ISSN : 2087-4847

KESEHATAN

MULTI SCIENCE

SITI KHADIJAH

JURNAL ILMIAH MULTI SCIENCE

- Hubungan Faktor Risiko dan Angka Kejadian Obesitas di SMPN 1 Palembang Tahun 2012 — 1 - 8
  Ranti Amelya S, Achmad Ridwan, Ertati Suarni
- Pengaruh Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma Zedoaria Rosc.berg*) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Spraque Dawley® — 9 - 20
  Setiawan, Arsyad, dan Saini
- Hubungan Pola Asupan Gizi Terhadap Kesehatan Lansia di Puskesmas Pengandonan Kecamatan Pengandonan Kabupaten OKU Tahun 2013 — 21 - 30
  Umar Hasan Martadinata,SKM.M.kes
- Pengaruh Medium dan Suhu Terhadap Pertumbuhan Jamur *Lentinus* spp. Dalam Usaha Mencari Kondisi Pertumbuhan Optimal — 31 - 36
  Yunilda Rosa, Lisdar A.manaf I. Sudirman dan Fahrizal Hazra
- Hubungan Antara Motivasi dan Minat Mahasiswa Dengan Evaluasi Hasil Belajar Mata Kuliah Asuhan Kebidanan I (Kehamilan) Tentang Kebutuhan Fisiologis Ibu Hamil Pada Mahasiswa Semester II PS DIII Kebidanan Kelas A Reguler Universitas Kader Bangsa Palembang - Tahun 2009 — 37 - 43
  Meta Rosdiana
- Hubungan Antara Pendidikan dan Status Ekonomi Dengan Kejadian Anemia Pada Ibu Hamil di Puskesmas Swakelola Merdeka Palembang Tahun 2013 — 44 - 49
  Marta Pastari
- Efek Asam Metoksiasetat (MAA) Terhadap Indeks Mitosis dan Blastosis Abnormal Mencit (*Mus Musculus*) Swiss Webter — 50 - 57
  Riyanto, Siti Sudarwati dan Sony Heru Sumarsono
- Perbedaan Tindakan Sebelum dan Sesudah Pelaksanaan Terapi Aktivitas Kelompok Pada Pasien Skizofrenia Dengan Halusinasi di Ruang Bangau RS Dr. Ernaldi Bahar Palembang Tahun 2013. — 58 - 67
  Bonggo Pribadi, Zuhana
- Hubungan *Diapers* Terhadap *Toilet Training* Usia *Toddler* di Paud Al-Irsyad Al-Islamiah dan Anak Soleh Kabupaten Rejang Lebong Tahun 2013 — 68 - 77
  H. Rustam Aji

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
(STIK) SITI KHADIJAH
PALEMBANG

