian rupa sehingga populasi limfosit secara keseluruhan mampu mengenal molekul asing dan membedakannya dari molekul sel tubuh sendiri atau jaringan. Kemampuan diversifikasi yang dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun terdapat dalam jaringan limforetikular yang letaknya tersebar diseluruh tubuh, misalnya di dalam darah, sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, timus, sistem saluran nafas, sistem saluran cerna dan organ-organ lain. Sel-sel dalam jaringan ini berasal dari sel induk dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, getah bening serta jaringan limfoid dan dapat menunjukkan respons terhadap suatu rangsangan sesuai dengan sifat dan fungsi masing-masing. Rangsangan terhadap sel-sel tersebut dapat terjadi apabila masuknya suatu zat dalam tubuh dan oleh sel atau jaringan tadi dianggap asing (Kresno, 2010).

Bila sistem imun terpapar zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respons imun yang akan terjadi, yaitu : 1) respon imun nonspesifik (bawaan), dan 2) respon imun spesifik (didapat) (kresno, 2010).

a. Respon imun Non-spesifik

Respon imun Non-spesifik pada umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) langsung dari tubuh tanpa rekayasa sebelumnya dan bertugas sebagai pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme karena dapat langsung memberikan

respons terhadap antigen. Sistem ini disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu. Menurut Baratawidjaja (1988), komponen-komponen utama sistem imun non-spesifik yang telah lama diterima terdiri atas:

- 1) Pertahanan fisis dan kimiawi. Dalam sistem ini, selaput lendir, kulit, silia saluran nafas, batuk dan bersin akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen kedalam tubuh.
- 2) Pertahanan biokimia. Bahan yang disekresi mukosa saluran nafas telinga, kelenjar sebaceous kulit, spermin dalam segmen, mengandung bahan yang berperan dalam pertahanan tubuh secara biokimia.
- 3) Pertahanan humoral. Berbagai bahan dalam sirkulasi sangat berperan dalam pertahanan tubuh secara humoral. Bahan-bahannya seperti : komplemen (berperan meningkatkan fagositosis dan mempermudah destruksi bakteri dan parasit), interferon (suatu glikoprotein yang dihasilkan oleh berbagai sel manusia yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respons terhadap infeksi virus), CRP (CRP dibentuk oleh badan pada saat infeksi, dan peranannya ialah sebagai opsonin dan dapat mengaktifkan komplemen).
- 4) Pertahanan selular. Sel NK dan Fagosit/makrofag berperan dalam sistem imun nonspesifik ini. Meskipun berbagai sel dalam tubuh dapat melakukan fagositosis, tetapi sel utama yang berperan dalam pertahanan nonspesifik adalah sel mononuklear (makrofag dan monosit) serta sel polimorfonuklear seperti neutrofi. Sel NK sendiri

adalah sel limfoid yang ditemukan dalam sirkulasi dan tidak mempunyai ciri sel limfoid dari sistem imun spesifik.

b. Respon imun spesifik

Respon imun spesifik, merupakan respon imun yang didapat (*acquired*) dari antigen tertentu yang timbul dan memiliki kemampuan dalam mengenal benda yang dianggapnya asing bagi dirinya karena itu, sebelum memberikan respon terhadap antigen terlebih dahulu sistem imun spesifik membutuhkan waktu dalam mengenal antigen (Kresno, 2001). Benda asing yang pertama kali muncul dalam tubuh akan segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitisasi sel-sel sistem imun, dan bila sel sistem imun tersebut berpapasan kembali dengan benda asing yang sama maka benda asing terakhir ini akan dikenali lebih cepat kemudian dihancurkan. Disebut spesifik karena sistem imun ini hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya. Respon imun spesifik dibagi dalam 2 golongan, yaitu : 1) Respon imun spesifik selular, yang berperan dalam sistem imun spesifik selular adalah sel T atau limfosit T, dan 2) Respon imun spesifik humoral, yang berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah sel B atau limfosit B (Baratawidjaja, 1988).

Menurut Kresno (2010), Ciri-ciri utama sistem imun spesifik adalah:

- 1) Spesifisitas. Respon yang timbul terhadap antigen dan bahkan terhadap komponen struktural kompleks protein atau polisakarida yang berbeda, tidak sama.
- 2) Diversitas. Total jumlah spesifitas limfosit terhadap antigen dalam satu individu yang disebut *lymphocyte repertoire* sangat besar.
- 3) *Memory*. Limfosit memiliki kemampuan untuk mengingat antigen yang pernah dijumpai dan memberikan respons yang lebih efektif pada pertemuan berikutnya.
- 4) Spesialisasi. Sistem imun memberikan respon yang berbeda dan dengan cara berbeda terhadap berbagai mikroba yang berlainan.
- 5) Membatasi diri. Semua respon imun normal mereda dalam waktu tertentu setelah rangsangan dari antigen.
- 6) Membedakan *self* dari *non-self*. Sistem imun menunjukkan toleransi terhadap antigen dari tubuh sendiri.

c. Sistem limfoid

Sistem pertahanan tubuh dibangun oleh organ dan jaringan. Organ-organ yang berperan dalam memproduksi sel limfosit yaitu organ limfoid. Organ limfoid sendiri dibagi menjadi dua yaitu, organ limfoid primer dan organ limfoid sekunder. Organ limfoid primer adalah timus, sumsum tulang dan timus, sedangkan organ limfoid sekunder adalah limfonodi dan limpa. Sirkulasi limfosit merujuk pada proses migrasi

limfosit dimana dari darah akan menuju ke organ limfoid dan non-limfoid dan sebaliknya melalui sistem limfatik dan pembuluh darah khususnya venule. Limpa adalah organ limfoid sekunder yang berfungsi sebagai tempat memproduksi limfosit, menyaring dan menghancurkan sel darah merah yang tua dan rusak, menjerat benda asing, menghancurkan bakteri dan virus dan pada masa fetal, limpa adalah hematopoiesis aktif, sedangkan timus sebagai organ limfoid primer berperan dalam pematangan sel limfosit T, kemudian sel limfosit T akan bermigrasi ke jaringan limfoid sekunder dan organ limpa merupakan tempat pertemuan limfosit dan antigen (Vanden *et al*, 2005).

d. Limfosit limpa

Sakit diakibatkan oleh sistem imunitas menurun, dan penurunannya ditunjukkan dengan penurunan jumlah limfosit. Limfosit merupakan sel yang berbentuk sferis dan mempunyai karakteristik morfologi yang sama. Pada darah tepi limfosit berbentuk bulat, tapi saat bermigrasi ke jaringan bentuknya pleomorfik. Ukuran lebih besar dibandingkan dengan eritrosit dan memiliki sedikit lekukan, inti sel bulat yang hampir memenuhi sel. Sitoplasmanya berwarna biru terang dan mengandung beberapa granula azurofilik. Umur limfosit bervariasi ada yang hanya berumur beberapa hari, tetapi ada juga yang hidup dalam sirkulasi darah sampai berumur beberapa tahun. Limfosit sendiri memiliki berbagai peran fungsional, dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, sel-sel kanker,

dan makromolekul asing (Junqueira *et al.*, 2007). Limfosit berkembang pada jaringan limfoid yang ada di dalam tubuh, yaitu pada limfonodus, limpa, dan folikel limfatik pada sumsum tulang. Limfosit juga merupakan inti dalam proses respon imun spesifik karena sel-sel ini mampu mengenal setiap jenis antigen, baik antigen yang bersifat ekstraseluler misalnya dalam cairan darah atau tubuh maupun intraseluler. Limfosit sendiri dapat digolongkan kedalam 2 populasi, yaitu limfosit T yang berfungsi dalam respon imun seluler dan berperan dalam melawan mikroorganisme intraseluler, dan limfosit B yang berfungsi dalam respon imun humoral dengan produk yang dihasilkan ialah antibodi dan berfungsi dalam pertahanan terhadap mikroba ekstraseluler (Kresno, 2001).

Kekebalan tubuh memegang peran penting dalam perkembangan dan pertumbuhan manusia. Kekebalan tubuh seseorang dapat diukur dari kadar limfositnya baik sel T maupun sel B. Batas kadar limfosit normal adalah sebesar 20-40% (Almatsier, 2005). Kadar limfosit menggambarkan besarnya pertahanan tubuh manusia dalam melawan segala macam benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Ketika kadar limfosit tidak normal atau turun, akan berakibat tubuh mudah terkena berbagai macam penyakit infeksi dan aktivitas sel dalam sistem kekebalan terhambat. Penurunan sistem imun dapat menyebabkan tubuh rentan terhadap serangan penyakit, mekanisme penurunan sistem imun dapat melalui menurunkan produksi interferon- γ (IFN- γ), sel natural killer (NK), ekspresi interleukin-2 (IL-2), proliferasi limfosit dan rasio CD4⁺/CD8⁺, sedangkan peningkatan proliferasi

limfosit akan mengakibatkan semakin banyak jumlah sel limfosit dalam menghasilkan antibodi terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh yang akhirnya mempengaruhi kesehatan dan ketahanan tubuh (kresno, 2001).

5. Hewan uji

a. Klasifikasi Mencit Balb/c

Menurut Arrington (1972), sistematika mencit putih berdasarkan taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filium	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodensia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

b. Biologi mencit

Peneliti banyak menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Hewan yang dibutuhkan dalam penelitian di laboratorium ataupun sebagai hewan piaraan adalah hewan yang mempunyai karakteristik produksi cepat, biaya yang murah dan mudah dipelihara serta cara penanganannya yang mudah. Mencit (*Mus musculus*) adalah salah satu hewan yang sering digunakan di laboratorium karena memiliki struktur

anatomi yang mirip dengan mamalia. Beberapa keunggulan dari mencit antara lain, siklus hidup pendek, mudah dalam penanganan, pengadaan hewan ini tidak sulit dan dapat dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan yang murah, meskipun hewan ini lebih rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus, jamur, parasit, dan bakteri (Malole dan Pramono 1989)

c. Reproduksi Mencit

Lama bunting 19 sampai 21 hari, umur disapih 21 hari, dan umur dewasanya 35 hari. Umur dikawinkan 8 minggu, berat dewasa betina 18-35 gram, jantan 20-40 gram, berat lahir 0,5-1,0 gram, berat sapih 18-20 gram, jumlah anak rata-rata 6 dan dapat juga 15 ekor. Kecepatan tumbuh bisa 1 gram/hari. Siklus esterus 4-5 hari, perkawinan terjadi pada waktu esterus, fertilitas 2 jam setelah kawin dan aktivitas *nocturnal* (malam) (Mangkoewidjojo dan Smith 1988).

d. Karakter Utama

Mencit termasuk golongan hewan omnivora, sehingga dapat memakan semua jenis makanan. Mencit juga termasuk hewan *nocturnal* yaitu aktivitas hidupnya seperti makan dan minum lebih banyak terjadi pada malam sore dan malam hari (Mangkoewidjojo dan Smith 1988).

Mencit putih hidup dalam daerah yang cukup luas penyebarannya, mulai dari iklim dingin, sedang, serta panas sekalipun dan akan terus menerus hidup dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar (Malole dan Pramono 1989).

B. Landasan Teori

Seseorang yang menelan 100-300 mg arsen dapat berakibat fatal. Batas toksisitas arsen pada manusia adalah 0,05 mg/kg, dimana dosis ini dihubungkan dengan kejadian distress saluran cerna pada individu. Toksisitas arsen LD₅₀ pada mencit secara oral dapat menyebabkan kondisi akut pada dosis 145 mg/kg (BPOM, 2010). Menurut Badan Standardisasi Nasional (2009), batas maksimum arsen dalam pangan, yaitu: daging dan hasil olahannya 0,05 mg/kg, acar sayuran dan buah 1,0 mg/kg, telur dan produk-produk telur 0,5 mg/kg, es lilin 0,5 mg/kg.

