

Uji teratogenik ekstrak *Pandanus conoideus* varietas buah kuning terhadap perkembangan embrio tikus putih (*Rattus norvegicus*)

LINTAL MUNA^{1,✉}, OKID PARAMA ASTIRIN², SUGIYARTO²

Muna L, Astirin OP, Sugiyarto. 2011. Teratogenic test of Pandanus conoideus var. yellow fruit extract to development of rat embryo (Rattus norvegicus).

This experiment was performed to examine the effect of *Pandanus conoideus* Lam. var. yellow fruit extract on the percentage of the living foetus, the death intrauterus, heavy and long of foetus, foetus morphology, and skeleton structure of foetus. The experiment was used by 25 pregnant mice that randomly were divided into 5 groups, they contained 5 mice. Each group was given with the different dose. The P1 group (control) was given 1 mL sesame oil, the group P2, P3, P4 and P5 were respectively given the yellow fruit extract 0,02 mL, 0,04 mL, 0,08 mL and 0,16 mL. The *P. conoideus* var. yellow fruit extract was given orally on day 5 to 17 of gestation (organogenesis periode). Observation was carried out on day 18 of gestation by caesarean section to take the foetus from the uterus. Foetus morphology was observed after taking foetus from uterus, whereas observation of skeleton structure was made *wholemout* preparat with dual colourization, they are *Alcian blue* and *Allizarin Red-S*. The result was analyzed with *one way anova*. Results showed that giving yellow fruit extract didn't influence to the percentage of the living foetus, the death intrauterus, heavy and long of foetus. The effect of giving yellow fruit extract to the maternal were abnormality skeleton (lordosis) of foetus in the dose 0.16 mL and obstructed to the ossification of foetus.

Key words: *Pandanus conoideus* var. yellow fruit, teratogenic, white rat

Muna L, Astirin OP, Sugiyarto. 2011. Uji teratogenik ekstrak Pandanus conoideus varietas buah kuning terhadap perkembangan embrio tikus putih (Rattus norvegicus).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak *Pandanus conoideus* Lam. var. buah kuning terhadap persentase fetus hidup, kematian intrauterus, berat dan panjang fetus, keadaan morfologi fetus, serta struktur skeleton fetus tikus putih. Dalam penelitian ini digunakan 25 tikus bunting yang dibagi menjadi lima kelompok secara acak, sehingga masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Setiap kelompok diberi dosis yang berbeda. P1 (kontrol) diberi 1 mL minyak wijen, P2, P3, P4 dan P5 diberi ekstrak masing-masing: 0,02 mL, 0,04 mL, 0,08 mL dan 0,16 mL. Ekstrak tersebut diberikan secara oral pada kebuntingan hari ke 5 sampai hari ke 17 (fase organogenesis). Pengamatan dilakukan pada hari ke 18 dengan cara bedah sesar untuk mengambil fetus dari uterus. Morfologi fetus diamati setelah fetus dikeluarkan dari uterus, sedangkan untuk pengamatan struktur skeleton dibuat preparat *wholemout* dengan pewarnaan ganda *Alcian blue* dan *Allizarin Red-S*. Hasil percobaan dianalisis dengan ANAVA satu jalur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tidak berpengaruh terhadap persentase fetus hidup, kematian intrauterus, serta berat dan panjang fetus ($P \geq 0,05$). Pemberian ekstrak pada induk mengakibatkan kecacatan skeleton (lordosis) fetus pada dosis 0,16 mL dan menghambat osifikasi fetus.

Kata kunci: *Pandanus conoideus* var. buah kuning, teratogenik, tikus putih

♥ Alamat korespondensi:

¹ Dinas Pendidikan Kabupaten Pati. Jl. P. Sudirman No. 1B Pati 59113, Jawa Tengah, Indonesia. Tel./Fax. +62-295-381421

² Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 2 Agustus 2009.
Revisi disetujui: 10 Oktober 2009.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari:
Muna L, Astirin OP, Sugiyarto. 2011. Teratogenic test of *Pandanus conoideus* var. yellow fruit extract to development of rat embryo (*Rattus norvegicus*). *Nusantara Bioscience* 2: 126-134

PENDAHULUAN

Kanker adalah salah satu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel tidak terkendali. Kanker merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia setelah penyakit kardiovaskuler (Ganiswara 2001; Foye 1996). Sel-sel kanker di dalam organ tubuh akan tumbuh dan berkembang secara abnormal, cepat dan tidak terkendali dengan bentuk, sifat dan

gerakan yang berbeda dari sel asalnya serta merusak bentuk dan fungsi organ (Dalimartha 2004). Pertumbuhan tak terkendali dari sel kanker dapat mendesak sel-sel normal di sekitarnya, karena sel kanker dapat bermetastasis ke bagian tubuh lainnya (Harkness 1989).

Pengobatan untuk menekan atau menyembuhkan penyakit kanker antara lain dengan pembedahan, radiasi, dan terapi dengan senyawa kimia (Harkness 1989; Alatas 2005).

Obat anti kanker atau sitostatika adalah obat-obat yang dapat menghentikan pertumbuhan sel-sel ganas atau bahkan dapat membunuh sel-sel normal (Tjay dan Rahardja 2002). Obat anti kanker bersifat teratogenik dan tidak hanya berpengaruh pada sel-sel kanker, akan tetapi dapat mempengaruhi sel-sel normal (Foye 1996; Ganiswara 2001). Mahalnya biaya dan efek samping oleh adanya terapi kanker (Harkness 1989; Harmanto 2001), mendorong masyarakat untuk memanfaatkan obat anti kanker dari tanaman.