EFEK ASAM METOKSIASETAT (MAA) TERHADAP INDEKS MITOSIS DAN BLASTOSIS ABNORMAL MENCIT (*MUS MUSCULUS*) SWISS WEBTER

Oleh :
Riyanto[1], Sri Sudarwati[2] dan Sony Heru Sumarsono[2]
[1] Dosen Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan
[2] Program Studi Biologi *Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH), Institut Teknologi Bandung (ITB), Jalan Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia*
E-mail: riyanto1970@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian tentang indeks mitosis dan blastosis abnormal mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster akibat perlakuan MAA telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek MAA terhadap indeks mitosis dan blastosis abnormal mencit (*Mus musculus*) Swiss Webter. Embrio mencit tahap blastosis dikoleksi dari induk mencit yang disuperovulasi dengan PMSG (Folligon) 5 I.U./ekor dan hCG (Chorulon) 5 I.U./ekor. Kelompok perlakuan mencit umur kebuntingan 2 hari diberi MAA dosis 2,5 mmol/kg bb secara *gavage*, sedangkan kelompok kontrol hanya diberi pelarut MAA. Koleksi blastosis dilakukan pada mencit bunting 3,5 hari yang dibunuh dengan cara dislokasi leher. Dua jam sebelum mencit dibunuh, mencit diberi kolkhisin 2 mg/kg bb secara intraperitoneal. Pengamatan sel bermitosis dan jumlah blastomer penyusun blastosis diperoleh dari blastosis hasil disagregasi. Indeks mitosis blastosis mencit dihitung dengan cara menghitung jumlah blastomer yang sedang bermitosis dibagi dengan total blastomer blastosis. Hasil pengamatan menunjukkan, bahwa pemberian MAA dapat menurunkan indeks mitosis, jumlah blastomer blastosis, jumlah blastomer yang sedang bermitosis dan jumlah fase metafase secara nyata ($p<0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, MAA cenderung meningkatkan persentase blastosis abnormal seperti blastosis fragmentasi, blastomer berdegenerasi, zona pelusida + debris, blastosis tanpa zona pelusida dan ukuran blastomer tidak sama besar. Dapat disimpulkan bahwa, MAA bersifat sitotoksik karena menurunkan indeks mitosis blastosis mencit secara nyata serta cenderung meningkatkan persentase blastosis abnormal seperti fragmentasi, blastomer berdegenerasi, zona pelusida + debris, blastosis tanpa zona pelusida dan ukuran blastomer tidak sama besar.

Kata Kunci: Asam Metoksiasetat (MAA), Indeks Mitosis, Blastosis Abnormal, Blastosis dan *Mus Musculus*

PENDAHULUAN

Asam metoksiasetat (MAA) merupakan metabolit primer 2- metoksietanol (2-ME) dan merupakan agen terakhir turunan Dimektosietil ftalat (DMEP) bersifat embriotoksik dan teratogenik. 2-ME adalah hasil metabolisme DMEP yang masuk ke dalam tubuh mamalia. Jadi dapat dikatakan DMEP yang merupakan bahan peletur plastik ini, 2-ME dan MAA memiliki sifat yang sama menyebabkan kelainan perkembangan. Pada molaritas MAA, 2-ME dan DMEP memiliki efek yang sama bila diberikan pada tikus Wistar umur kebuntingan 12 hari, yaitu menyebabkan kelainan ekor, kelainan jantung, hidronefrosis dan anggota tubuh pendek (Hays *et al.*, 2000).

MAA dilaporkan dapat mempengaruhi perkembangan embrio tahap praimplantasi dan pascaimplantasi. Menurut Ruyani *et al.* (2003) bahwa MAA dapat mempengaruhi perkembangan embrio mencit, artinya embrio sangat rentan terhadap MAA. Menurut Irnidayanti (2011) pemberian 2-ME pada mencit black 6 umur kebuntingan 10 hari secara intraperitoneal dengan dosis 7,5 mmol/kg bb dapat meningkatkan ekspresi protein vimentin. Diketahui bahwa protein vimentin diperlukan untuk perbaikan jaringan yang rusak pada tunas anggota. Pemberian MAA dengan dosis 4 dan 6 mmol/kg bb atau 2-ME 6 dan 10 mmol/kg bb pada induk mencit SLc:ICR umur kebuntingan 0 hari secara subkutan dapat meningkatkan blastosis abnormal dan embrio yang berdegenerasi secara nyata (Darmanto, 1994a). Selain itu, Darmanto (1994b) juga melaporkan bahwa penambahan 2-ME atau MAA dengan konsentrasi 0,1, 1 atau 10 mM pada medium kultur embrio tahap 2 sel dan dikultur selama 60 jam hanya MAA yang dapat meningkatkan embrio abnormal secara nyata.

Zat yang bersifat embriotoksik dan teratogenik dapat menurunkan atau menaikkan indeks mitosis embrio tahap praimplantasi. Pemberian siklofosfamid (CPA) pada induk mencit CBA 60 jam setelah kopulasi dengan dosis 4, 20 dan 60 mg/kg bb secara subkutan menyebabkan terjadinya penurunan jumlah blastomer blastosis serta cenderung meningkatkan indeks mitosis (Kola *et al.*, 1986). Berbeda dengan hasil penelitian Kola dan Folb (1986) bahwa pemberian klorpromazin pada induk mencit CBA 56 jam setelah kopulasi,dengan dosis 10 atau 15 mg/kg bb secara subkutan dapat menurunkan indeks mitosis dan jumlah blastomer penyusun blastosis secara nyata. MAA yang diketahui bersifat embriotoksik dan teratogenik apakah juga dapat mempengaruhi indeks mitosis dan blastosis abnormal mencit Swiss Webster. Oleh karena itu, perlu diketahui bagaimana efek MAA terhadap indeks mitosis dan blastosis abnormal mencit (*Mus musculus*) Swiss Webter.

