

ANALISIS PERTUMBUHAN SKELETON FETUS MENCIT (*Mus musculus* L.) SETELAH INDUKSI OKHRATOKSIN A PADA USIA KEBUNTINGAN 7-24 HARI

By Arum Setiawan

**ANALISIS PERTUMBUHAN SKELETON FETUS MENCIT (*Mus musculus* L.)
SETELAH INDUKSI OKHRATOKSIN A PADA USIA KEBUNTINGAN 7-24 HARI**

**GROWTH ANALYSIS OF FOETUSES MOUSE SKELETON AFTER OCHRATOXIN
A INDUCTION ON 7th-24th OF PREGNANCY**

Arum Setiawan ^{1*}, Elvi Rusmiyanto PW²

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya, Palembang^{1*}
setiawanarum@gmail.com

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak²

ABSTRACT

This experiment were performed to examine the effects of Ochratoxin A on growth and development of foetuses skeletal in pregnant mice at 7th-14 days of gestation. Twenty four pregnant mice were divided randomly into 4 groups of 6. Ochratoxin A was dissolved in sodium bicarbonat and administrated per oral on seventh to fifteenth days of gestation. Ochratoxin A was given orally at dosage of 0,5; 1,0 ; 1,50 mg/kg body weigth, respectively. The remaining animals were used as controls. At eighteenth days of gestations, the pregnant mice were sacrificed and caesarian sectioned to remove the foetuses. Foetuses skeletal growth and development were observed grossly using Alcian Blue-Alizarin Red S stain. Result of these studies indicated ochratoxin A given to the pregnant mice at the 7th-14 days of gestation caused retardation of the average number of osteon component (segment) of sternum, metacarpalia, metatarsalia and vertebrae caudalis.

Key words : foetuses, ochratoxin A, skeleton

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini bertujuan adalah untuk mengetahui pengaruh OA yang diberikan selama umur kebuntingan 7-14 hari terhadap perkembangan skeleton fetus mencit. 24 ekor mencit bunting dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak. Pada kelompok eksperimen, masing-masing perlakuan 0.5; 1.0 dan 1.5 mg OA (Sigma Chemicals Ltd) dilarutkan dalam 1 ml 0,1 M natrium bikarbonat, diberikan secara oral terhadap induk mencit bunting selama 7 hari mulai umur kebuntingan 7-14 hari. Pada kelompok kontrol, 1 ml 0,1 M sodium bikarbonat diberikan pada waktu yang sama. Pada umur kebuntingan 18 hari mencit dibedah untuk diambil fetusnya. Fetus mencit yang sudah dibersihkan kemudian dipreparasi dengan metode pewarnaan *Alcian Blue – Alizarin Red S*. Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa OA menyebabkan penurunan pertumbuhan skeleton fetus dengan indikasi penurunan jumlah ruas-ruas skeleton tulang dada, tulang telapak tangan, tulang telapak kaki dan tulang ekor.

Kata Kunci : Fetus, Ochratoksin A, Skeleton

1. PENDAHULUAN

Ochratoxin A (OA) merupakan suatu senyawa yang bersifat nefrotoksik, hepatotoksik, teratogenik, dan imunotoksik bagi beberapa spesies binatang serta bersifat karsinogenik bagi manusia. OA diproduksi oleh *Aspergillus ochraceus* dan *Penicillium verrucosum*. Jamur ini dapat tumbuh pada bahan makanan hasil pertanian dan peternakan seperti gandum, minyak tumbuhan, kopi, anggur dan daging unggas (Doyle *et al.* 2001). OA mempunyai struktur kimia yang mirip dengan struktur asam amino phenylalanine (Phe) sehingga menyebabkan OA bisa menghambat enzim Phe-tRNA synthetase yang berperan dalam sintesis protein (Marti, 2006).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai OA adalah bahwa OA menyebabkan penurunan jumlah sel purkinje cerebellum mencit (Setiawan *et al.*, 2011). OA menghambat pertumbuhan kartilago epifisial Os Tibia Fetus mencit (Setiawan *et al.*, 2012), menghambat pertumbuhan dan Perkembangan Otak Fetus Mencit, menyebabkan kerusakan struktur histologis hepar mencit (Setiawan *et al.*, 2013) dan menyebabkan penurunan koordinasi neuromuskular mencit pasca sapih (Setiawan *et al.*, 2014).