Di Indonesia terdapat tidak kurang dari 2039 spesies tumbuhan obat yang berasal dari hutan tropika. Keadaan ini menjadikan unggulan Indonesia sebagai salah satu gudang keanekaragaman hayati penting dunia untuk bahan farmasi atau obat bagi kesehatan manusia (Zuhud 2009). Salah satu tanaman yang berperan sebagai anti kanker adalah buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) varietas *P. conoideus* var. buah kuning. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa kimia bermanfaat (Budi 2000). Menurut Mun'im (2006) ekstrak buah merah mampu menghambat perkembangan tumor. Atsirin (2009) dan Pratiwi (2009) secara terpisah membuktikan bahwa ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D. Hidayati (2010) membuktikan bahwa ekstrak tumbuhan ini mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa. *P. conoideus* var. buah kuning merupakan tanaman endemik Papua yang mempunyai kandungan tokoferol dan betakaroten yang berfungsi sebagai antioksidan. Sebagai antioksidan, kedua senyawa tersebut mampu menangkal radikal bebas dan diduga dapat membantu proses penyembuhan kanker (Budi dan Paimin 2005).

Gysin *et al.* (2002) mengungkapkan bahwa α -tokoferol mampu menghambat pertumbuhan sel kanker prostat DU145 sebanyak 50%, sel kanker prostat LNCaP sebanyak 48%, dan 50% pada sel kanker kolon adenokarsinoma (CaCo-2). Mengonsumsi betakaroten 30-60 mg sehari selama 2 bulan akan membuat tubuh memiliki sel-sel pembunuh alami lebih banyak serta sel-sel T-helpers dan limfosit yang lebih aktif. Bertambahnya sel-sel pembunuh alami sangat penting untuk melawan sel-sel kanker dan mengendalikan radikal bebas yang sangat mengganggu kesehatan (Budi dan Paimin 2005). Hal yang sama juga diungkapkan oleh Russel (2002), bahwa resiko kanker lebih rendah pada orang yang mengonsumsi sayur dan buah yang mengandung karotenoid tinggi.

Tokoferol merupakan bentuk dari vitamin E, apabila dikonsumsi secara berlebihan dapat menimbulkan keracunan (Almatsier 2002). Sedangkan betakaroten merupakan vitamin A. Hasil percobaan pada binatang menunjukkan terjadinya cacat bawaan sebagai akibat dari hipovitaminosis maupun hipervitaminosis A selama kehamilan (Pergament 1996).

Obat anti kanker dimanfaatkan bagi semua penderita kanker tidak terkecuali bagi wanita hamil, sedangkan wanita hamil sangat rentan terhadap obat-obatan terutama pada masa organogenesis. Beberapa obat yang tidak diperbolehkan untuk dikonsumsi bagi wanita hamil salah satunya adalah obat anti kanker, karena obat anti kanker mampu menghentikan pembelahan sel (Nogrady 1992) dan obat yang sampai ke janin bisa menyebabkan keguguran, malformasi dan kematian pada janin (Suryawati 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak per oral terhadap abnormalitas eksternal yang berupa persentase fetus hidup, kematian intrauterus, berat dan panjang fetus, serta keadaan morfologi fetus, dan abnormalitas internal yang berupa struktur skeleton fetus tikus putih (*R. norvegicus*).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*R. norvegicus*) bunting hari ke nol umur 2,5 bulan dengan berat rata-rata 200 g, pellet Br 2 (PT. Japfa Comfeed Indonesia, Sidoarjo) sebagai pakan sehari-hari, ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning, air untuk minum dan minyak wijen sebagai pelarut. Minyak wijen (dikemas oleh PT. Heinz ABC Indonesia, Jakarta).

Rancangan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode percobaan menggunakan 25 ekor tikus putih dibagi menjadi 5 kelompok dengan rancangan acak lengkap (RAL). Masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan. Adapun perlakuannya sebagai berikut:

- P1: Kontrol = 1 mL minyak wijen
- P2: Pemberian dosis 0,02 mL ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dan 0,98 mL minyak wijen/200 g BB
- P3: Pemberian dosis 0,04 mL ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dan 0,96 mL minyak wijen/200 g BB

- P4: Pemberian dosis mL ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dan 0,92 mL minyak wijen/200 g BB
- P5: Pemberian dosis 0,16 mL ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dan 0,84 mL minyak wijen/200 g BB
Ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning dan minyak wijen diberikan pagi dan sore secara oral pada kebuntingan hari ke 5 sampai 17.

Cara kerja

Pra-perlakuan. Dua puluh lima tikus putih (*R. norvegicus*) betina dewasa pada siklus estrus disatukan dalam satu kandang dengan 10 tikus putih jantan. Pada hari berikutnya tikus-tikus betina tersebut diperiksa vaginal plug (sumbat vagina), apabila terdapat vaginal plug atau setelah dilihat secara mikroskopis dengan metode apus vagina dan terdapat spermatozoa maka hari tersebut ditetapkan sebagai hari pertama kebuntingan. Selanjutnya tikus putih betina dipisahkan dari tikus putih jantan kemudian tikus betina dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus putih betina.

Persiapan hewan uji. Tikus putih bunting berumur 2,5 bulan dengan berat rata-rata 200 g dipelihara di dalam kandang, masing-masing kandang berisi lima tikus dengan kelompok perlakuan yang sama. Total jumlah tikus putih yang digunakan adalah 25 ekor, dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Sebelum digunakan untuk penelitian tikus diaklimatisasi dahulu selama 4 hari, diberi makan dan minum.