Kandungan logam berat arsen dapat menyebabkan resiko bagi kesehatan. Risiko kesehatan yang mungkin bisa terjadi apabila telah terkontaminasi kandungan logam berat arsen dan terakumulasi dalam tubuh dalam waktu yang lama antara lain iritasi usus dan lambung dimana terjadi pengelupasan sel epitel permukaan sehingga menyebabkan eksfoliasi sel epitel permukaan dan mengurangi sekresi mukus yang merupakan barier protektif terhadap serangan asam, hal ini terkait dengan dirangsangnya sistem saraf otonom yaitu parasimpatis yang akan menyebabkan meningkatnya sekresi asam lambung, penurunan produktivitas sel darah putih dan darah merah, perubahan kulit dan iritasi paru, arsen juga memberikan kesempatan kanker berkembang lebih cepat. Sebagian besar spesies hewan yang setelah terpapar arsen menunjukkan konsentrasi terbesar ditemukan di dalam ginjal, limpa, organ hati dan paru (Agustina, 2014; Eisler, 2004).

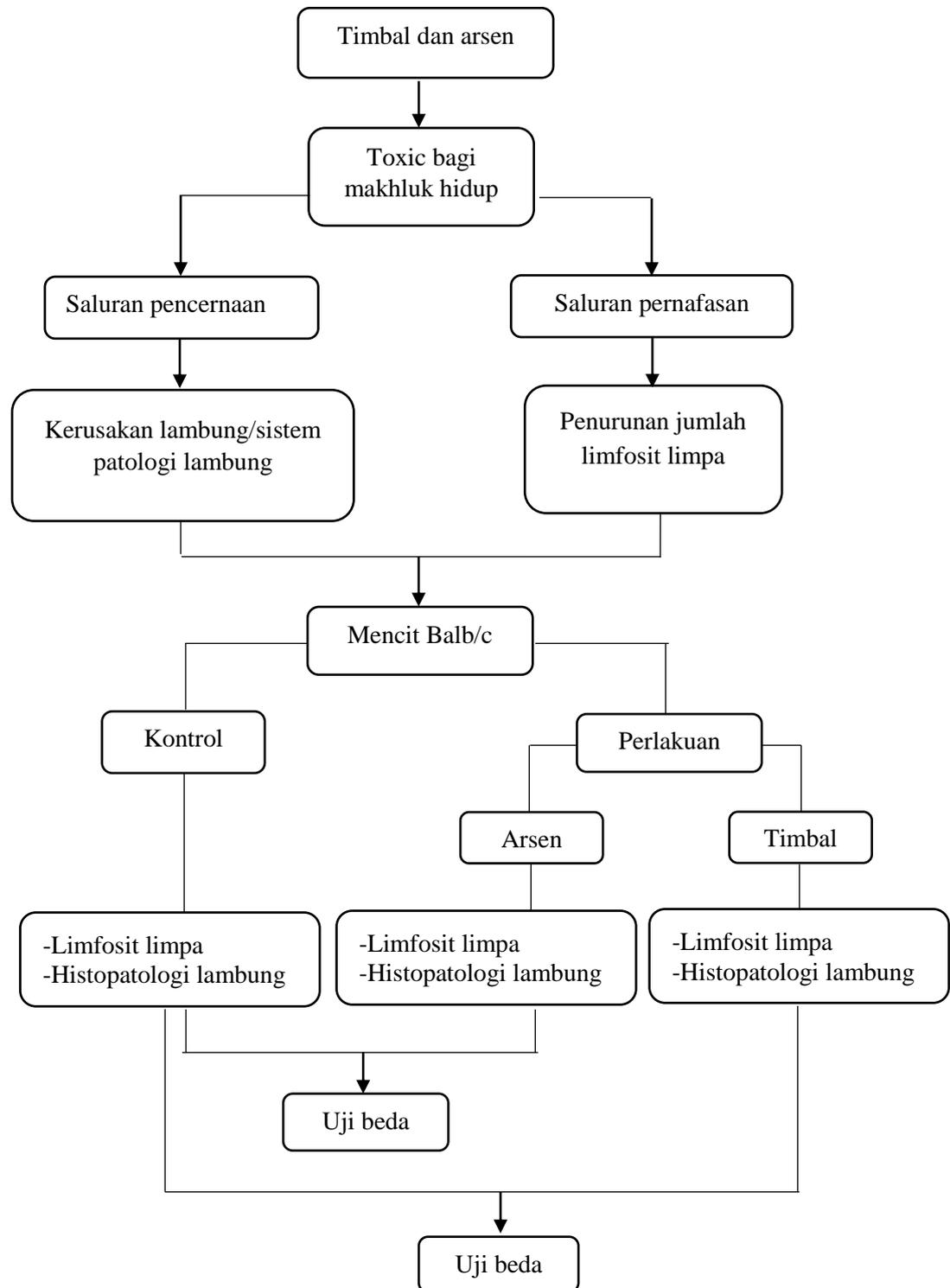
Kadar timbal dalam plasma darah diatas 0,10 mg/L sudah dianggap toksik dan memiliki efek merusak pada tubuh manusia. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2010), batas maksimal timbal dalam makanan, yaitu: daging dan hasil olahannya 1,0 mg/kg, buah dan sayur serta hasil olahannya 0,5 mg/kg, ikan dan hasil olahannya 0,03 mg/kg, garam 10,0 mg/kg, madu 2,0 mg/kg.

Timah hitam sangat potensial menyebabkan keracunan, terutama pada anak-anak. Keracunan timah hitam antara lain menyebabkan anemia karena rusaknya eritrosit, kelumpuhan karena rusaknya jaringan syaraf pusat dan syaraf tepi, sedangkan dalam kasus berat timah hitam dapat menyebabkan kematian, terutama pada anak-anak. Timbal yang meningkat dalam darah dapat mengganggu eritropoiesis dengan menghambat sintesis protoporfirin sehingga meningkatkan resiko anemia. Timbal juga dapat mempengaruhi kemampuan hidup eritrosit dan morfologinya. Keracunan timbal dapat juga mengakibatkan hipertensi, gangguan sintesis darah, kerusakan otak dan hiperaktivitas (Anonim, 1988; Herman, 2006; Goodman and Gilman, 1970). Dampak negatif bagi kesehatan bila berpaparan dengan timbal, yaitu pada sistem hemopoetik, sistem kardiovaskuler, pencernaan, sistem reproduksi, dan bersifat karsinogenik (Nordberg, 1998). Menurut Winarno (1993), timbal merupakan racun syaraf (*neuro toxin*) yang bersifat kumulatif, destruktif dan kontinu pada sistem haemofilik dan kardiovaskuler.

Benda asing yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan penurunan proliferasi limfosit. Kadar limfosit menggambarkan besarnya pertahanan tubuh manusia dalam melawan segala macam benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Kekebalan tubuh seseorang dapat diukur dari kadar limfositnya baik sel T maupun sel B. Batas kadar limfosit normal adalah sebesar 20-40%. Penurunan sistem imun dapat menyebabkan tubuh rentan terhadap serangan penyakit, mekanisme penurunan sistem imun dapat melalui menurunkan produksi interferon- γ (IFN- γ), sel natural killer (NK), ekspresi interleukin-2 (IL-2), proliferasi limfosit dan rasio CD4+/CD8+ (Almatsier, 2005; Junqueira *et al.*, 2007; Kresno, 2001).

A. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka konsep

C. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini :

1. Ada pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap jumlah limfosit limpa.
2. Ada pengaruh pemaparan arsen dan timbal terhadap histologi lambung.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

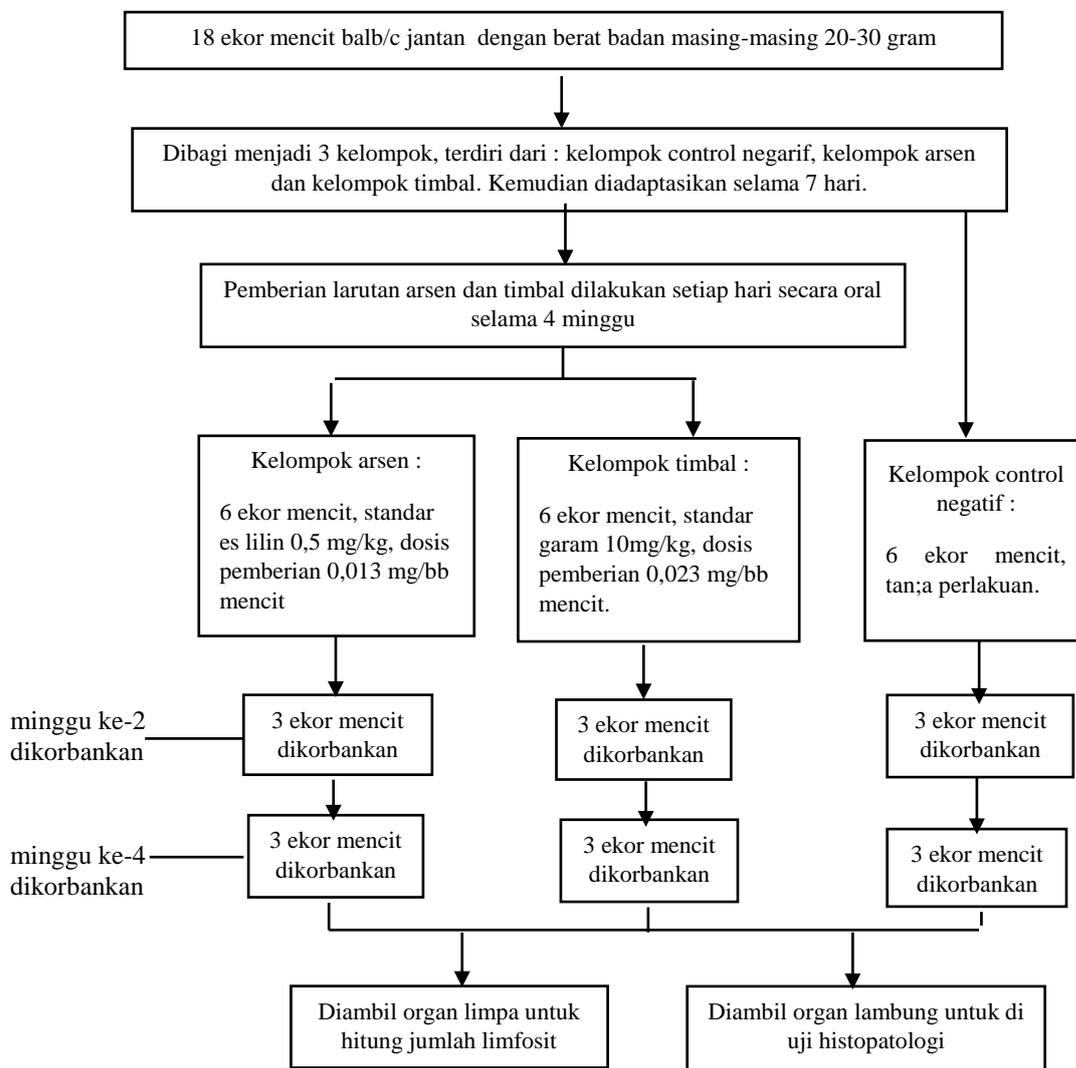
Penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai dengan Juli 2018. Adapun tempat penelitian dilakukan pada Laboratorium Hewan Percobaan, Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta, dan Laboratorium terpadu di Universitas Setia Budi, Surakarta.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorik dengan *post test only controlled group design* yang menggunakan mencit balb/c sebagai hewan ujinya. Subjek penelitian ini diambil dari populasi mencit galur balb/c berumur 7-8 minggu dengan berat badan sekitar 20-30 gr/ekor. Pemilihan mencit dalam setiap kelompok perlakuan dilakukan secara acak dalam satu populasi. Jumlah sampel 18 ekor mencit dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yang terdiri dari: kelompok kontrol negatif, kelompok arsen, dan kelompok timbal. Jumlah arsen yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu mengikuti standar arsen dalam es lilin 0,5 mg/kg BB manusia dan timbal mengikuti standar dari garam 10 mg/kg BB manusia (BSN, 2009). Standar es lilin 0,5 mg/kg BB manusia di konversikan ke dalam dosis mencit, diperoleh dosis sebesar 0,013 mg/BB mencit untuk arsen sedangkan untuk timbal, penelitian ini menggunakan standar dari garam 10 mg/kg BB manusia kemudian di konversikan ke dalam dosis mencit diperoleh dosis

sebesar 0,026 mg/BB mencit. Dosis merupakan volume pemberian perlakuan yang disesuaikan dengan berat badan setiap mencit. Perlakuan dilakukan setiap hari selama 4 minggu.