Skeleton dapat dibedakan menjadi endoskeleton dan eksoskeleton. Endoskeleton meliputi *skeleton axiale* dan *skeleton appendiculare*. *Skeleton axiale* terdiri atas *columna vertebralis*, *costae*, *sternum* dan *cranium*. *Skeleton appendiculare* terdiri atas *cingulum pectoral*, *cingulum pelviale*, *extremitas cranial* dan *extremitas caudale* (Junqueira & Cameiro, 2008). Pertumbuhan skeleton merupakan salah satu parameter yang sering diamati untuk melihat ada tidaknya efek teratogenik suatu teratogen. Menurut Inouye (1976), pengamatan perkembangan skeleton meliputi : jumlah dan tingkat osifikasi, pengamatan ada atau tidaknya osifikasi, serta ada tidaknya kecacatan pada struktur skeleton, misalnya : rusuk bergelombang, ada atau tidaknya rusuk atau jari-jari tambahan.

Skeleton mempunyai fungsi sebagai penunjang, pelindung tubuh, dan sebagai tempat penyimpanan Ca^{2+} . Di samping itu, tulang merupakan tempat pertautan otot dan tendon sebagai alat gerak. Proses kalsifikasi tulang diawali dengan penimbunan garam kalsium pada serabut kolagen yaitu suatu proses yang diinduksi oleh proteoglikan dan glikoprotein yang mengikat kalsium berafinitas besar (Junqueira & Cameiro, 2008).

OA memiliki kemampuan menurunkan aktifitas polimerase DNA, menginduksi mitosis pada sel-sel mammal sebelum replikasi DNA berakhir pada fase sintesis (S), dan menghambat aktifitas enzim fosfodiesterase, sehingga diduga OA dapat

menghambat osteogenesis endokondralis dalam kartilago epifisialis dan potensial untuk menimbulkan kelainan perkembangan (Ringot *et al.*, 2006). Dengan demikian maka penelitian yang bertujuan untuk mengetahui Pengaruh OA Terhadap Osteogenesis dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pembedahan Selama Periode Organogenesis sangat menarik untuk ditindaklanjuti.

2. METODE PENELITIAN.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : hewan uji yaitu 24 ekor mencit (*Mus musculus L.*) betina belum pernah bunting , umur 2 bulan , dengan berat 25 – 30 g , dan 5 ekor mencit (*Mus musculus L.*) jantan dewasa fertil. Hewan uji diberi pakan berupa pellet Par G. OA untuk perlakuan dan sodium bikarbonat sebagai pelarutnya . Bahan untuk preparasi skeleton yaitu : Alkohol 96 % , Pewarna Alcian Blue – Alizarin Red S, Aseton, KOH 1 % , Gliserin , %, Alkohol Absolut dan Alkohol 96 % .

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan masing-masing 6 ulangan. Sebelum perlakuan terlebih dahulu ditentukan dosis perlakuan OA. Tiga puluh ekor mencit betina bunting dikelompokkan menjadi 4 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit.

Dosis perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

- Kontrol (akuades)
- Perlakuan OA Dosis 0,5 mg/kg bb/hari.
- Perlakuan OA Dosis 1,0 mg/kg bb/hari.
- Perlakuan OA Dosis 1,5 mg/kg bb/hari.

Perlakuan diberikan secara oral dengan volume 1 ml selama 8 hari berturut-turut secara oral, yaitu mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-14 kebuntingan.

Pengamatan embrio dilakukan pada hari ke-18 kebuntingan dengan cara pembedahan bagian perut untuk mengeluarkan embrio dari uterus. Embrio dibersihkan dari cairan amnion yang menyelubunginya. Embrio yang hidup sekelahiran difiksasi dalam alkohol 96 % , selanjutnya dilakukan preparasi skeleton dengan metode pewarnaan Alcian Blue – Alizarin Red S (Metode Inouye, 1976).