Ekstraksi. Pembuatan ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning merujuk pada Budi dan Paimin (2005) sebagai berikut: Dipilih buah yang telah matang, ditandai dengan warna buah yang kuning dan jarak antar tonjolan jarang. Buah dibelah dan dibuang empulur, kemudian dipotong dan dicucu. Daging buah direbus selama 1-2 jam, setelah lunak, diangkat dan didinginkan. Daging buah diremas-remas hingga terpisah dari bijinya. Ditambahkan air hingga 5 cm di atas permukaan bahan (3:1). Bahan diremas lagi hingga biji terlihat putih dan bersih dari daging. Hasilnya sari *P. conoideus* var. buah kuning menyerupai santan. Sari buah disaring agar terpisah dari bijinya. Hasil saringan dimasak $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 5-6 jam sambil diaduk-aduk. Apabila sudah muncul minyak berwarna kuning di permukaan, api dimatikan sambil terus diaduk selama 10 menit agar cepat dingin. Sari buah diangkat dan didiamkan selama 1 hari hingga hingga terbentuk 3 lapisan, yaitu ampas

(lapisan bawah), air (lapisan tengah), dan minyak (lapisan atas). Minyak diambil menggunakan sendok secara perlahan-lahan dan dipindahkan ke dalam wadah transparan, lalu didiamkan selama 3 jam hingga minyak, air dan ampas benar-benar terpisah. Minyak dipindahkan lagi pada wadah botol dengan sendok dengan hati-hati.

Penentuan dosis pemakaian. Konsumsi *P. conoideus* var. buah kuning yang disarankan yaitu 2-3 kali sehari sebanyak satu sendok makan (Budi dan Paimin 2005), dimana satu sendok makan setara dengan sekitar 15 mL (Wiryanta 2007). Dosis tersebut untuk manusia dengan bobot 70 kg. Jika dosis tersebut diaplikasikan pada tikus putih dengan bobot 200 g, maka diperoleh: $X/200\text{g} = 15\text{ mL}/70\text{ kg} \rightarrow X = 0,043\text{ mL} = 0,04\text{ mL}$. Penentuan dosis juga didasarkan dari penelitian Pratiwi (2009) yang menggunakan ekstrak dengan konsentrasi 0,03125 mL terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,03125 mL sel kanker payudara T47D belum bisa mati semua. Sedangkan penggunaan pelarut minyak wijen berdasarkan penelitian Mun'im (2006) yang menggunakan 1 mL minyak wijen pada kontrol. Hasil penelitian tersebut menunjukkan tidak terdapat kelainan pada fetus akibat pemberian 1 mL minyak wijen.

Perlakuan hewan uji. Sebelumnya, semua tikus ditimbang untuk mengetahui bobot awal. Pemberian ekstrak pada masing-masing kelompok perlakuan secara oral mulai hari ke 5 hari ke-17 dari kebuntingan secara berturut-turut. Pada hari ke-18 dilakukan pembedahan. Sebelum dibedah semua tikus ditimbang untuk mengetahui bobot akhirnya. Pengamatan dilakukan dengan mengambil fetus dari uterus kemudian dibersihkan dari selaput plasenta dan lendir yang menyelimutinya. Pengamatan eksternal fetus diawali dengan menghitung dan mencatat jumlah implantasi yang terdiri jumlah fetus yang hidup, jumlah fetus yang mati, dan jumlah fetus yang resorpsi. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan, pengukuran panjang badan, dan pengamatan morfologi fetus yang meliputi: bentuk tubuh, jumlah ekstremitas, tengkorak, ekor, dan lain-lain yang dianggap abnormal. Sedangkan untuk internal dilakukan pengamatan pada sistem skeleton (bentuk tulang, jumlah tulang dan hasil proses penulangan). Untuk pengamatan struktur skeleton fetus dibuat sediaan *wholemout* dengan metode pewarnaan ganda *Allizarin red-S* dan *Alcian blue* (Inouye 1976).

Proses pembuatan preparat *wholemout* sebagai berikut: Fetus difiksasi kedalam alkohol 95 % selama 3 hari. Viscerasi yaitu proses pembuangan kulit, jaringan lemak dan organ-organ dalam fetus. Proses ini dilakukan dengan sangat hati-hati agar fetus tidak rusak atau kedudukan anggota tubuh fetus tidak berubah. Fetus tikus putih dimasukkan dalam aseton selama 1 hari untuk melarutkan lemak. Fetus diwarnai pada hari ke-4 menggunakan pewarnaan ganda yaitu *Allizarin red-S* dan *Alcian blue* selama 1-3 hari pada suhu 37°C. Fetus dicuci dengan air mengalir beberapa kali sampai bersih. Fetus dijernihkan dengan larutan KOH 1% dalam air selama 2 hari sampai jaringan yang membungkus tubuh menjadi transparan dan yang berwarna merah atau biru hanya pada jaringan tulang. Fetus dipindahkan ke dalam larutan gliserin 20% dalam KOH 1% selama 1-4 hari. Fetus dimasukkan secara berturut-turut dalam larutan gliserin 50% dan 80% dalam KOH 1% masing-masing selama 1 jam, lalu disimpan dalam gliserin 100% untuk kemudian dilakukan pengamatan. Pengamatan hasil osifikasi didasarkan pada penyerapan zat warna pada kerangka. Tulang sejati yang normal akan berwarna merah dan tulang yang pertumbuhannya terhambat akan berwarna biru atau tidak terwarnai oleh *Allizarin red-S*. Pemotretan fetus dilakukan pada saat pengamatan abnormalitas, baik eksternal (kelainan morfologi, hemoragi, dan resorpsi) maupun internal (kelainan hasil osifikasi) menggunakan kamera digital.