BAHAN DAN METODE

Superovulasi Mencit Betina Dewasa

Hewan yang digunakan adalah mencit Swiss Webster hasil pembiakkan di Rumah Hewan Sekolah Tinggi Ilmu hayati (STIH) Institut Teknologi Bandung (ITB). Tujuan pembiakan untuk mendapatkan mencit betina dengan umur dan berat yang sama. Mencit betina yang digunakan sebanyak 30 ekor dengan berat

badan 25-30 gram dan berumur antara 10-12 minggu. Mencit jantan yang digunakan juga sebanyak 30 ekor berumur 12-14 minggu. Rumah hewan mencit diberi penerangan listrik dari pukul 06.00-18.00 WIB. Mencit betina dewasa disuperovulasi dengan hormon PMSG (Folligon) dan hormon hCG (Chorulon) kemudian dikawinkan dengan mencit jantan pada sore harinya, bila pada pagi hari ditemukan sumbat vagina mencit betina dinyatakan bunting 0 hari (Hogan, 1986; Taylor, 1987).

Perlakuan MAA

Bahan uji adalah asam metoksiasetat (MAA) cair yang diproduksi oleh Wako Pure Chemical Industries Ltd dengan pelarut akuabides steril. Mencit betina umur kebuntingan 2 hari diberi pelarut MAA yaitu akuabides steril sebanyak 0,1 ml/10 g bb selanjutnya dikategorikan sebagai kelompok kontrol, sedangkan kelompok perlakuan diberi MAA dosis 2,5 mmol/kg bb secara *gavage* sebanyak 0,1 ml/10 g bb. Mencit perlakuan dan kontrol selanjutnya dipelihara sampai umur kebuntingan 3,5 hari.

Koleksi Blastosis dan Blastosis Abnormal

Untuk mendapatkan blastomer yang sedang mengalami pembelahan mitosis, mencit kelompok kontrol dan perlakuan diberi kolkhisin dosis 2 mg/kg bb secara intraperitoneal dengan volume 0,1 ml/10 gram bb dua jam sebelum dislokasi leher (Kola *et al.*, 1986; Stern, 1979). Mencit betina umur kebuntingan 3,5 hari diangkat organ uterus. Lalu uterus diletakkan di dalam kaca arloji yang bersisi PBS. Kedua ujung tanduk uterus dipotong, dengan menggunakan jarum 26 G dan "syringe" 1 ml dibilas (*flushing*) dengan PBS yang ditampung di kaca arloji kering. Di bawah mikroskop bedah, blastosis mencit yang didapatkan diseleksi termasuk blastosis abnormal.

Pengamatan Indeks Mitosis Blastosis

Pengamatan indeks mitosis digunakan metode pewarnaan kromosom dan inti sel (Tarkowski, 1966). Prosedur sebagai berikut: 1. Satu per satu blastosis dipindahkan dari kaca arloji ke kaca objek menggunakan pipet yang dikontrol dengan mulut. Untuk melepaskan zona pelusida diteteskan satu tetes larutan Tyrode pH 2,5 (Hogan *et al.*, 1986). Setelah zona pelusida luruh untuk menghilangkan larutan Tyrode pH 2,5 secepatnya dicuci dengan meneteskan larutan NaCl 0,9 % sebanyak tiga kali. Selanjutnya larutan Tyrode pH 2,5 atau NaCl 0,9 % dihisap dengan kertas saring. Setelah larutan dihisap, kemudian ditetskan larutan hipotonik natrium sitrat 0,7 % beberapa tetes dan dibiarkan selama 20 menit. Setelah sel-sel penyusun blastosis terlihat mengembang, lalu kelebihan larutan hipotonik dihisap dengan kertas saring. Blastosis difiksasi dengan meneteskan fiksatif campuran methanol dan asam asetat glasial (3:1) beberapa tetes, sehingga blastomer penyusun blastosis menyebar. 2. Sediaan dikeringanginkan, selanjutnya diwarnai dengan larutan giemsa 2,5 % selama 10 menit, lalu dicuci dengan air yang mengalir dan dikeringkan. 3. Dengan menggunakan mikroskop, jumlah blastomer penyusun blastosis dihitung atas dasar jumlah inti dan jumlah blastomer yang sedang