Kelainan yang terjadi pada komponen *ekstremitas*, *costae*, *sternum*, dan *vertebrae* dicatat. Sedangkan tulang *metakarpalia*, *metatarsalia*, *sternum*, dan *vertebrae caudalis* dihitung jumlah penulangannya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

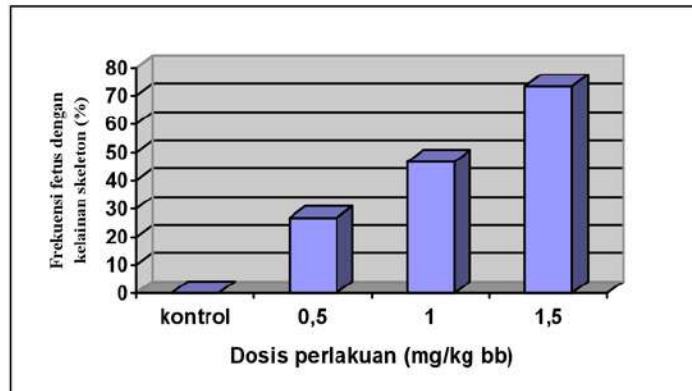
Secara umum, tingkat osifikasi skeleton diamati setelah dilakukan pengecatan menggunakan *Alcian Blue-Alizarin Red S*. Zat warna *Alizarin red's* akan mewarnai ruas tulang yang telah mengalami osifikasi secara sempurna (berwarna merah), sedangkan tulang yang belum mengalami osifikasi secara sempurna akan terwarnai oleh zat warna *Aldan blue* sehingga berwarna biru. Apabila komponen tulang tidak terwarnai berarti tulang tersebut masih bersifat tulang rawan. Pengamatan pertumbuhan skeleton ini dilakukan terhadap skeleton *axiale* yaitu pada *cranium*, *costae* dan *vertebrae caudalis*, serta pada *skeleton appendiculare* yang meliputi komponen *ekstremitas anterior* (ruas *metacarpalia*) dan komponen *ekstremitas posterior* (ruas *metatarsalia*).

Hasil pengamatan terhadap skeleton fetus dari induk bunting hari ke-18 yang diberi perlakuan OA menunjukkan terjadi kelainan pertumbuhan skeleton. Kelainan ini berupa terjadinya keterlambatan penulangan pada *cranium*, *sternum*, *vertebrae caudalis*, *metacarpalia* dan *metatarsalia*. Data mengenai jumlah dan frekuensi fetus yang mengalami kelainan pertumbuhan skeleton disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa kelainan pertumbuhan skeleton terjadi mulai dari dosis OA yang paling rendah yaitu 0,5 mg/kg bb. Pada kelompok kontrol tidak ditemukan adanya fetus yang mengalami kelainan penulangan. Jumlah fetus terbanyak yang mengalami kelainan penulangan skeleton adalah pada kelompok perlakuan tertinggi (dosis 1,5 mg/kg bb) yaitu 11 ekor fetus atau 73,33 % dari 15 ekor fetus yang diamati.

Tabel 1. Jumlah Fetus yang Mengalami Kelainan pada Skeleton dari Induk Mencit Bunting yang diberi OA

Dosis Perlakuan (mg/kg bb)	Jumlah Fetus Total (ekor)	Jumlah Fetus Yang mengalami kelainan skeleton (ekor)	Frekuensi Fetus yang mengalami kelainan skeleton (%)
Kontrol	15	0	0
0,5	15	4	26,67
1,0	15	7	46,67
1,5	15	11	73,33



Gambar 1. Histogram Frekuensi Fetus yang Mengalami Kelainan Skeleton

Setelah dianalisis statistik *Chi-square* didapatkan bahwa $H_{hitung} > H_{Tabel}$, yang berarti H_0 ditolak. Hal ini berarti terdapat hubungan antara pemberian OA dengan terjadinya kelainan skeleton. Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa semakin besar dosis OA yang diberikan, frekuensi fetus yang mengalami kelainan skeleton cenderung semakin meningkat.

1. *Cranium*.

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa mulai dosis yang terendah yaitu 0,5 mg/kg bb sudah mulai tampak terjadinya keterlambatan pertumbuhannya. Semakin tinggi dosis perlakuan keterlambatan ini akan semakin jelas terlihat. Hal ini berarti pada semua kelompok perlakuan terdapat fetus yang mengalami kelainan pertumbuhan *cranium*. Pada fetus tersebut masih belum terjadi osifikasi antara lain pada tulang *frontale*, *pareitale*, *interparietale* dan *supraoccipitale*. Tampak bahwa tulang-tulang tersebut tidak terwarnai oleh zat warna *Alizarin Red S*. Hal ini berarti bahwa tulang-tulang penyusun *cranium* tersebut masih bersifat tulang rawan. Berbeda dengan kelompok kontrol dan dimana tampak bahwa proses osifikasi *cranium* telah berlangsung sempurna.