Pengumpulan data. Data kuantitatif diperoleh dengan melakukan pengamatan jumlah implantasi yang terdiri dari jumlah fetus hidup, jumlah fetus mati, berat fetus, panjang badan fetus. Data kualitatif diperoleh dengan mengamati morfologi fetus (mata, telinga, ruas jari, tengkorak, ekor dan lain-lain yang dianggap abnormal) dan sistem skeletannya (bentuk tulang, jumlah tulang, dan hasil proses penulangan).

Analisis data

Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) satu jalur dengan taraf signifikansi 5 % untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Apabila dalam analisis varian diperoleh hasil yang signifikan, untuk mengetahui letak perbedaan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT). Untuk pengamatan abnormalitas eksternal dan internal

(kelainan hasil osifikasi) dilakukan analisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pandanus conoideus var. buah kuning merupakan salah satu obat alternatif untuk menanggulangi penyakit kanker (Budi dan Paimin 2005). Obat anti kanker ini digunakan oleh semua penderita kanker termasuk wanita hamil, sedangkan wanita hamil sangat rentan terhadap obat-obatan terutama pada masa organogenesis (Briggs et al. 2008). Obat anti kanker bersifat teratogenik; tidak hanya berpengaruh pada sel-sel kanker, tetapi dapat mempengaruhi sel-sel normal di sekitarnya (Ganiswara 2001; Foye 1996).

Jaringan janin tumbuh dengan kecepatan tinggi, sel-selnya membelah dengan cepat sehingga sangat rentan terhadap obat anti kanker. Selain itu, obat yang dikonsumsi oleh induk akan berpindah ke janin melalui plasenta, yaitu melalui jalan yang sama yang dilalui oleh zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan janin. Obat yang sampai ke janin bisa menyebabkan keguguran, malformasi atau bahkan kematian pada janin (Suryawati 1990).

Abnormalitas eksternal fetus tikus putih

Abnormalitas eksternal pada penelitian ini diamati secara morfometri dengan melihat penampakan reproduksi induk tikus putih dengan menghitung jumlah fetus hidup, jumlah kematian intrauterus (fetus mati dan resorpsi), mengukur berat dan panjang badan fetus dan mengamati abnormalitas berupa hemoragi dan kelainan bentuk pada beberapa bagian tubuh fetus (Tabel 4).

Morfometri fetus

Berat dan panjang fetus merupakan salah satu parameter yang penting untuk diamati dalam penelitian teratogenik. Wilson (1973) menyatakan bahwa penurunan berat dan panjang badan fetus merupakan bentuk teringan dari suatu efek senyawa yang bersifat teratogenik. Berat dan panjang badan fetus merupakan parameter yang cukup sensitif untuk mengetahui pengaruh senyawa asing terhadap pertumbuhan fetus. Terjadi perubahan berat dan panjang badan fetus mulai dari kelompok kontrol hingga kelompok perlakuan dengan dosis tertinggi (Tabel 4).

Tabel 4. Perkembangan eksternal fetus setelah pemberian ekstrak pada induk.

Parameter	Dosis (mL)				
	Kontrol	0,02	0,04	0,08	0,16
Jumlah induk hamil	5	5	5	5	5
Jumlah implantasi	58	52	44	46	44
Jumlah rata-rata fetus per induk	11,6	10,4	8,8	9,2	8,8
Jumlah dan persentase fetus hidup	58 (100%) ^a	47 (90,38%) ^a	43 (97,73%) ^a	45 (97,83%) ^a	42 (95,45%) ^a
Jumlah dan persentase kematian intra uterus:					
a. Resorbsi	0 (0%) ^a	4 (7,69%) ^a	1 (2,27%) ^a	1 (2,17%) ^a	2 (4,56%) ^a
b. Fetus mati	0 (0%) ^a	1 (1,92%) ^a	0 (0%) ^a	0 (0%) ^a	0 (0%) ^a
Berat badan fetus (g) (rata-rata ± SD)	1,484± 0,134 ^a	1,534± 0,085 ^a	1,552± 0,076 ^a	1,602± 0,057 ^a	1,540± 0,119 ^a
Panjang badan fetus (mm) (rata-rata ± SD)	25,232± 1,616 ^a	25,862± 1,188 ^a	25,926± 1,139 ^a	25,946± 0,985 ^a	25,688± 1,227 ^a
Jumlah dan persentase abnormalitas	14 (24,14%)	16 (30,77%)	7 (15,91%)	12 (26,09%)	6 (13,64%)

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang angka dalam satu baris menunjukkan tidak beda nyata diantara perlakuan berdasarkan signifikansi 95%.