bermitosis yang terwarnai. 4. Indeks mitosis dihitung dengan cara menghitung jumlah blastomer yang sedang bermitosis dibagi dengan total sel penyusun blastosis (Kola dan Folb, 1986).

Analisis Data

Untuk mengetahui adanya pengaruh MAA terhadap indeks mitosis dan blastosis abnormal digunakan uji statistik "Wilcoxon's rank sum test" untuk data non-parametrik dan data parametrik digunakan uji t-Student (Wilcoxon dan Wilcox, 1965).

HASIL

Efek MAA Terhadap Indeks Mitosis Blastosis Mencit Swiss Webster

Efek MAA yang diberikan pada induk mencit Swiss Webster umur kebuntingan 2 hari secara *gavage* dapat menurunkan indeks mitosis blastosis mencit Swiss Wesbter. Efek MAA terhadap indeks mitosis blastosis mencit Swiss Webster, hasilnya tercantum pada tabel 1.

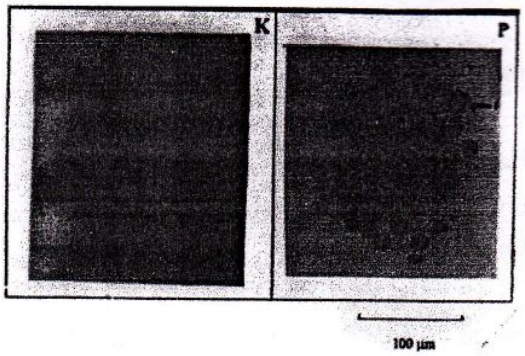
Tabel 1. Efek MAA terhadap indeks mitosis blastosis mencit Swiss Webster

Dosis MAA (mmol/kg bb)	Σ induk	Σ blastosis	Rerata Σ blastomer blastosis ($\bar{x}$ ± SEM)	Rerata Σ blastomer bermitosis ($\bar{x}$± SEM)	Indeks mitosis (%) ($\bar{x}$± SEM)	Rerata Σ fase metaphase ($\bar{x}$± SEM)
0 (kontrol)	15	47	55,48 ± 0,95	9,78 ± 0,53	17,78± 1,10	3,31± 0,53
2,5	15	47	48,17±1,57*	5,78± 0,36*	12,12± 0,82@	1,23± 0,21*

Keterangan: @ Berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (p<0,05), uji statistik "Wilcoxon's rank sum test".

*: Berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (p<0,05), uji t-Student.

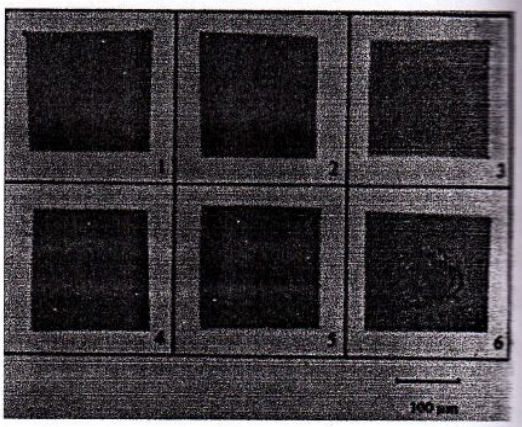
Jumlah blastomer blastosis pada kelompok perlakuan MAA (48,17 ± 1,57) menurun secara nyata (p<0,05) dibandikan dengan kontrol. Demikian juga jumlah blastomer yang bermitosis pada kelompok perlakuan MAA (5,78 ± 0,36) menurun secara nyata (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol (9,78 ± 0,53). Oleh karena itu, terjadi penurunan indeks mitosis pada kelompok perlakuan MAA (12,12 ± 0,82) secara nyata (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol (17,78 ± 1,10) (Gambar 1). Jumlah metafase pada kelompok perlakuan MAA adalah 1,23 ± 0,21 menurun secara nyata (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol (3,31 ± 0,53). Blastosis hasil disagregasi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan MAA dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 1. Blastosis mencit hasil disagregasi. K: Blastosis kelompok kontrol, P: Blastosis kelompok perlakuan MAA, M: Metafase, I: Inti sel.