Alur Penelitian



Gambar 1. Alur penelitian

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah jumlah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi dalam penelitian ini yaitu mencit balb/c jantan. Hewan uji yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Percobaan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagian dari mencit balb/c jantan sejumlah 18 ekor, umur 7-8 minggu dengan bobot badan 20-30 gr/ekor yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Percobaan (UPHP UGM, Yogyakarta).

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (*independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah arsen (dosis 0,013 mg/bb mencit) dan timbal (dosis 0,023 mg/bb mencit).

2. Variabel terikat (*dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hitung jumlah limposit dan gambaran histopatologi lambung.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Jumlah limfosit limpa adalah jumlah limfosit yang ada dalam limpa, skalanya berupa numerik dengan satuan sel/ml (Ifandari, 2011)
2. Histopatologi lambung adalah ilmu yang mempelajari kondisi atau tingkat kerusakan lambung melalui hasil pengamatan menggunakan mikroskop, dengan skala berupa ordinal.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain: kandang pemeliharaan mencit, sonde lambung, pisau, alat bedah, *centrifuge*, gunting, tabung reaksi, pinset, rak tabung, cawan petri, timbangan analitik, tabung vial, spuit, *objek glass*, *dek glass*, mikroskop, handskun, masker, jas lab, rak bedah, kamar hitung IN.

2. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain : organ lambung dan limpa dari hewan uji mencit balb/c jantan, pellet, sekam, arsenic acid (H_3AsO_4), timbal, aquadest, air, gas Co_2 , larutan RPMI 1640, *phosphate Buffered Saline* (PBS), alkohol bertingkat, *xylol*, pewarna *hematoxylin eosin*, formalin, serbuk tripan *blue*, *Tris Buffered Ammonium Chloride*.

G. Prosedur Penelitian

1. Penyiapan hewan uji

Hewan uji mencit balb/c yang berumur 7-8 minggu dengan jenis kelamin jantan dan berat badannya antara 20-30 gr/ekor. Mencit didapatkan dari UPHP UGM, sedangkan untuk penelitiannya dilakukan pada Laboratorium Hewan Percobaan, Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta, dan untuk pembedahan dilakukan pada Laboratorium terpadu di Universitas Setia Budi Surakarta. Mencit diletakkan pada kandang yang terpisah dan tiap kandang terdiri atas 6 ekor mencit. Pengkelompokan dilakukan secara terpisah berdasarkan jenis perlakuan. Adapun perlakukannya terdiri atas: kelompok kontrol negatif, kelompok arsen, kelompok timbal. Mencit dipelihara, diberi makan pellet dan diberi minum. Sebelum perlakuan mencit terlebih dahulu diaklimasi (pembiasaan kandang) selama 7 hari, dengan tujuan pada saat pemberian arsen dan timbal, mencit dalam keadaan telah terbiasa dengan kondisi disekitarnya sehingga meminimalisir tingkat stres yang muncul.

2. Penentuan dosis dan pembuatan larutan

a. Penentuan dosis arsen dan pembuatan larutan

Dosis arsen diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia sebesar 0,5 mg untuk 70 kg BB manusia, berdasarkan batasan untuk es lilin. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 gram adalah 0,0026, sehingga dosis arsen untuk mencit pada penelitian ini adalah 0,013 mg/20 gram BB mencit (0,013 mg/20 BB

mencit). Larutan arsen dibuat satu minggu sekali sebanyak 50 ml. Ditimbang 2,5 mg serbuk arsen kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades. Campurkan sampai homogen, lalu masukan dalam tabung vial.

b. Penentuan dosis timbal dan pembuatan larutan

Dosis timbal diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia sebesar 10 mg untuk 70 kg berat badan manusia, berdasarkan batasan untuk garam. Berdasarkan faktor konversi dari berat badan manusia (70 kg) ke mencit dengan berat badan 20 gram adalah 0,0026, sehingga dosis timbal untuk mencit pada penelitian ini sebesar 0,026 mg/20 gram BB mencit (0,023 mg/BB mencit).

Larutan timbal dibuat satu minggu sekali sebanyak 50 ml. Ditimbang 5 mg serbuk timbal kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades. Campurkan sampai homogen, lalu masukan dalam tabung vial.

3. Pembuatan larutan pewarnaan tripan

Serbuk pewarnaan tripan diencerkan dengan konsentrasi 0,4 %, dengan jumlah pengencerannya sebanyak 2 ml.

$$\text{Rumus pengenceran : } V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Ditimbang 8 mg pewarna tripan lalu ditambah 2 ml aquades kemudian dihomogenkan.

4. Perlakuan pada hewan uji

Mencit diberi makan dan minum dengan cukup dan diaklimatisasi selama 7 hari. Pemberian dosis dilakukan selama 4 minggu dan diberikan per

hari dengan volume 0,013 mg/BB mencit untuk arsen dan 0,023 mg/BB mencit untuk timbal. Mencit diberi timbal dan arsen dengan cara memasukkan timbal dan arsen ke dalam sonde lambung dengan ukuran jarum 2,5, selanjutnya hewan dipegang dengan tangan kiri (hindari memegang leher terlalu kencang, jangan sampai tercekik). Setelah hewan dalam kondisi dipegang dengan benar dan tenang, masukkan sonde lambung sampai mendekati lambung atau bila seluruh jarum spuit sudah masuk, arsen dan timbal disuntikkan. Beberapa saat setelah penyuntikan, hewan diamati sampai beraktivitas kembali (Standar LPPT UGM).

Mencit diberi arsen dan timbal selama 4 minggu, pada minggu ke-2 dan ke-4 mencit dikorbankan. Mencit yang dikorbankan dibunuh dengan cara *cervical dislocation* (dislokasi leher) dimana mencit dipegang dan ditarik ekornya, kemudian lakukan pengamatan terhadap nafas dan denyut jantung. Sebelum dilakukan pembedahan, lakukan pengamatan kembali terhadap denyut jantung dan nafas untuk memastikan hewan telah benar-benar mati (Standar LPPT UGM). Setelah mencit sudah tidak bernafas dan diyakini mati, rentangkan mencit pada papan bedah menggunakan *pins* dengan posisi terlentang. Kulit bagian perut dibedah menggunakan gunting bengkok dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70%. Kelenjar limpa yang berada disisi kiri atas dengan bentuk memanjang berwarna merah diambil dengan cara mencari ujungnya dan digunting menggunakan gunting lurus. Limpa dibersihkan dari selubung pengikatnya. Lambung juga ikut diambil dan dibersihkan, kemudian diletakkan dalam wadah yang terdapat

formalin didalamnya, sedangkan limpa diletakkan dalam cawan petri diameter 50 mm yang berisi 1 ml RPMI. Setelah semua organ yang diperlukan diambil, maka masukkan sisa organ mencit yang tidak terpakai kedalam kantong plastik dan pastikan untuk menutup rapat agar tidak ada bau yang keluar dari plastik. Kantong plastik yang berisi sisa organ kemudian diserahkan ke bagian farmakologi untuk dilakukan insinerasi. Sampah lain berupa plastik, tisu, kertas yang tidak berhubungan dengan organ dibuang dalam kantong plastik tersendiri, dan untuk area kerja tempat pembedahan juga ikut dibersihkan menggunakan alkohol.

5. Hitung jumlah limfosit

Riset yang bersifat manual biasanya harus dilakukan oleh observer yang sudah ahli, dan untuk pembacaan hasil tidak bisa diassesmen sendiri oleh mahasiswa melainkan harus dilakukan oleh minimal tiga observer atau yang sudah ahli dalam bidangnya.

Limfosit dalam limpa diisolasi dengan media RPMI. Media RPMI 4 ml dipompakan ke dalam limpa sehingga limfosit ikut keluar bersama media. Suspensi sel dimasukkan dalam tabung centrifuge bergaris dan disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Pelet yang didapat disuspensikan ke dalam 2 ml *Tris Buffered Ammonium Chloride* untuk melisiskan eritrosit. Sel dicampur hingga homogen dan diamkan selama 2 menit pada suhu ruang, lalu tambahkan 1 ml PBS pada dasar tabung, campur, dan centrifuge pada 1200 rpm selama 5 menit dan supernatannya dibuang. Lanjutkan dengan pencucian dengan media RPMI selama 2 kali seperti proses

awal hingga didapatkan beningan dan limfosit disuspensikan dengan 1 ml media RPMI. Sebelum dihitung, suspensi dihomegenkan terlebih dahulu. Kemudian limfosit dihitung jumlahnya dengan menggunakan pewarnaan biru tripan. Pipet 10 ul pewarna tripan dan 10 ul suspensi sel lalu dicampur, setelah dicampur ambil 10 ul dan letakkan tip di antara kamar hitung dan dek glass yang ada diatas kawat hitung IN. Menurut Ifandari (2011), rumus perhitungan jumlah limfosit yaitu:

$$N = A \times FP \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

Keterangan:

N : Jumlah sel limfosit/ml

A : Jumlah sel hidup rata-rata per bidang pandang

FP: Faktor pengenceran

6. Uji histopatologi

Lambung yang direndam dalam formalin, dipindahkan ke *casette* dan dimasukkan dalam *Tissue processor* untuk didehidrasi menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat (70% hingga absolut) dan diproses selama 18,5 jam. Organ lalu dipotong dan diletakkan dalam *mould* yang nantinya akan diberi parafin (pengeblokan) kemudian disimpan dalam refrigator (4-6 °C). Setelah jaringan diblok dan membeku, blok parafin dipotong setebal 5µm dengan menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang didapat dimasukkan dalam waterbath kemudian langsung diambil menggunakan objek glass lalu letakkan pada *hot plate* untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C agar parafin meleleh dan jaringan melekat kuat pada objek glass. Letakkan objek glass yang berisi jaringan tadi kedalam rak/nacks untuk dilakukan pewarnaan.

Pewarnaan yang digunakan dalam uji histopatologi ini adalah pewarnaan *Hematoxylin Eosine*, dimana pewarnaan ini juga memiliki beberapa tahap, yaitu : deparafinisasi, dehidrasi, pewarnaan, pencucian dan penutupan yang menggunakan gelas penutup/objek glass.

H. Teknik Pengumpulan Data

Hasil data yang diperoleh dari setiap penelitian yang dilakukan, kemudian diolah dengan menggunakan program SPSS.

I. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan program SPSS menggunakan uji t-test (*Independent sample t-test*).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Jumlah limfosit pada organ limfa

Limfosit merupakan sel yang diproduksi dalam organ limfoid primer, kemudian bermigrasi ke organ limfoid sekunder. Pada penelitian ini, pemeriksaan jumlah limfosit dilihat dari organ limfa. Rerata jumlah limfosit dari penelitian ini bisa dilihat di **tabel 1**.