Berdasarkan analisis statistik, berat dan panjang rata-rata fetus antar kelompok perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hasil dari analisis varian diperkuat dengan analisis korelasi antara dosis dengan berat fetus dan antara dosis dengan panjang fetus. Nilai r antara dosis dengan berat badan adalah 0,265 (korelasi lemah). Nilai probabilitas $>0,05$ ($0,200>0,05$), maka H_0 diterima. Artinya, hubungan antara dosis dengan berat badan fetus adalah tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sedangkan nilai r antara dosis dengan panjang fetus adalah 0,123 (korelasi sangat lemah). Nilai probabilitas $>0,05$ ($0,559>0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa hubungan antara dosis dengan panjang fetus adalah tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

Betakaroten dan tokoferol dalam jumlah tertentu dibutuhkan oleh tubuh karena merupakan vitamin yang berperan penting bagi tubuh, akan tetapi jika jumlahnya terlalu banyak akan bersifat toksik (Almatsier 2002). Hasil penelitian Azman (2001), vitamin E berpengaruh terhadap peningkatan berat badan tikus normal dan tikus dengan perlakuan diovarietomi (pengangkatan dua ovarium). Peningkatan berat badan pada penelitian tersebut terutama disebabkan oleh adanya peningkatan massa lemak. Tokoferol dan betakaroten merupakan vitamin larut dalam lemak yang bersifat lipofilik, sehingga dapat dengan mudah melewati plasenta.

Tokoferol dan betakaroten diserap dalam usus bersama dengan lemak atau minyak yang dikonsumsi. Salah satu alasan mengapa pemberian ekstrak secara oral yaitu karena tokoferol dan betakaroten tidak larut dalam air, yang berarti juga tidak larut dalam plasma darah. Agar vitamin-vitamin tersebut dapat

diangkut kedalam peredaran darah, maka harus berikatan dengan protein (lipoprotein) yang kemudian diserap oleh sistem limfatik. Dari sistem limfatik, vitamin-vitamin tersebut bersama VLDL (Very Low Density Lipoprotein) masuk ke dalam sirkulasi darah. Sebagian menuju ke bagian yang membutuhkan dan sebagian masuk ke hati melalui ductus toracicus yang kemudian bergabung dengan VLDL yang kaya akan trigliserida dan HDL (High Density Lipoprotein) yang kaya akan fosfolipid, kolesterol dan ester. VLDL dan HDL ini disintesis oleh hati. Kemudian vitamin E kembali ke pembuluh darah dan selanjutnya dikonversi menjadi LDL (Low Density Lipoprotein) dengan bantuan enzim lipoprotein lipase dalam darah. Selanjutnya vitamin-vitamin dalam LDL diangkut ke jaringan adiposa.

Terdapat tiga tipe masuknya obat melalui plasenta, yaitu: Tipe 1, obat-obatan dengan konsentrasi yang seimbang antara induk dan janin; Tipe II, obat-obatan yang mempunyai konsentrasi dalam plasma janin lebih tinggi dari pada konsentrasi dalam plasma ibu atau terjadi transfer yang berlebihan. Hal ini mungkin terjadi karena transfer pengeluaran obat dari janin berlangsung lebih lambat; Tipe 3, obat-obatan yang mempunyai konsentrasi dalam plasma janin lebih rendah dari pada konsentrasi dalam plasma ibu atau terjadi transfer yang tidak lengkap (Nindya 2001).

Berat badan fetus cenderung naik oleh karena adanya tokoferol yang terkandung dalam *P. conoideus* var. buah kuning. Tokoferol disimpan di dalam hati dan jaringan lemak, sehingga jika fetus kekurangan vitamin E maka tokoferol segera dapat digunakan kembali. Selain itu jika terjadi kerusakan pada sel fetus, maka fetus dapat segera mengadakan recovery, karena sel-

sel fetus masih aktif membelah sehingga kerusakan pada sel dapat dengan mudah digantikan oleh sel-sel lain yang normal.

Kadar normal vitamin A dalam plasma adalah 100-120 unit/dL. Kebutuhan vitamin A pada wanita hamil >200 RE (Dewoto 2007). Kandungan vitamin A pada *P. conoideus* var. buah kuning adalah 240 ppm (240 mg/L), sehingga memenuhi angka kecukupan gizi bagi wanita hamil. Sedangkan kebutuhan vitamin E untuk wanita hamil adalah 10 mg. Kandungan vitamin E pada *P. conoideus* var. buah kuning adalah 10.400 ppm (10.400 mg/L). Vitamin E berperan sebagai pelindung asam lemak dari oksidasi radikal bebas (Almatsier 2002), sehingga penggunaan vitamin E konsentrasi tinggi tidak menimbulkan efek.

Panjang badan fetus normal pada usia kehamilan 17 hari rata-rata 19,31 mm, sedangkan pada usia kehamilan 18 hari mencapai 20-23 mm (Kauffman 1992). Rata-rata panjang fetus pada penelitian ini adalah 25 cm, sehingga dapat dikatakan bahwa panjang fetus pada penelitian ini adalah normal. Selain dipengaruhi oleh faktor eksternal yaitu masuknya vitamin A dan E dalam tubuh fetus, pertumbuhan juga dipengaruhi oleh faktor genetik (Wilson 1973). Terjadinya penurunan atau peningkatan berat dan panjang badan fetus berkaitan dengan gen yang terdapat pada masing-masing individu dan ruang gerak untuk pertumbuhannya. PKH (2009), menyatakan bahwa Konsumsi lemak akan mempengaruhi produksi progesteron yang penting untuk implantasi dan sebagai nutrisi yang penting untuk pembentukan awal embrio. Banyaknya embrio pada uterus juga berpengaruh pada tersedianya ruang untuk perkembangan embrio dan suplai darah.