Efek MAA Terhadap Blastosis Abnormal Mencit

Efek MAA yang diberikan pada induk mencit Swiss Webster umur kebuntingan 2 hari secara *gavage* salah satunya adalah cenderung meningkatkan blastosis abnormal (Tabel 2). Blastosis abnormal akibat perlakuan MAA terdiri dari blastomer berdegenerasi, blastosis fragmentasi, zona pelusida + debris, ukuran blastomer tidak sama besar dan blastosis tanpa zona pelusida (Gambar 2).



Gambar 2. Berbagai lastosis abnormal tahap praimplantasi mencit Swiss Webster. 1. Blastosis fragmentasi, 2. Blastomer berdegenerasi (↑), 3. Zona pelusida + *debris*, 4. Blastosis tanpa zona pelusida, 5 dan 6. Ukuran blastomer tidak sama besar.

Tabel 1. Efek MAA terhadap blastosis abnormal mencit Swiss Webster

Dosis MAA (mmol/kg bb)	Total Σ embrio (x ± SEM) (Σ induk)	Total Σ blastosis abnormal (%)	Jenis embrio abnormal (%) @				
			Blastosis fragmentasi	Blastomer berdegenerasi	Zona pelusida + *debris*	Blastosis tanpa zona pelusida	Ukuran blastomer tidak sama besar
0 (kontrol)	391 (26,00± 12,17) (15)	15 (3,80)	6 (0,015)	1 (0,0025)	3 (0,0076)	4 (0,010)	1 (0,0025)
2,5 (Perlakuan)	438 (29,20±19,22) (15)	51 (11,60)	21 (0,047)	3 (0,0068)	11 (0,025)	13 (0,029)	3 (0,0068)

Keterangan: * Berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol ($p<0,05$), @ uji statistik *Wilcoxon's rank sum test.*

Dari Tabel 2 memperlihatkan persentase blastosis abnormal mencit Swiss Webster pada kelompok perlakuan MAA (11,60%) meningkat secara tidak nyata ($p<0,05$) dibandingkan kelompok kontrol (3,80). Persentase blastosis abnormal jenis fragmentasi (0,047), blastomer berdegenerasi (0,0068), zona pelusida + *debris* (0,025), blastosis tanpa zona pelusida (0,029) dan ukuran blastomer tidak sama besar (0,0068) kelompok perlakuan MAA cenderung meningkat dibandingkan dengan kontrol. Jenis blastosis abnormal ditemukan paling banyak adalah fragmentasi (0,047) diikuti oleh blastosis tanpa zona pelusida (0,029), zona pelusida + debris dan blastomer berdegenerasi (0,0068) yang sama persentasenya dengan ukuran blastomer tidak sama besar (0,0068).

PEMBAHSAN

Pada penelitian ini MAA dosis 2,5 mmol/kg bb yang diberikan secara *gavage* pada mencit Swiss Webster umur kebuntingan 2 hari dan selanjutnya pada umur kebuntingan 3,5 hari blastosis didisagregasi, hasilnya secara nyata menurunkan jumlah blastomer penyusun blastosis dan jumlah blastomer bermitosis. Indeks mitosis secara nyata menurun disebabkan oleh menurunnya secara nyata jumlah sel bermitosis (Tabel 1). Diduga penurunan indeks mitosis akibat hambatan mitosis pada blastomer akibat perlakuan MAA.