Tabel 1. Rerata hitung jumlah limfosit pada minggu ke-2 dan ke-4 setelah perlakuan arsen dengan dosis 0,013 dan timbal dengan dosis 0,026

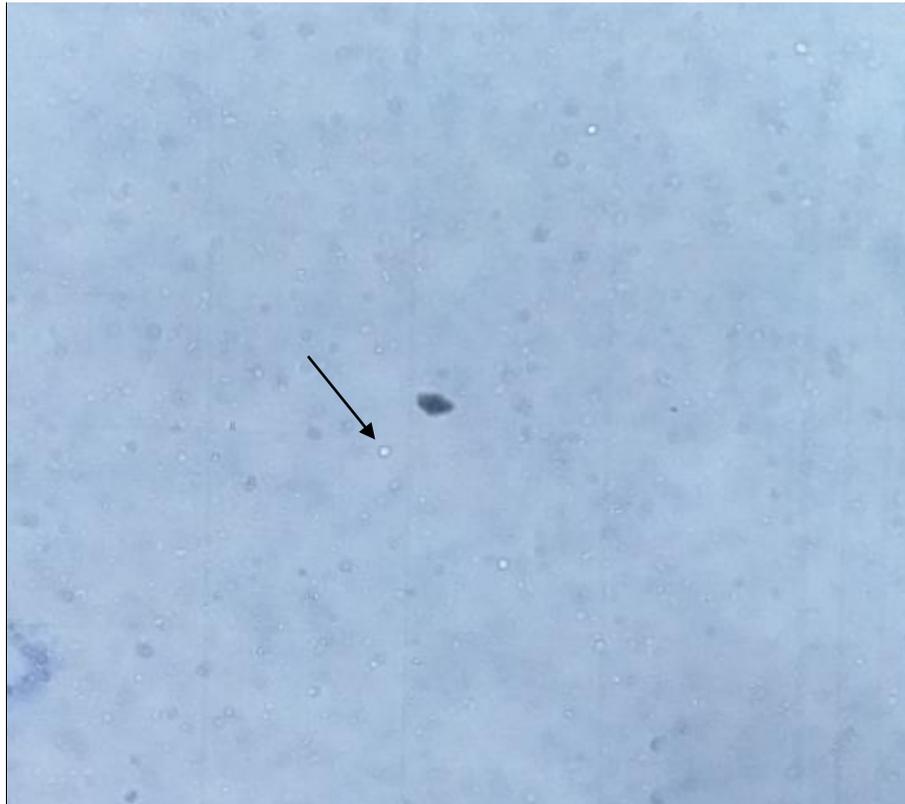
Perlakuan	Kelompok kontrol negatif (Rerata±SD)	Kelompok arsen (Rerata±SD)	Kelompok timbal (Rerata±SD)
Minggu ke-2	4.415.000±751.278,1	12.772.500±3.415.563 ^a	11.824.167±3.934.284 ^a
Minggu ke-4	9.465.833±1.670.748,959	7.364.166,7±675.289 ^b	6.358.300±1.533.270,4 ^b

Keterangan: a : nilai diatas kelompok kontrol negatif
b : nilai dibawah kelompok kontrol negatif

Setelah dilakukan penelitian mengenai hitung jumlah limfosit dengan perlakuan pemberian arsen dan timbal, didapatkan hasil rata-ratanya sebagai berikut: pada minggu ke-2, rerata jumlah limfosit arsen dan timbal lebih tinggi dibandingkan rerata kelompok kontrol negatifnya, sedangkan untuk minggu ke-4 rerata jumlah limfosit kelompok arsen dan timbal lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, dan untuk rerata jumlah limfosit kelompok kontrol negatif minggu ke-2 dan ke-4 mengalami

perbedaan dimana minggu ke-4 rerata jumlah limfositnya lebih tinggi dibandingkan minggu ke-2.

Hasil pengamatan mikroskop limfosit dapat dilihat dibawah ini :



Gambar 2. Pengamatan Mikroskopis Limfosit

Gambaran limfosit pada kamar hitung *Improved Neubauer* dengan perbesaran 200x. Panah hitam menunjukkan limfosit.

Analisis data

Setiap data yang diperoleh diolah menggunakan *uji independent t test* untuk melihat nilai signifikansinya, ada tidaknya perbedaan tiap kelompok yang dipasangkan.

Tabel 2. Tabel nilai signifikansi Hasil *uji Independent sample t test*

Perbandingan hitung jumlah limfosit	Nilai sig (2-tailed)
Kontrol M2 dan arsen M2	0,014 ^a
Kontrol M2 dan timbal M2	0,033 ^a
Kontrol M4 dan arsen M4	0,113 ^b
Kontrol M4 dan timbal M4	0,077 ^b
Arsen M2 dan arsen M4	0,055 ^b
Timbal M2 dan timbal M4	0,088 ^b

Keterangan:

a : berbeda secara signifikan ($<0,05$ Ho ditolak)

b : tidak berbeda secara signifikan ($>0,05$ Ho diterima)

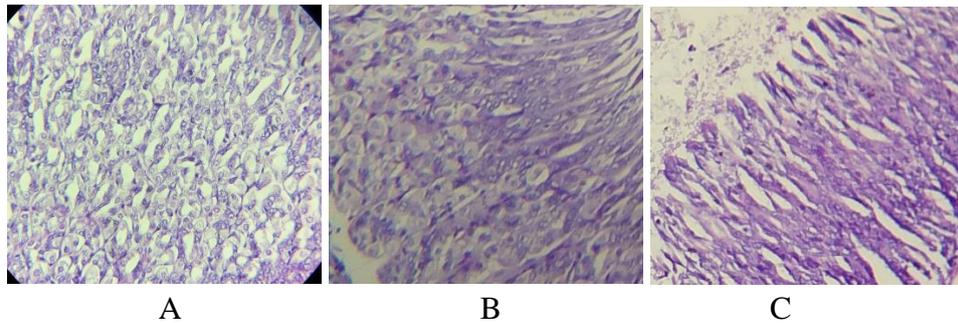
M2 : pengamatan minggu ke-2

M4 : pengamatan minggu ke-4

Berdasarkan Hasil uji independent sampel t test penelitian ini, didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit dari beberapa kelompok yang dipasangkan ada yang menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dan ada juga yang tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Kelompok yang menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu kelompok kontrol minggu ke-2 dan arsen minggu ke-2, kontrol minggu ke-2 dan timbal minggu ke-2, sedangkan kelompok yang tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, yaitu kelompok kontrol minggu ke-4 dan arsen minggu ke-4, kontrol minggu ke-4 dan timbal minggu ke-4, arsen minggu ke-2 dan arsen minggu ke-4, timbal minggu ke-2 dan timbal minggu ke-4.

2. Hasil uji histopatologi

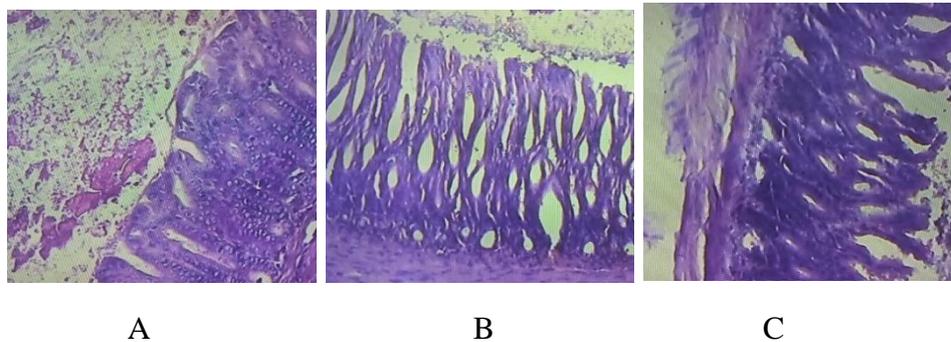
- a. Perbedaan morfologi jaringan penyusun lambung akibat perlakuan arsen dan timbal pada minggu ke-2.



Gambar 4a:

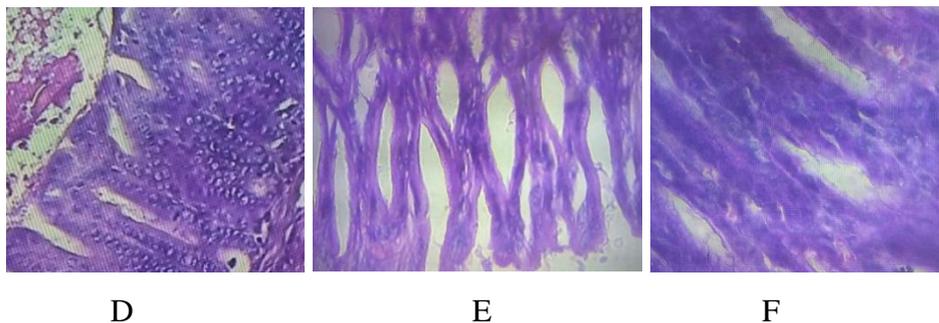
- A. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c kontrol (perbesaran 400x),
 B. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan arsen (perbesaran 400x),
 C. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan timbal (perbesaran 400x).

- b. Perbedaan morfologi jaringan penyusun lambung akibat perlakuan arsen dan timbal pada minggu ke-4.



Gambar 4b:

- A. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c kontrol (perbesaran 100x),
 B. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan arsen (perbesaran 100x),
 C. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan timbal (perbesaran 100x).



Gambar 4b:

D. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c kontrol (perbesaran 400x),

E. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan arsen (perbesaran 400x),

F. Gambaran histopatologi lambung mencit Balb/c perlakuan timbal (perbesaran 400x).

Hasil yang didapatkan dari gambaran histopatologi jaringan lambung mencit akibat perlakuan arsen dan timbal, yaitu untuk minggu ke-2 dan minggu ke-4, baik kelompok kontrol negatif, kelompok arsen dan timbal, ke tiga kelompok ini tidak mengalami perbedaan gambaran histopatologi atau kerusakan sel.

B. Pembahasan

1. Jumlah limfosit dalam organ limfa

Limfosit diproduksi di dalam sumsum tulang (sel B dan sel T), lalu sel T masuk ke timus dan membelah atau memperbanyak diri di timus, kemudian sel T masuk kembali ke dalam aliran darah dan kembali lagi ke dalam sumsum tulang atau organ limfoid primer. Sel T bertanggungjawab untuk mengenali antigen asing. Limfosit B ini pergerakannya tidak melalui timus, tetapi bergerak langsung lewat peredaran darah ke jaringan limfoid umumnya. Sel B bertugas memproduksi antibodi yang beredar dalam peredaran darah dan mengikat antigen asing.

Dalam penelitian ini, rerata jumlah limfosit kontrol negatif minggu ke-2 ($4.415.000 \pm 751.278,1$) dan minggu ke-4 ($9.465.833 \pm 1.670.748,959$) mengalami perbedaan dimana jumlah limfosit minggu ke-4 lebih besar dibandingkan minggu ke-2, hal ini dihubungkan dengan faktor pembacaan atau perhitungan jumlah limfosit secara manual pada saat penelitian yang hanya menggunakan satu pembaca, yang seharusnya untuk pembacaan harus menggunakan tiga orang penghitung untuk menghindari tingkat ketidak valid. Peningkatan limfosit kontrol negatif minggu ke-4 juga salah satunya bisa karena stress atau infeksi.

Kelompok perlakuan arsen minggu ke-2 memiliki jumlah limfosit lebih besar ($12.772.500 \pm 3.415.563$) dibandingkan dengan jumlah limfosit arsen minggu ke-4 ($7.364.166,7 \pm 675.289$) yang mana pada minggu ke-4 jumlah limfositnya mengalami penurunan, meskipun terdapat perbedaan pada kedua minggu tersebut namun perbedaannya tidak berbeda secara signifikan, sedangkan untuk jumlah limfosit perlakuan timbal minggu ke-2 dan timbal minggu ke-4 juga tidak berbeda secara signifikan, meskipun pada minggu ke-2 limfosit lebih besar ($11.824.167 \pm 3.934.284$) dibandingkan dengan jumlah limfosit timbal minggu ke-4 ($7.364.166,7 \pm 675.289$) yang mana mengalami penurunan. Menurut Thomas (2010), ada beberapa faktor yang mempengaruhi adanya variasi dalam respon imun, yaitu umur, jenis kelamin, genetik, dosis dan rute pemberian antigen, dan kualitas antigen.

Jumlah limfosit arsen dan timbal minggu ke-2 mengalami perbedaan yang signifikan meskipun jumlah limfosit arsen minggu ke-2 lebih besar 8.357.500 dibandingkan jumlah limfosit arsen minggu ke-4 sebanyak 7.409.167. peningkatan jumlah limfosit arsen minggu ke-2 dan timbal minggu ke-2, bisa juga disebabkan karena adanya tindakan pemberian arsen dan timbal mulai minggu pertama. Reaksi yang dapat ditimbulkan oleh arsen dan timbal menurut Tizard (2004), antigen yang masuk ke dalam jaringan akan merangsang sel fagositik untuk bermigrasi ke tempat antigen berada yang diawali oleh neutrofil kemudian monosit/makrofag. Makrofag akan mengeluarkan *interleukin 1* yang dimana akan merangsang sel T helper dan sel B. Sel T helper juga mengeluarkan *interleukin 2* yang berfungsi mempertinggi tanggap sel B terhadap antigen. Faktor yang dilepaskan makrofag dan sel T helper ini mensensitisasi dan mempercepat sel B dan sel T untuk datang dan berikatan dengan antigen dan mengakibatkan terjadi peningkatan persentase limfosit.