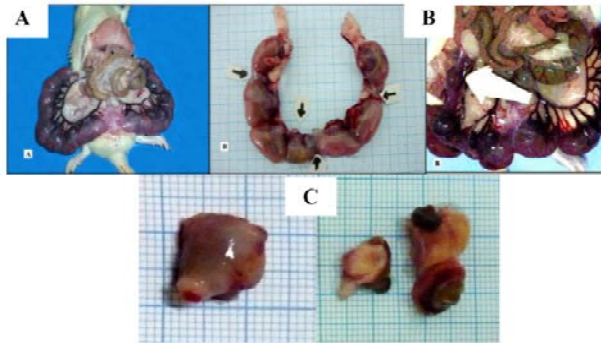
Fetus yang berasal dari satu kantung uterus dengan jumlah implantasi sedikit, relatif mempunyai ukuran lebih berat dan lebih panjang dibandingkan dengan fetus dari uterus dengan jumlah implantasi banyak. Hal ini berkaitan dengan nutrisi yang diterima oleh fetus. Semakin sedikit jumlah implantasi dalam uterus, maka ketersediaan nutrisi bagi fetus terpenuhi, sehingga berat dan panjang fetus akan bertambah (Zahrah 2008). Hal ini dapat dilihat pada kelompok kontrol yang jumlah implantasinya terbanyak dibanding dengan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol cenderung mempunyai rata-rata berat dan panjang badan terendah. Kelompok perlakuan 0,08 mL dan 0,16 mL ekstrak yang memiliki

jumlah implantasi yang sama, kedua kelompok tersebut juga memiliki berat yang hampir sama.

Persentase kematian intrauterus dan fetus hidup

Fetus mati atau resorpsi merupakan bentuk dari kematian intrauterus. Kematian intrauterus terjadi karena ketidakmampuan sel melakukan perbaikan (recovery) untuk mengganti sel yang rusak dengan sel normal. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh karena banyaknya sel yang rusak, sehingga tidak ada keseimbangan antara sel rusak dengan sel normal. Sel-sel fetus yang mampu melakukan recovery menyebabkan fetus tetap bertahan hidup. Berdasarkan analisis varian dengan taraf kepercayaan 95% tidak terdapat perbedaan yang nyata untuk persentase fetus hidup, fetus mati dan resorpsi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hal ini dibuktikan oleh nilai ($P > 0,05$). Fetus mati pada penelitian ini terdapat pada dosis 0,02 mL ekstrak. Fetus dikategorikan fetus mati, apabila fetus berkembang penuh dan tidak ada tanda-tanda autolisis, akan tetapi ketika disentuh tidak merespon sentuhan (Hutahean 2002). Pemberian *P. conoideus* var. buah kuning pada induk tidak mempengaruhi kematian fetus, karena dosis yang diberikan sangat kecil. Selain itu, vitamin A dan E yang terkandung dalam *P. conoideus* var. buah kuning justru diperlukan untuk pertumbuhan fetus. Fetus mati pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh proses pembelahan dan diferensiasi sel yang terganggu, sehingga fetus tidak mampu lagi meneruskan perkembangannya atau dapat disebabkan oleh kelainan fungsional yang sangat parah sehingga fetus tidak dapat bertahan hidup. Selain itu, fetus mati sejak dalam kandungan belum selesai mengalami perkembangan, sehingga memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan dengan fetus yang lahir dalam keadaan hidup (Setyawati 2009).

Fetus yang mengalami resorpsi ditandai dengan adanya gumpalan berwarna merah atau kuning kecokelatan yang tidak merespon bila disentuh (Hutahean 2002). Resorpsi adalah manifestasi dari kematian hasil konsepsi (Lu 1995) yang dapat terjadi akibat kesalahan morfologi dengan berbagai cacat tubuh dan berakhir dengan kematian (Rugh 1968).



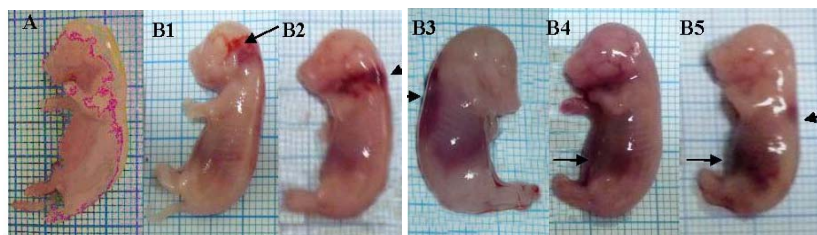
Gambar 9. Morfologi fetus dalam tubuh induk kontrol dan induk yang diberi ekstrak. Tanda panah menunjukkan tempat resorpsi. (A) Uterus berisi fetus normal, (B) Uterus berisi fetus resorpsi, (C) Bentuk resorpsi.

Pada penelitian ini, resorpsi terdapat pada semua kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dengan angka resorpsi tertinggi dijumpai pada dosis 0,02 mL ekstrak (Tabel 4). Pada tahap awal proliferasi, embrio akan memberikan respon mati atau tumbuh normal,

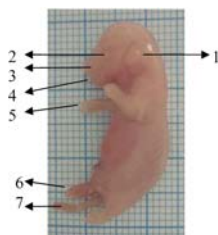
karena pada tahap ini belum terjadi diferensiasi sel sehingga tidak ada pengaruh selektif dari adanya agen teratogenik. Hal ini karena sel masih bersifat totipotensi, sedangkan jika terjadi pada saat sel secara intensif mengalami diferensiasi, mobilisasi dan organogenesis, maka akan menyebabkan malformasi atau cacat bawaan namun jika terjadi setelah fase organogenesis, maka akan menyebabkan kelainan fungsi. Jika efek yang ditimbulkan dari teratogen tidak dapat diatasi oleh embrio maka dapat menyebabkan kematian embrio yang diikuti dengan aborsi atau resorpsi pada rodensia jika terjadi pada awal kehamilan, sedangkan jika terjadi pada akhir kehamilan berupa fetus mati.