Menurunnya indeks mitosis disebabkan oleh terhambatnya sintesis DNA pada tahap interfase. Mebus dan Welsch (1989) menyatakan, bahwa MAA dapat mengganggu ketersediaan unit 1-karbon untuk sintesis basa purin dan pirimidin. Gangguan terhadap ketersediaan basa purin dan pirimidin tersebut dapat berpengaruh terhadap sintesis DNA atau RNA dan dapat mengganggu proliferasi sel secara normal dalam perkembangan embrio. Hal yang sama dilaporkan oleh Alberts (1993), bahwa sel mamalia yang sedang berada pada fase S, bila sintesis DNA dan DNA polymerase dihambat, maka sel tidak akan memasuki mitosis hingga hambatan hilang dan replikasi terjadi sempurna. Hasil serupa dilaporkan oleh Kola dan Folb (1986), bahwa pemberian klorpromazin dapat menurunkan indeks mitosis, karena terjadi hambatan sintesis DNA pada tahap interfase.

Jumlah blastomer blastosis yang diperoleh dari hasil perhitungan sel pada sediaan pewarnaan kromosom menurut Tarkowski (1966) membuktikan, bahwa pemberian dapat menurunkan jumlah blastomer blastosis. Hasil yang sama telah dilaporkan beberapa peneliti yang menggunakan teratogen seperti : CPA, klorpromazin, dan mikotoksin (Kola *et al.,* 1986; Kola dan Folb, 1986; Haryono, 1996; Sumarmin, 1998; Sukaryana. 1998). Pada penelitian ini MAA dapat menginduksi kematian sel blastomer blastosis sehingga dapat menurunkan jumlah blastomer blastosis. Pernyataan ini didukung oleh Ruyani (2003) bahwa perlakuan MAA dapat menyebabkan turunnya produksi LBP-p40 yang berperan dalam fragmentasi DNA. Fragmentasi DNA menginduksi kematian sel apoptosis pada lapisan lembaga mesoderm tunas anggota.

MAA dapat menyebabkan patogenesis blastomer blastosis dan merusak zona pelusida blastosis sehingga menyebabkan kecenderungan blastosis abnormal mencit Swiss

Webster. Menurut Darmanto (1994a) bahwa pemberian MAA pada induk mencit SLc:ICR umur kebuntingan 0 hari dengan dosis 4 dan 6 mmol/kg bb secara subkutan dapat meningkatkan blastosis abnormal dan embrio berdegenerasi. Pada penelitian ini, jenis blastosis abnormal fragmentasi, blastomer berdegenerasi, zona pelusida + *debris* dan ukuran blastomer tidak sama besar diduga akibat sipat patogenesis MAA terhadap blastomer blastosis, sedangkan embrio tanpa zona pelusida diduga akibat luruh atau rusaknya zona pelusida akibat MAA. Menurut Rasjad, dkk. (1991) MAA dapat menyebabkan patogenesis pada tunas anggota. Pendedahan MAA pada induk mencit Jcl:ICR umur kebuntingan 10,5, 11 atau 11, 5 hari dengan dosis tunggal 10 mmol/kg bb secara oral dan diamati 2, 4, dan 6 jam setelah perlakuan terbukti menyebabkan kematian sel-sel mesenkim maupun sel pematang ektoderm apika (AER). Oleh karena itu, dalam penelitian ini patogenesis blastomer menyebabkan blastomer mati akhirnya muncul embrio abnormal.

KESIMPULAN

MAA yang diberikan pada induk mencit Swiss Webster umur kebuntingan 2 hari secara *gavage* dengan dosis 2,5 mmol/kg bb dan diamati pada umur kebuntingan 3,5 hari bersifat sitotoksik, yaitu menurunkan indeks mitosis blastosis secara nyata serta cenderung meningkatkan blastosis abnormal jenis fragmentasi, blastomer berdegenerasi, zona pelusida + *debris*, blastosis tanpa zona pelusida dan ukuran blastomer tidak sama besar.