Kelompok perlakuan minggu ke-4 arsen dan timbal jumlah limfositnya mengalami penurunan, dimana arsen menurun sebanyak 2.101.666 dan timbal menurun sebanyak 3.107.533, meskipun arsen dan timbal mengalami penurunan namun penurunan diantara keduanya tidak berbeda secara signifikan. Penurunan jumlah limfosit terjadi karena adanya reaksi arsen atau timbal terhadap sel T dimana terjadi penurunan proliferasi. Salah satu mekanisme potensial arsen yaitu, dapat mengganggu kekebalan ekspresi gen, hal ini dapat mengakibatkan kegagalan dalam

mempertahankan hemostasis respon imun terhadap antigen asing dan berpotensi menyebabkan disfungsi kekebalan tubuh dan penyakit kekebalan yang terkait. Kondisi ini berlawanan dengan teori atau beberapa studi telah melaporkan bahwa paparan arsen dapat meningkatkan resiko alergi dan penyakit autoimun (Tseng, 2004; SotoPena *et al.*, 2006). Anak-anak maupun orang dewasa yang terpajan arsen akan mengalami pengurangan atau penurunan proliferasi limfosit, CD4-positif sel T lebih sedikit (Biswas *et al.*, 2009; Kile *et al.*, 2014; Nadeau *et al.*, 2014).

Hasil data statistik jumlah limfosit dari setiap kelompok yang dipasangkan, seperti kelompok kontrol negatif minggu ke-2 dan perlakuan arsen minggu ke-2, kelompok kontrol negatif minggu ke-2 dan timbal minggu ke-2 menunjukkan perbedaan jumlah limfosit yang signifikan $p < 0,05$, hal ini kemungkinan disebabkan karena faktor pembacaan atau perhitungan jumlah limfosit secara manual yang harusnya menggunakan tiga orang penghitung untuk mencegah ketidak valid, namun pada penelitian ini hanya menggunakan satu orang penghitung. Hasil data selanjut dari kelompok kontrol negatif minggu ke-4 dan perlakuan arsen minggu ke-4, kelompok kontrol negatif minggu ke-4 dan perlakuan timbal minggu ke-4, kelompok perlakuan arsen minggu ke-2 dan perlakuan arsen minggu ke-4, kelompok perlakuan timbal minggu ke-2 dan perlakuan timbal minggu ke-4 menunjukkan perbedaan jumlah limfosit yang tidak signifikan $p > 0,05$. Hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan karena dosis yang digunakan masih terlalu kecil dan waktu pemaparan arsen dan

timbang tidak terlalu lama. Menurut Darmono (1995), toksisitas logam dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: lamanya konsumsi, kadar logam yang termakan, umur, jenis kelamin, spesies, kondisi fisik, kebiasaan makan-makanan tertentu, dan kemampuan tubuh dalam mengakumulasi logam.

2. uji histopatologi

Lambung terdiri dari beberapa lapisan, mulai dari lapisan dalam sampai lapisan luar yang tersusun atas lapisan mukosa, sub mukosa, muskularis eksterna dan serosa. Pada mukosa lambung terdapat epitel selapis silindris. Masuknya arsen dan timbal dalam lambung akan menyebabkan iritasi mukosa, dimana terjadi pengelupasan sel epitel permukaan sehingga menyebabkan eksfoliasi sel epitel permukaan dan mengurangi sekresi mukus yang merupakan barier protektif terhadap serangan asam. Hal ini terkait dengan dirangsangnya sistem saraf otonom, yaitu parasimpatis yang akan menyebabkan meningkatnya sekresi asam lambung (Hidayat, 2006).

Berdasarkan hasil gambaran histopatologi lambung akibat pemberian arsen dan timbal pada minggu ke-2 dan minggu ke-4 tidak terlihat adanya kerusakan pada epitelium dan villi atau tidak terjadi kerusakan lambung. Tidak terjadinya kerusakan lambung diakibatkan dosis yang sedikit, lama perlakuan yang sangat singkat, sehingga mengakibatkan lambung tidak mengalami kerusakan.

Menurut Agustina (2014), resiko arsen dan timbal bagi kesehatan yang mungkin bisa terjadi apabila terkontaminasi dan terakumulasi di dalam tubuh dalam waktu yang lama antara lain, iritasi lambung dan usus, penurunan produktivitas sel darah putih dan merah, perubahan kulit dan iritasi paru, bahkan arsen dan timbal dapat memberikan kesempatan kepada kanker untuk berkembang lebih cepat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pemaparan arsen dan timbal selama 30 hari dengan dosis 0,013 dan timbal dosis 0,026 tidak ada pengaruh terhadap jumlah limfosit.
2. Paparan arsen dan timbal selama 30 hari dengan dosis 0,013 dan timbal dosis 0,026 tidak mengakibatkan kerusakan pada lambung.

B. Saran

Skripsi ini merupakan penelitian saja, bisa dilakukan penelitian serupa namun dengan dosis pemaparan arsen dan timbal yang bertingkat dan lihat apakah terjadi peningkatan jumlah limfosit dan jaringan apa saja yang mengalami kerusakan pada lambung dengan waktu pemaparan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina T. 2014. *Kontaminasi Logam Berat Pada Makanan Dan Dampaknya Pada Kesehatan*. TJP. Fakultas Teknik. UNNES.
- Ali M. 2012. *Bahaya Logam Berat Bagi Kesehatan*, <URL:http://mychemistryblog.blogspot.com/2012/12/bahaya-logam-berat-bagi-kesehatan_27.html>
- Almatsier, S. 2005. *Penuntun Diet*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Anonim. 1988. "Ancaman Pencemaran Timbal di Dalam Rumah Tangga". *Wawasan Minggu*, 8 Mei, hal. 3.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. *Batas Maksimum Cemaran Logam Berat Dalam Pangan*. SNI 7387:2009.
- Baratawidjaja, K, G. 1988. *IMUNOLOGI DASAR*. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Biswars R, Ghosh P, Banerjee N, Das JK, Sau T, Banerjee A et al., 2008. Analysis of T-cell proliferation and cytokine secretion in the individuals exposed to arsenic. *Hum Exp Toxicol* 27:381-386.
- CDC. 2000. *Eliminating Childhood Lead Poisoning: A Federal Strategy Targeting Lead Paint Hazards*. President's Task Force on Environmental Health Risks and Safety Risks to Children. <http://www.cdc.gov/nceh/lead/about/program.htm>
- Darmono. 1995. *Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*, UI Press, Jakarta. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran: hubungannya dengan toksikologi senyawa logam*, UI Press, Jakarta.
- Dellman HD and EM Brown. 1989. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
- DeRoss Fj. 1997. Smelters and Metal Reclaimers. *In Occupational, Industrial , and environmental toxicology*. New York : Mosby-Year book, p 291-3330.

- Eisler R. 2004. Arsenic Hazards to Humans, Plants and Animals from Gold Mining. *Rev Environ Contam Toxicol*. 180: 133-165.
- Fardiaz S. 1992. *Polusi Air dan udara*, Kanisius, Yogyakarta.
- Flora SJS, Bhadauria S, Kannan GM, Nutan Singh. 2007. Arsenic Induced Oxidative Stress and the Role of Antioxidant Supplementation During Chelation: A review. *J Environ Biol*. 28(2):333-347.
- Gayatri & Riza VT. 1994. *Bunga Rampai Residu Pestisida dan Alternatifnya*, PAN Indonesia, Jakarta.
- Goldstein BD and HM Kipen. 1994. *Hematologic Disorder*. In Levy and Wegman (eds) : Occupational Health Recognizing and Preveting Work-Realted Diseases. 3 rd ed, United Stated of America : Little Brown and Company.
- Goodman, L. S. and A. Gilman, 1970, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 4nd Ed. New York: The Macmllan Company.
- Herman, D. Z. 2006. Tinjauan terhadap tailing mengandung unsur pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dari sisa pengolahan bijih logam. *Geologi Indonesia*, 1:31-36.
- Hidayat, A. P. 2006. Gambaran Histopatologi Gaster Mencit Balb/c Pada Pemberian Arsen Trioksida Dosis bertingkat Peroral [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Ifandari. 2011. Respon Proliferasi Limfosit pada Organ Limpa dan Timus Balb/C Yang Terinfeksi Bakteri Salmonella thypi pada Pemberian Ekstrak Meniran Merah (*phyllanthus urinaria*) [tesis]. Surakarta: Program Pasca Sarjana, Universitas Sebelas Maret.
- Jain N. C. 1993. *Essentials of veterinary Hematologi*. Lea & Febiger Philadelphia. 417 pp.
- Jensen, M. L. and Bateman, A.M.; 1981. *Economic Mineral Deposits*, Third Edition, John Wiley & Sons, New York, 593 pages.

- Jomova K, Jenisova Z, Feszterova M, Baros S, Liska J, Hudecova D, Rhodesd CJ and Valko M. 2011. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *J Appl Toxicol.* 31: 95–107.
- Junqueira, L. C. Carneiro, J. dan Kelly, R.O. 2007. “Basic Histology (1995)” Terjemahan Jan Tambayong. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Kapaj S, Peterson H, Liber K, Bhattacharya P. 2006. Human Health Effects from Chronic Arsenic Poisoning. A Review. *J Environ Sci Health.* 41:23992428.
- Kresno, S. B. 2001, 2010. *IMUNOLOGI: Diagnosa dan Prosedur Laboratorium*. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- Mangkoewidjaja dan Smith. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropi. Jakarta. Universitas Indonesia Press. Hlm. 10-35
- Malole M. B. B. Dan C. S. U. Pramono. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mashkoo J, Khan A, Khan, Abbas RZ, Saleemi MK and Mahmood F. 2013. Arsenic Induced Clinico-Hemato-Pathological Alterations In Broilers And Its Attenuation By Vitamin E And Selenium. *Pak J Agri Sci.* 50(1): 131138.
- Nissan. R. 2008. Bahaya Kontaminasi Logam.
- Nordberg G. 1998. Metal: Chemical Properties and Toxicity. In: Stellman Jm (ed); *Encyclopedia of Occupational Health and Safety*. 4 ed. Geneva ; ILO.
- OSHA. 2005. Lead. [http://www.OSHA.gov/SLTC/safety and health topics construction](http://www.OSHA.gov/SLTC/safety_and_health_topics_construction). Tanggal akses 29 Juni 2005.
- O’Neill, P. 1994. *Environmental Chemistry, Second edition*, Chapman & Hall, London, 268 pages.

- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Penerbit Rineka Cipta Jakarta.
- Prangdimurti E. 1999. Efek Perlindungan Ekstrak Jahe terhadap Respon Imun Mencit yang diberi Perlakuan Stess Oksidatif oleh Pestisida Paraquat [Disertasi] Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Ratnaike RN. 2003. Acute and Chronic Arsenic Toxicity. *Post Med J*.79: 391-396.
- Sainio EL, Jolanki R, Hakala E, Kanerva L. 2000. Metals and arsenic in eye shadows. *Contact Dermatitis*.42(1): 5-10.
- Smedley PL and Kinniburgh DG. 2002. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Appl Geochem*. 17: 517–568.
- Sugiyanto. 1995. *Methodology Research Surakarta*. UNS Press
- Surani, R., 2002. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Rineka Cipta, Jakarta., Kesehatan Lingkungan, Gadjah Mada University Press, Jakarta.
- Thomas C, M Moridani. 2010. Interindividual Variations in the Efficacy and Toxicity of Vaccines. *Toxicology* 287 (2): 204-210.
- Tizard IR. 2004. *Veterinary Immunology: An introduction*. 7th edition. London: Saunders WB Co Ltd. Hlm 43-59.
- Tseng CH. 2004. The potential biological mechanisms of arsenic induced diabetes mellitus. *Toxicol Appl Pharmacol* 197:67-83.
- Vanden, A. W. N. Michael K. C. And Michael N. Stambach. 2005. Salmonella inhibit T cell proliferation by a direct, contact-dependent immunosuppressive affect. *PNAS* vol. 102 (49) 17769-17774. www.pnas.org
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*, PT. Gramedia Pusat Utama, Jakarta.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical clearance*



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 Kelaiakan Etik

No. 1466/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 SENYAWA ARSEN (As) DAN TIMBAL (Pb) TERHADAP HITUNG JUMLAH LIMFOSIT LIMPA DAN UJI HISTOPATOLOGI LAMBUNG MENCIT BALB/C

Peneliti:

The researcher:

Nama/ Name : Lidya Montoh

Alamat/ Address : mojosongo

Institusi/ Institution : FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA

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. Perhitungan dosis dan jumlah pemberian

➤ arsen

- Volume tampung lambung mencit mulai 0-1 ml.
- Menelan 100-300 mg arsen dapat berakibat fatal. Batas terendah toksisitas pada manusia adalah 0,05 mg/kg, dimana dosis ini dihubungkan dengan kejadian distress saluran cerna pada individu. Toksisitas arsen LD₅₀ oral-mencit, akut: 145 mg/kg (BPOM, 2010).
- Arsen yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan standar dari Es lilin yang masuk dalam tubuh manusia, sebesar 0,5 mg/kg (BSN, 2009).
- Conversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis hewan uji “mencit” dikali 0,0026.

$$\begin{aligned} \text{Dosis arsen untuk mencit (20 g)} &= 0,5 \times 0,0026 \\ &= 0,013 \text{ mg/20 gram BB mencit} \end{aligned}$$

Larutan stock 0,005% :

$$\frac{\text{Bb mencit (gram)}}{20 \text{ gram}} \times 0,013 = \text{mg/20 gram BB mencit}$$

$$\rightarrow \frac{20 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 0,013 = 0,013 \text{ mg/20 g BB mencit}$$

Volume pemberian:

$$\frac{0,013}{0,5} \times 10 = 0,26 \text{ ml} \rightarrow \text{untuk 1 mencit dengan berat badan 20 g}$$

$$\rightarrow \frac{22 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 0,013 = 0,014 \text{ mg/20 g BB mencit}$$

Volume pemberian:

$$\frac{0,014}{0,5} \times 10 = 0,28 \text{ ml} \rightarrow \text{untuk 1 mencit dengan berat badan 22 g}$$

Setiap berat badan dihitung berapa volume yang akan di oralkan. Berat badan yang harus dihitung mulai : 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 37, 37.

➤ Timbal

- Volume tampung lambung mencit mulai 0-1 ml.
- Timbal tidak memiliki batas normal di dalam plasma manusia. Namun, kadar timbal dalam plasma darah diatas 0,10 mg/L sudah dianggap toksik dan memiliki efek merusak pada tubuh manusia. Negara-negara maju telah menetaokan kadar maksimal timbal di dalam darah pada batas 0,1 mg/L untuk anak-anak dan 0,15 mg/L untuk dewasa (CDC, 2000).

- Timbal yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan standar dari garam yang masuk dalam tubuh manusia, sebesar 10 mg/kg (BSN, 2009).
- Conversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis hewan uji “mencit” dikali 0,0026.

$$\begin{aligned} \text{Dosis timbal untuk mencit (20 g)} &= 10 \times 0,0026 \\ &= 0,026 \text{ mg/20 gram BB mencit} \end{aligned}$$

Larutan stock 0,01% :

$$\frac{\text{Bb mencit (gram)}}{20 \text{ gram}} \times 0,026 = \text{mg/20 gram BB mencit}$$

$$\rightarrow \frac{18 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 0,026 = 0,023 \text{ mg/18 g BB mencit}$$

Volume pemberian:

$$\frac{0,023}{1} \times 10 = 0,23 \text{ ml} \rightarrow \text{untuk 1 mencit dengan berat badan 18 g}$$

$$\rightarrow \frac{20 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 0,026 = 0,026 \text{ mg/20 g BB mencit}$$

Volume pemberian:

$$\frac{0,026}{1} \times 10 = 0,26 \text{ ml} \rightarrow \text{untuk 1 mencit dengan berat badan 20 g}$$

Setiap berat badan dihitung berapa volume yang akan di oralkan. Berat badan yang harus dihitung mulai : 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 37, 37.

Lampiran 3. Gambar alat dan bahan

Timbangan analitik



Sonde lambung

Lampiran 4. Gambar praktek hitung jumlah limfosit



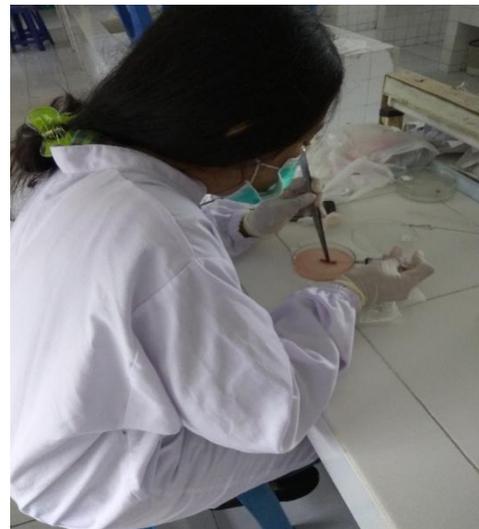
Papan bedah



Proses bedah untuk mengambil organ limpa



Limpa diletakkan di cawan petri yang berisi media RPMI



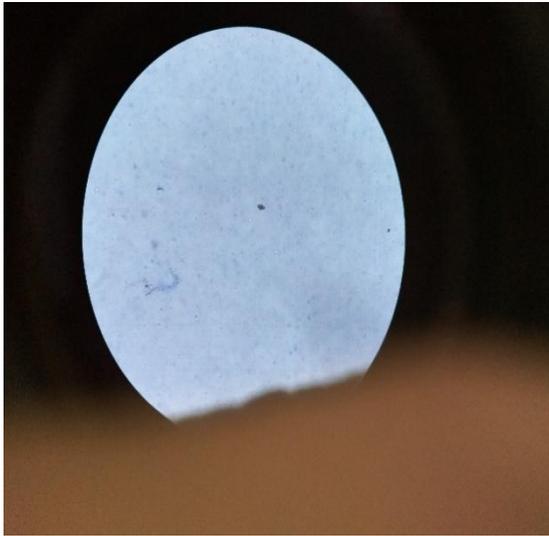
Proses pengambilan limfosit



Suspensi sel limfosit



pengamatan dan perhitungna jumlah limfosit



Gambar limfosit dalam kamar hitung

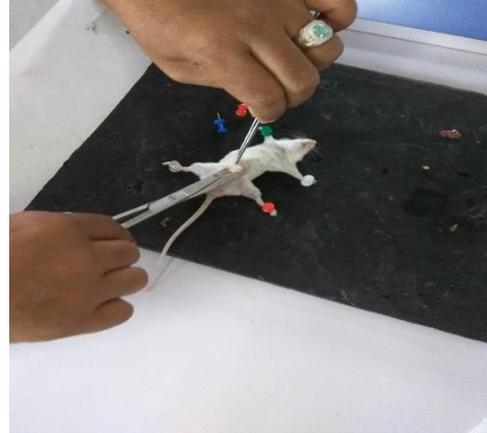


Media RPMI

Lampiran 5. Gambar Praktek uji histopatologi lambung



Papan bedah



Proses bedah



Jaringan di dalam kaset



Proses jaringan dalam Tissue processor



Jaringan setelah diproses



pengeblokan / Embedding



Pemotongan dengan mikrotom



pengambilan jaringan dalam waterbath



Proses pengecatan



proses pengecatan



Proses setelah pewarnaan



hasil preparat setelah pewarnaan



proses pengamatan jaringan

Lampiran 6. Hasil penimbangan berat badan hewan uji mencit dan volume pemberian

Tabel 3. Berat badan mencit (gram)

Kelompok perlakuan	Berat badan mencit (gram)		
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3
Kelompok kontrol negatif	31	31	30
	33	35	35
	30	32	31
	30	25	
	33	35	
	30	34	
Kelompok arsen	34	33	30
	28	33	35
	31	33	29
	34	30	
	33	31	
	31	29	
Kelompok timbal	35	35	29
	28	37	33
	33	30	31
	31	32	
	33	34	
	33	30	

Tabel 4. Berat badan dan jumlah volume perlakuan

perlakuan	Berat badan mencit minggu ke-1	Volume pemberian (ml)	Berat badan mencit minggu ke-2	Volume pemberian (ml)	Berat badan mencit minggu ke-3	Volume pemberian (ml)
Kelompok kontrol negatif	30-31	Tidak dilakukan perlakuan yang istimewa	24-25	Tidak dilakukan perlakuan yang istimewa	30-31	Tidak dilakukan perlakuan yang istimewa
	32-33		30-31			
			32-33			
	36-37		34-35			
			36-37		34-35	
Kelompok arsen					20-21	0,26
			26-27	0,34		
	28-29	0,36	28-29	0,36	28-29	0,36
	30-31	0,38	30-31	0,38	30-31	0,38
	32-33	0,4	32-33	0,4	32-33	0,4
	34-35	0,44			34-35	0,44
	36-37	0,48				
Kelompok timbal					22-23	0,28
	28-29	0,36	28-29	0,36	28-29	0,36
	30-31	0,39	30-31	0,39	30-31	0,39
	32-33	0,41	32-33	0,41	32-33	0,41
	34-35	0,44	34-35	0,44	34-35	0,44
			36-37	0,48		

Tabel 5. Data mentah jumlah limfosit

Kelompok perlakuan	Jumlah limfosit	
	Minggu ke-2	Minggu ke-4
Kelompok kontrol negatif	509,75	979,5
	361	1094,75
	453,75	765,5
Kelompok perlakuan arsen	1652,5	772,75
	1194,75	658,5
	984,5	778
Kelompok perlakuan timbal	1617	613,75
	1079,75	799
	850,5	494,74

Tabel 6. Hasil rata-rata dan standar deviasi dari penelitian ini.

perlakuan	jumlah	Waktu pemaparan			
		Minggu ke-2	SD	Minggu ke-4	SD
Kontrol negatif	1	5.097.500	751.278,1	9.795.000	1.670.748,959
	2	3.610.000		10.947.500	
	3	4.537.500		7.655.000	
	Rata-rata	4.415.000		9.465.833	
Arsen	1	16.525.000	3.415.563	7.727.500	675.289
	2	11.947.500		6.585.000	
	3	9.845.000		7.780.000	
	Rata-rata	12.772.500		7.364.166,7	
Timbal	1	16.170.000	3.934.284	6.137.500	1.533.270,4
	2	10.797.500		7.990.000	
	3	8.505.000		4.947.400	
	Rata-rata	11.824.167		6.358.300	

Lampiran 7. Hasil analisis statistik jumlah hitung limfosit

Tabel 7. Normalitas dan homogenitas hasil dari minggu ke-2 dan ke-4

Tests of Normality							
	Code	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Jumlahlimfosit	kelompok kontrol negatif M2	,244	3	.	,972	3	,677
	kelompok kontrol negatif M4	,245	3	.	,971	3	,673
	kelompok perlakuan arsen M2	,262	3	.	,956	3	,598
	kelompok perlakuan arsen M4	,371	3	.	,783	3	,074
	kelompok perlakuan timbal M2	,270	3	.	,949	3	,565
	kelompok perlakuan timbal M4	,224	3	.	,984	3	,761

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji shapiro-wilk terhadap data jumlah limfosit minggu ke-2 dan ke-4 masing-masing kelompok $> 0,05$, berarti setiap data yang ada pada masing-masing kelompok berdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji t-test (*independent t test*).

Test of Homogeneity of Variances

Jumlahlimfosit			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,801	5	12	,067

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,067 > 0,05$ yang berarti jumlah limfosit hari ke-2 dan ke-4 memiliki varians yang homogen.

Tabel 8. Tabel uji *independent t test*

HO : Tidak ada pengaruh paparan arsen dan timbal terhadap jumlah limfosit

Ha : Ada pengaruh paparan arsen dan timbal terhadap jumlah limfosit

1. Kelompok kontrol negatif (M2) dengan kelompok perlakuan arsen (M2)

Group Statistics					
	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah limfosit	kelompok kontrol negatif M2	3	4427000,00	754493,704	435607,143
	kelompok perlakuan arsen M2	3	12772500,00	3415562,728	1971976,061

Independent Samples Test										
	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah limfosit	Equal variances assumed	4,782	,094	-4,132	4	,014	8345500,000	2019515,577	-13952574,139	2738425,861
	Equal variances not assumed			-4,132	2,195	,046	8345500,000	2019515,577	-16336240,548	354759,452

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances 0,094 >

0,05 yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok kontrol negatif (M2) dengan kelompok arsen (M2) memiliki varian yang homogen.

- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji independent sample t test $0,014 < 0,05$. (terdapat perbedaan yang signifikan).

2. Kelompok kontrol negatif (M2) dengan kelompok perlakuan timbal (M2)

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah limfosit	kelompok kontrol negatif M2	3	4427000,00	754493,704	435607,143
	kelompok perlakuan timbal M2	3	11824166,67	3934283,872	2271459,852

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah limfosit	Equal variances assumed	5,512	,079	-3,198	4	,033	-7397166,667	2312851,799	-13818672,723	975660,610
	Equal variances not assumed			-3,198	2,147	,078	-7397166,667	2312851,799	-16723661,387	1929328,054

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances $0,079 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok kontrol negatif (M2) dengan kelompok timbal (M2) memiliki varian yang homogen.
- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji independent sample t test $0,033 < 0,05$. (terdapat perbedaan yang signifikan).

3. Kelompok kontrol negatif (M4) dengan kelompok perlakuan arsen (M4)

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah limfosit	kelompok kontrol negatif M4	3	9465833,33	1670748,959	964607,361
	kelompok perlakuan arsen M4	3	7364166,67	675288,519	389878,008

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
Jumlah limfosit	2,161	,215	2,020	4	,113	2101666,667	1040419,253	-787000,276	4990333,609	
			2,020	2,636	,149	2101666,667	1040419,253	-1483291,387	5686624,720	

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances $0,215 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok kontrol negatif (M4) dengan kelompok arsen (M4) memiliki varian yang homogen.
- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji independent sample t test $0,113 > 0,05$. (tidak terdapat perbedaan yang signifikan).

4. Kelompok kontrol negatif (M4) dengan kelompok timbal (M4)

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlahlimfosit	kelompok kontrol negatif M4	3	9465833,33	1670748,959	964607,361
	kelompok perlakuan timbal M4	3	6358300,00	1533270,416	885234,088

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlahlimfosit	Equal variances assumed	,036	,858	2,374	4	,077	3107533,33	1309238,997	-527496,871	6742563,538
	Equal variances not assumed			2,374	3,971	,077	3107533,33	1309238,997	-538039,839	6753106,506

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances 0,858 > 0,05 yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok kontrol negatif (M4) dengan kelompok timbal (M4) memiliki varian yang homogen.

- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji independent sample t test $0,077 > 0,05$. (tidak terdapat perbedaan yang signifikan).

5. Kelompok perlakuan arsen (M2) dengan kelompok perlakuan arsen (M4)

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlahlimfosit	kelompok perlakuan arsen M2	3	12772500,00	3415562,728	1971976,061
	kelompok perlakuan arsen M4	3	7364166,67	675288,519	389878,008

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlahlimfosit	Equal variances assumed	5,059	,088	2,691	4	,055	5408333,333	2010147,866	-172731,871	10989398,537
	Equal variances not assumed			2,691	2,156	,106	5408333,333	2010147,866	-2667378,680	13484045,346

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances $0,088 >$

0,05 yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok arsen (M2) dengan kelompok arsen (M4) memiliki varian yang homogen.

- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji independent sample t test $0,055 > 0,05$. (tidak terdapat perbedaan yang signifikan).

6. Kelompok kontrol timbal (M2) dengan kelompok timbal (M4)

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlahlimfosit	kelompok perlakuan timbal M2	3	11824166,67	3934283,872	2271459,852
	kelompok perlakuan timbal M4	3	6358300,00	1533270,416	885234,088

Independent Samples Test

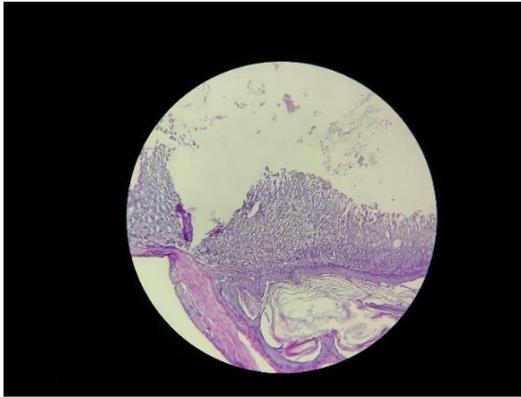
	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlahlimfosit	Equal variances assumed	2,836	,167	2,242	4	,088	5465866,667	2437861,614	-1302722,280	12234455,613
	Equal variances not assumed			2,242	2,594	,125	5465866,667	2437861,614	-3027193,483	13958926,816

- Dari hasil uji independent sample t test, dilihat nilai signifikansi dari Levene's Test for Equality of Variances yang menunjukkan homogen tidaknya suatu sampel. Nilai signifikansi Levene's Test for Equality of Variances $0,167 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit kelompok timbal (M2) dengan kelompok timbal (M4) memiliki varian yang homogen.
- Karena data homogen maka nilai Sig. (2-tailed) yang dilihat yaitu Equal variances assumed. Diperoleh nilai signifikansi dari uji *independent sample t test* $0,088 > 0,05$. (tidak terdapat perbedaan yang signifikan).

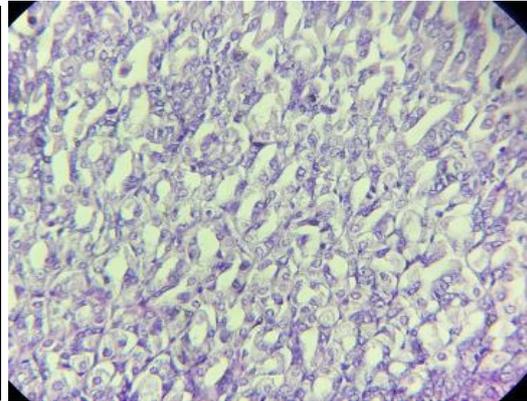
Lampiran 8. Foto hasil Uji histopatologi lambung

Kelompok perlakuan minggu ke-2

Kontrol negatif

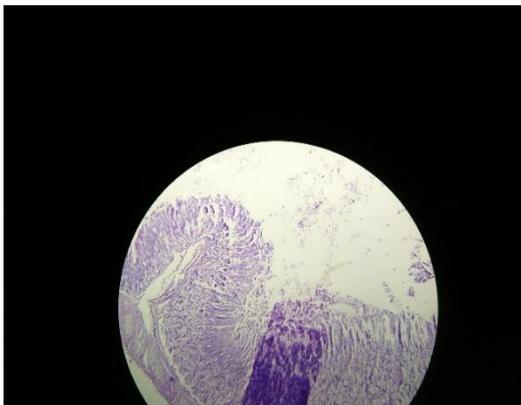


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x

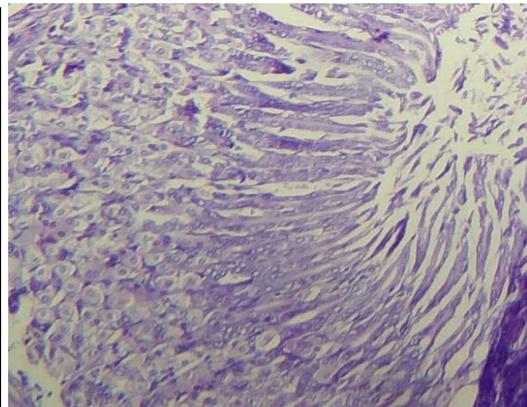


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

Arsen

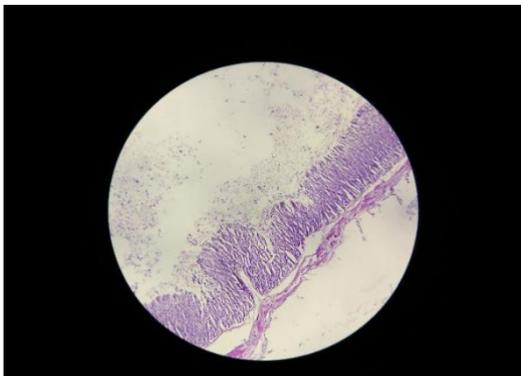


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x

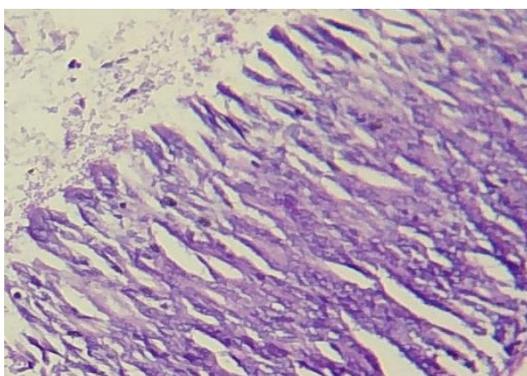


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

Timbal



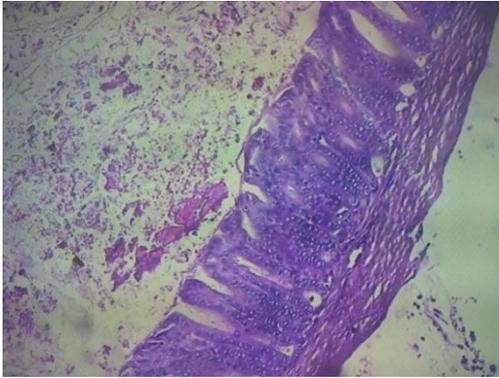
Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x



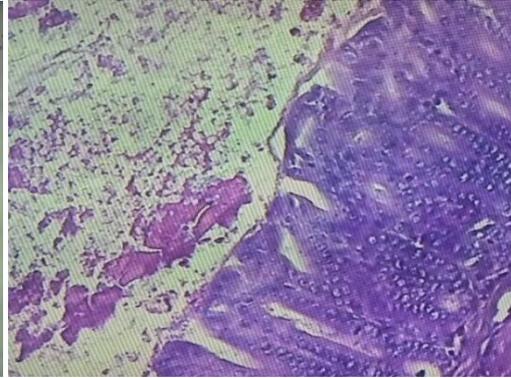
Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