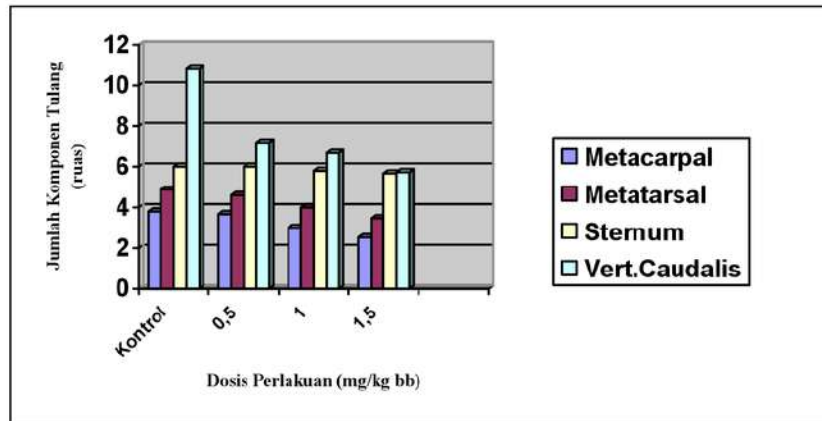
2. *Metacarpalia, Metatarsalia, Sternum dan Vertebrae Caudalis*.

Hasil pengamatan terhadap komponen tulang penyusun *metacarpalia*, *metatarsalia*, *sternum* dan *vertebrae caudalis* juga menunjukkan adanya keterlambatan osifikasi. Hal ini dapat diketahui dengan jalan mengamati langsung atau dengan menghitung jumlah ruas komponen tulang penyusunnya.

Tabel 2. Rerata Jumlah Komponen Penyusun *Metacarpalia*, *Metatarsalia*, *Sternum* dan *Vertebrae Caudalis* yang menulang dari Induk Mencit yang diberi OA

Dosis Perlakuan (mg/kg bb)	Rerata Jumlah Komponen yang menulang (ruas)			
	<i>Metacarpalia</i> X ± SD	<i>Metatarsalia</i> X ± SD	<i>Sternum</i> X ± SD	<i>Vert.Caudalis</i> X ± SD
Kontrol	3,0,50 ± 0,41 a	4,87 ± 0,35 a	6,00 ± 0,00 a	10,0,50 ± 3,14 a
0,5	3,67 ± 0,49 ab	4,60 ± 0,63 ab	6,00 ± 0,00 a	7,20 ± 1,93 b
1,0	3,00 ± 1,31 c	4,00 ± 1,25 c	5,80 ± 0,35 ab	6,67 ± 2,09 b
1,5	2,53 ± 1,51 d	3,47 ± 1,96 d	5,67 ± 0,41 b	5,73 ± 2,05 bc

Keterangan : Huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata.



Gambar 2. Histogram Rerata Jumlah Komponen Tulang *Metacarpalia*, *Metatarsalia*, *Sternum*, dan *Vertebrae Caudalis* dari Induk Mencit yang diberi OA .

a. *Metacarpalia*.

Pengamatan yang dilakukan terhadap komponen ruas penyusun *metacarpalia* menunjukkan bahwa seiring dengan meningkatnya dosis OA yang diberikan, jumlah komponen ruas *metacarpalia* yang menulang cenderung mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa OA berpengaruh terhadap proses osifikasi tulang *metacarpalia*.

b. *Metatarsalia*.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa OA mulai tampak berpengaruh pada dosis terendah yaitu 0,5 mg/kg bb, yang ditandai dengan penurunan jumlah komponen tulangnya. Penurunan ini terjadi seiring dengan makin tingginya dosis OA yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa OA mempunyai pengaruh terhadap proses osifikasi *metatarsalia*.

Hasil analisis statistik yang dilakukan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ($P < 0,01$) untuk jumlah komponen ruas *metatarsalia* yang menulang antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Setelah dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT diketahui bahwa pada dosis 0,5 mg/kg bb tidak berbeda nyata dengan

kelompok kontrol. Sedangkan untuk kelompok perlakuan dosis 1,0 mg/kg bb dan dosis 1,5 mg/kg bb menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

c. Sternum.