DAFTAR PUSTAKA

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J.D. 1993. *Molecular biology of the cell.* 3rd ed. Gerland Publ., Inc. New York & London. p. 888.

Darmanto, W., Kabir, N., Inouye, M., Takagishi, Y., and Yamamura, H. 1994a. Effects of 2-methoxyethanol and methoxyacetic acid on preimplantation mouse embryos *in vivo. Environ. Med.* 38 : 29-32.

Darmanto, W., Kabir, N., Inouye, M., Takagishi, Y., and Yamamura, H. 1994b. Effects of 2-methoxyethanol and methoxyacetic acid on preimplantation mouse embryos *in vitro. Environ. Med.* 38 : 33-36.

Haryono, A. 1996. Pengaruh T-2 toksin yang diberikan pada tahap praimplantasi yang terhadap perkembangan embrio praimplantasi dan fetus hidup mencit Swiss Webster. *Tesis.* Pascasarjana Biologi ITB.

Hays, S.M., Elswick, B.A., Blumenthal, G.M., Welsch, F., Conolly, R.B. dan Gargas, M.L., 2000. Development of a Physiologically Based Pharmacokinetic Model of 2-Methoxyethanol and 2-Methoxyacetic Acid Disposition in Pregnant Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology Vol. 163 No.* 1: 67–74

Hogan B, Constantini F, Lacy E. 1986. *Manipulation the Mouse Embryo, a Laboratory Manual.* New York: Cold-Spring Lab.

Irdayanti, Y., 2011. Ekspresi protein vimentin dan neurofilamen pada tunas anggota depan mencit black-6 umur kebuntingan 12 hari akibat induksi 2-metoksietanol secara real time RT-PCR. *Bioteknologi* Vol. 8 No. 2: 53-58.

Kola, I. and Folb, P.I. and Parker, M.I. 1986. Material administration of cyclophosphamide induces chromosomal aberrations and inhibits cell number, histone synthesis, and DNA synthesis in preimplantation mouse embryos. *Teratog. Carcinog. and Mutagen.* 6 : 115 – 127.

Kola, I. and Folb, P.I. 1986. Chloropromazine inhibits the mitotic index, cell number, and

formation of mouse blastocysts, and delays implantation of CBA mouse embryos. *J. Reprod. Fert.* 76 : 527 – 536.

Mebus, A.C. and Welsch, F. 1989. The possible role of one-carbon moieties in 2-methoxyethanol and methoxyacetic acid-induced developmental toxicity. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 99 : 98-109.

Rasjad, C., Yamashita, K., Datu, A.R., and Yusada, M. 1991. Pathogenesis of limb malformations in mice induced by methoxyacetic acid. *J. Med.Sci.* Vol 40: 101-107.

Ruyani, A., Sudarwati, S., Sutasurya, L.A., Sumarsono,, S.H.,dan Gloe, T., 2003. The Laminin Binding Protein p40 Is Involved in Inducing Limb Abnormality of Mouse Fetuses as the Effects of Methoxyacetic Acid Treatment. *Toxicological Sciences* **75,** 148–153.

Stern, C.D., 1979.**A Re-examination of mitotic activity in the early chick embryo.** *Anat. Embryol.* Vol. 156: 319-329.

Sukaryana, 1998. Pengaruh zearalenon terhadap perkembangan embrio praimplantasi dan fetus mencit (Mus musculus) Swiss Webster. *Tesis.* Pascasarjana Biologi ITB.

Sumarmin, R., 1998. Pengaruh rubratoksin B terhadap perkembangan embrio tahap praimplantasi dan fetus mencit (Mus musculus) Swiss Webster albino. *Tesis.* Pascasarjana Biologi ITB.

Tarkowski, A.K. 1996. An air-driying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics* 3 : 403 – 409.

Taylor, L.R., 1987. *Practical Teratology.* London: Acad Pr.

Wilcoxon, F. and Wilcox, R.A., 1965. *Some rapid approximate statistic procedures.* Lederle Laboratories. New York.