Kelompok perlakuan minggu ke-4

Control negatif

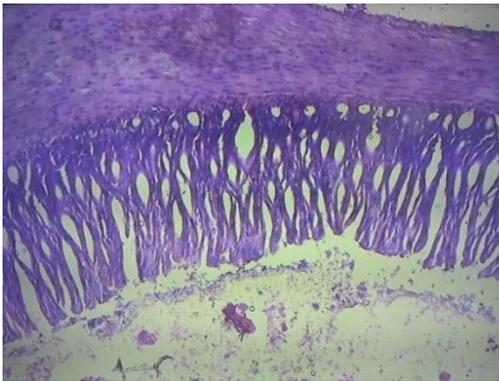


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x

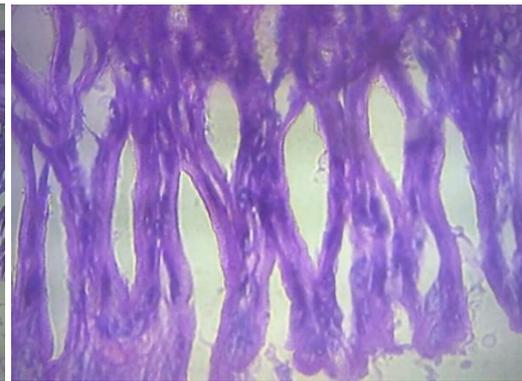


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

Arsen

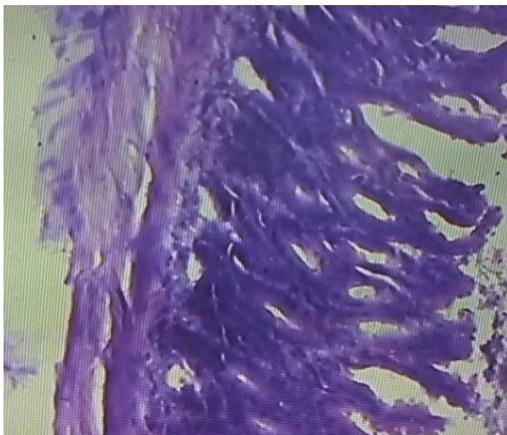


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x

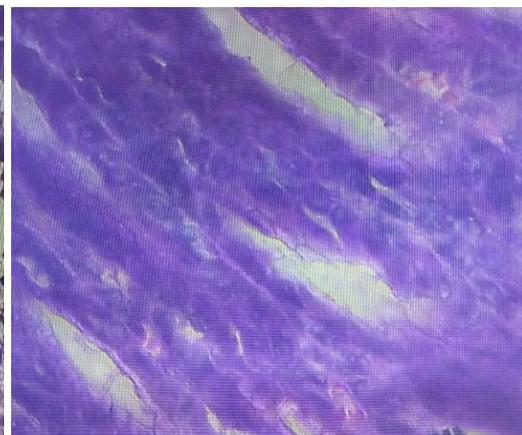


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

Timbal



Gambar histologi lambung dalam perbesaran 10x

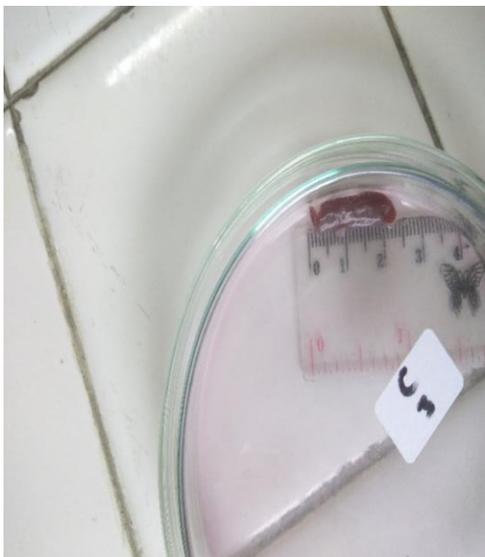
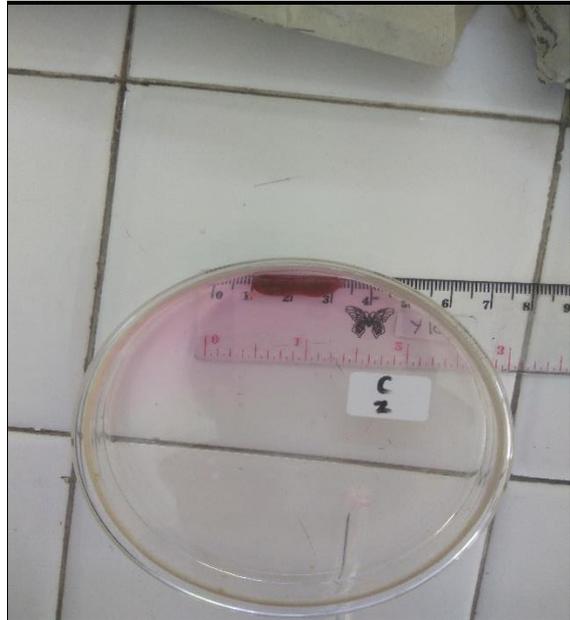
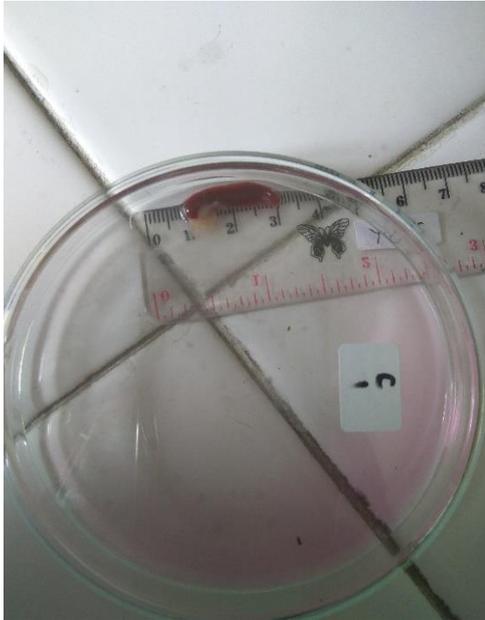


Gambar histologi lambung dalam perbesaran 40x

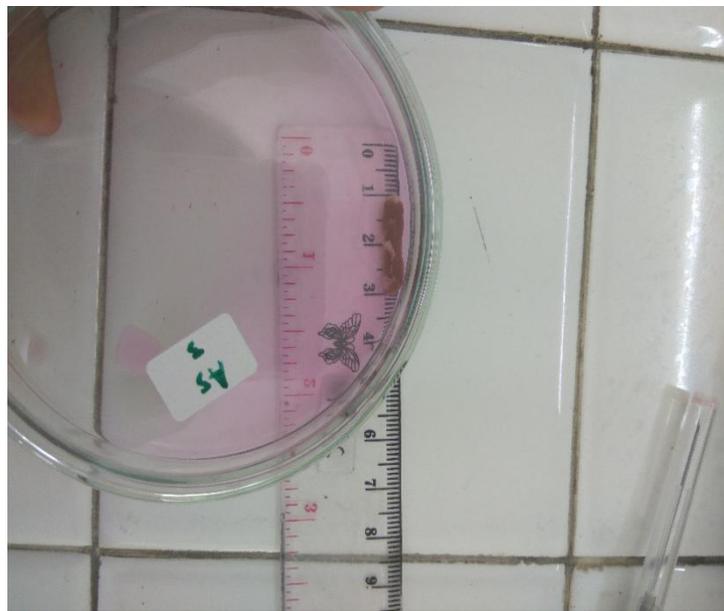
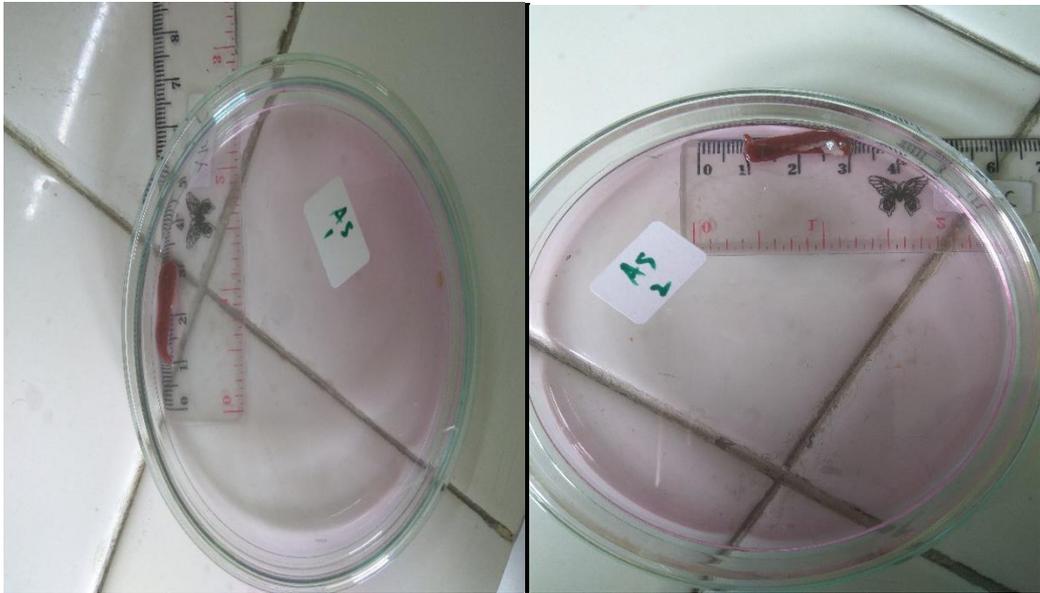
Lampiran 9. Foto ukuran limpa

Minggu ke-2

Kelompok kontrol



Kelompok arsen

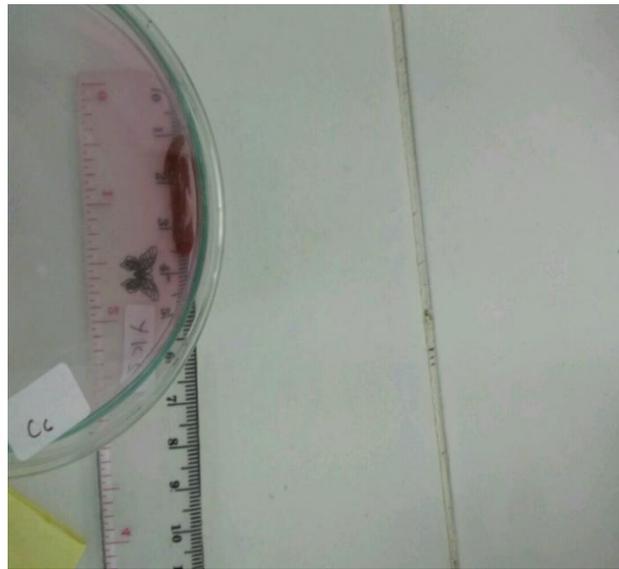
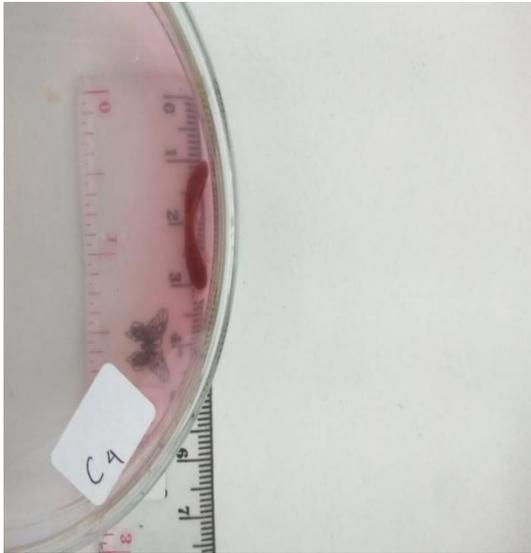


Kelompok timbal

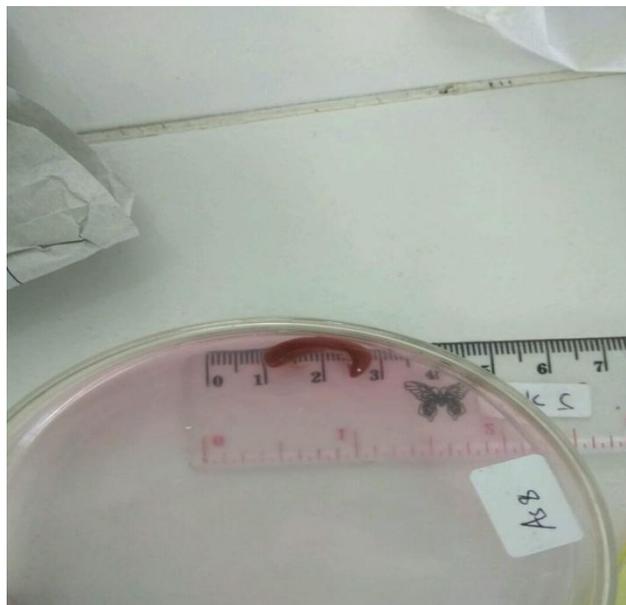
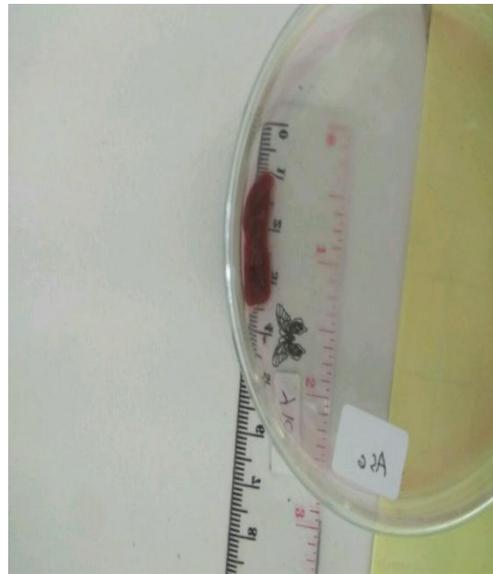


Manggu ke-4

Kelompok kontrol negatif



Kelompok arsen



Kelompok timbal