Selain itu, genetik memegang peranan penting pada kematian tahap preimplantasi (resorpsi). Kematian embrio tahap preimplantasi sering terjadi karena perkawinan inbreeding (perkawinan sebakak atau seibu). Sebelum implantasi, embrio lebih mudah terkena pengaruh mutasi genetik dan kelainan kromosom yang diikuti oleh kematian embrio dini (PKH 2009). Kelainan kromosom dapat

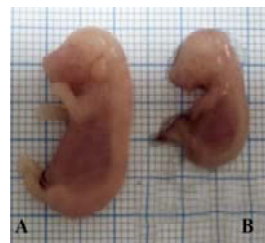
dibedakan atas kelainan jumlah kromosom dan struktur kromosom. Hal ini dapat terjadi karena kegagalan penyebaran kromosom atau susunan kromatin dalam sel yang terjadi selama proses meiosis dan mitosis dari sel telur atau sel sperma yang menghasilkan 2 bentuk sel poliploid. Aneuploid adalah kelainan kromosom pada hewan yang dapat terjadi karena pengurangan jumlah kromosom normal ($2n-1$), sedangkan poliploid adalah penambahan jumlah kromosom normal ($2n+1$). Kelainan-kelainan tersebut menyebabkan resorpsi.



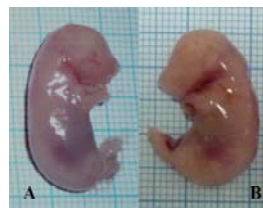
11



10



12



13

Gambar 10. Morfologi normal fetus *R. norvegicus*. Keterangan: 1. Pinnae, 2. Mata, 3. Vibrisae, 4. Mulut, 5. Ekstremitas anterior, 6. Ekstremitas posterior, 7. Ekor

Gambar 11. Perbandingan fetus kulit normal dengan fetus kulit transparan setelah pemberian ekstrak pada induk. Tanda panah menunjukkan daerah hemoragi. (A) Fetus kulit normal; (B1) Fetus kulit transparan dosis 0 mL; (B2) Fetus kulit transparan dosis 0,02 mL; (B3) Fetus kulit transparan dosis 0,04 mL; (B4) Fetus kulit transparan dosis 0,08 mL; (B5) Fetus kulit transparan dosis 0,16 mL ekstrak.

Gambar 12. Perbandingan fetus normal (A) dengan fetus yang mengalami hambatan pertumbuhan (B) akibat pemberian ekstrak pada induk.

Gambar 13. Perbandingan fetus normal (A) dengan fetus tubuh bongkok setelah pemberian ekstrak pada induk.

Morfologi fetus – hemoragi

Terdapat 4 kelompok wujud gangguan perkembangan embrio, yaitu kematian, kecacatan, hambatan pertumbuhan dan gangguan fungsi

(Hutahean 2002). Secara keseluruhan, organ-organ fetus yang terdapat pada penelitian ini berkembang sempurna (komponen tubuh lengkap), walaupun terdapat fetus dengan ukuran lebih kecil dari yang lain. Pada penelitian ini terdapat tiga jenis abnormalitas eksternal, yaitu: kulit transparan, hambatan pertumbuhan dan tubuh bongkok (Tabel 5).

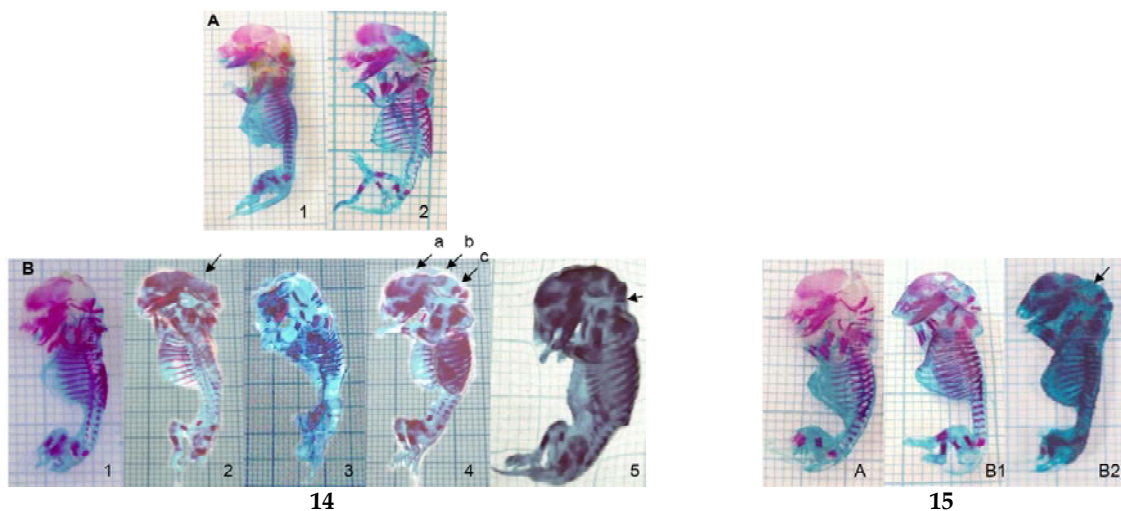
Kulit transparan atau yang sering disebut dengan hemoragi merupakan peristiwa keluarnya darah dari sistem kardiovaskuler yang disertai dengan penimbunan di dalam jaringan tubuh (Price and Wilson 1984 dalam Widiyani dan Sagi 2001). Hemoragi merupakan bentuk abnormalitas eksternal yang sering terjadi sebagai efek suatu teratogen. Hemoragi pada penelitian ini terdapat baik di kepala, leher, punggung dan perut.