Hasil analisis statistik dengan ANAVA menunjukkan adanya beda nyata ($P > 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah rata-rata tulang *sternum* antara kelompok kontrol dan perlakuan terlihat mulai menurun. Pada kontrol jumlah tulang penyusun *sternum* adalah 6, yang menunjukkan bahwa *sternum* telah mengalami osifikasi sempurna. Pada dosis 0,5 mg/kgbb adalah 6,00 ruas. Pengaruh OA terhadap proses osifikasi *sternum* baru mulai terlihat pada kelompok perlakuan dosis 1,0 mg/kgbb yang rata-rata berjumlah 5,80 ruas. Jumlah ini menurun menjadi rata-rata 5,67 ruas pada kelompok perlakuan dosis 1,5 mg/kg bb. Jadi dapat dikatakan bahwa pada dosis tersebut OA mempengaruhi proses osifikasi *sternum*.

d. Vertebrae Caudalis.

Dari data Tabel 2 tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar dosis OA yang diberikan pada kelompok perlakuan, maka jumlah ruas *vertebrae caudalis* cenderung menurun. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar dosis OA yang diberikan pada kelompok perlakuan, maka jumlah ruas *vertebra caudalis* cenderung menurun.

Analisis statistik ANAVA menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ($P < 0,01$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dari uji lanjutan dengan uji DMRT dapat diketahui bahwa pada dosis terendah (0,5 mg/kg bb) OA sudah memberikan pengaruh nyata terhadap proses osifikasi *vertebrae caudalis*. Akan tetapi antar perlakuan itu sendiri atau dengan makin meningkatnya dosis pemberian OA tidak terdapat beda nyata.

4. KESIMPULAN

Dari pengamatan, analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan bahwa OA yang diberikan pada induk mencit bunting selama masa organogenesis menyebabkan hambatan pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus yaitu terhambatnya proses osifikasi pada komponen tulang penyusun *cranium*, *sternum*, *metacarpal*, *metatarsal* dan *vertebrae caudalis*.

5. DAFTAR PUSTAKA.

- [1]. Doyle, M.P., L.R. Beuchat and T.J. Montville. 2001. *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, 2nd ed., ASM Press. Washington. p. 456-458, 470-471
- [2]. Inouye, M. 1976. Differential staining of cartilage & bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue & Alizarin red S. *Cong. Anom* 161 3: 171-173.
- [3]. Junqueira, L.C., J. Carneiro & R.O. Kelley, 2008, *Histologi Dasar*, Terjemahan oleh J. Tambayong, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal. 143 – 150.
- [4]. Marti, N.B., 2006, *Ochratoxin A and Ochratoxigenic Modulds in Grapes, Must and Wine, Ecophysiological Study*, Universitas de Leida
- [5]. Setiawan A., M. Sagi, Istriyati dan W. Asmara, 2011, Analisis Kuantitatif Sel Purkinje Cerebellum Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Induksi Ochratoxin A Selama Periode Organogenesis, *Biota* Vol. 16 (2): 262-268
- [6]. Setiawan A., M. Sagi, Istriyati dan W. Asmara, 2012, Analisis Pertumbuhan Kartilago Epifisial Os *Tibia* Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Setelah Induksi Ochratoxin A Selama Periode Organogenesis, *Jurnal Biologi Papua*, Vol. 4 Nomor 1: 25-31
- [7]. Setiawan A., M. Sagi, Istriyati dan W. Asmara, 2013, Pertumbuhan dan Perkembangan Otak Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Setelah Induksi Ochratoxin A Selama Periode Organogenesis, *Jurnal Biologi Papua*, Vol. 5 Nomor 1: 15-20
- [8]. Setiawan A., R. Wulandari, M. Sagi, Istriyati dan W. Asmara, 2013, Hepatotoksisitas Ochratoxin A setelah Pendedahan Selama Periode Organogenesis, *Proseeding Semirata BKS-PTN 2013* Universitas Lampung hal. 79-84.
- [9]. Setiawan A., M. Sagi, Istriyati dan W. Asmara, 2014, Neuromuscular Coordination of Postweaning Mice After Ochratoxin Induction by Intracisternal Injection *Proseeding Semirata BKS PTN 2014* Institut Pertanian Bogor hal. 174-182.
- [10]. Ringot, D., A. Chango, Y. J. Schneider & Y. Larondelle. 2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*. 159: 18-46.

ANALISIS PERTUMBUHAN SKELETON FETUS MENCIT (Mus musculus L.) SETELAH INDUKSI OKHRATOKSIN A PADA USIA KEBUNTINGAN 7-24 HARI

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

★media.neliti.com

Internet

5%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE
BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES < 1%