Fetus dengan kulit transparan dapat ditemukan pada semua kelompok perlakuan, termasuk kelompok kontrol (Gambar 11). Kemungkinan ini terjadi karena ekstrak diberikan berulang kali pada dosis cukup tinggi, sehingga konsentrasi di dalam darah tinggi, akibatnya terjadi ketidakseimbangan osmotik. Pada keadaan normal, embrio berkembang

dalam cairan amnion yang isotonis dengan cairan tubuh. Masuknya zat asing dalam jaringan dapat mengubah tekanan osmosis. Ketidakseimbangan osmotik dapat menyebabkan gangguan tekanan dan viskositas cairan pada bagian embrio yang berbeda, antara plasma darah dan ruang ekstra kapiler atau antara cairan ekstra dan intra embrionik. Perbedaan ini menyebabkan pembuluh darah pecah dan terjadi hemoragi (Wilson 1973).

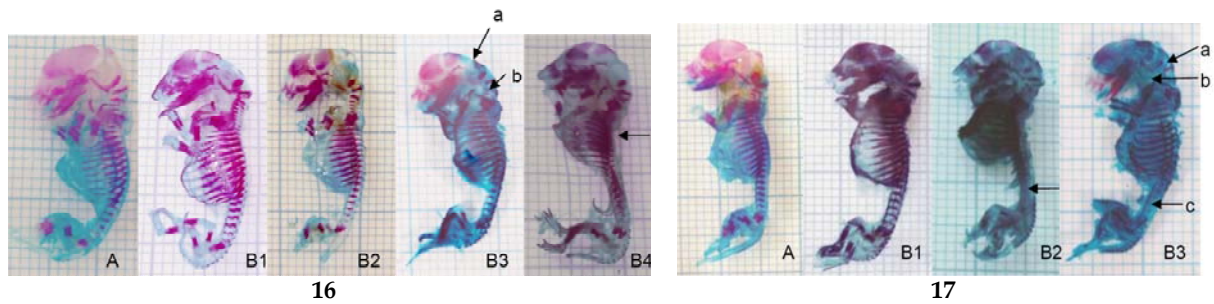
Tabel 5. Persentase abnormalitas eksternal fetus *R. norvegicus* setelah pemberian ekstrak pada induk

Jenis abnormalitas eksternal	Dosis ekstrak				
	0 mL	0,02 mL	0,04 mL	0,08 mL	0,16 mL
Jumlah fetus	58	52	44	46	44
Hemoragi/kulit transparan	14 (24,14%)	15 (28,85%)	4 (9,09%)	12 (26,09%)	6 (13,64%)
Hambatan pertumbuhan	0 (0%)	1 (1,92%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Tubuh bongkok	0 (0%)	0 (0%)	3 (6,82%)	0 (0%)	0 (0%)
Jumlah	14 (24,14%)	16 (30,77%)	7 (15,91%)	12 (26,09%)	6 (13,64%)



Gambar 14. Perkembangan skeleton fetus *R. norvegicus* akibat pemberian 0,02 mL ekstrak *P. conoideus* var. buah kuning pada induk. Tanda panah menunjukkan daerah yang mengalami keterlambatan osifikasi. A) Skeleton kelompok kontrol: A1. Osifikasi Sempurna, A2. Kulit transparan, osifikasi sempurna. B. Skeleton kelompok perlakuan 0,02 mL ekstrak: B1. Osifikasi sempurna, B2. Mengalami keterlambatan osifikasi pada os interparietal, B3. Skeleton dari fetus kerdil, mengalami keterlambatan osifikasi pada os frontal, os parietal, os interparietal, cervical vertebrae, lumbar vertebrae, sacral vertebrae, tibia dan fibula, B4. Skeleton dari fetus normal, mengalami keterlambatan osifikasi pada os parietal (a), os interparietal (b), dan cervical vertebrae (c), B5. Skeleton yang mengalami keterlambatan osifikasi pada cervical vertebrae.

Gambar 15. Perkembangan skeleton fetus *R. norvegicus* akibat pemberian ekstrak 0,04 mL pada induk. A. Skeleton normal dari kelompok kontrol. B. Skeleton kelompok 0,04 mL ekstrak: B1. Skeleton normal, B2. Skeleton yang mengalami keterlambatan osifikasi pada os interparietal



Gambar 16. Perkembangan skeleton fetus *R. norvegicus* akibat pemberian ekstrak 0,08 mL pada induk. A. Kontrol. B. Skeleton kelompok perlakuan 0,08 mL ekstrak: B1. Fetus normal, osifikasi sempurna, B2. Fetus kulit transparan, osifikasi sempurna, B3. Fetus normal, namun mengalami keterlambatan osifikasi pada os interparietal (a) dan cervical vertebrae (b), B4. Skeleton lordosis.

Gambar 17. Perkembangan skeleton fetus *R. norvegicus* akibat pemberian ekstrak 0,16 mL pada induk. A. Skeleton kelompok kontrol. B. Skeleton kelompok 0,16 mL ekstrak: B1. Osifikasi sempurna, B2. Skeleton mengalami keterlambatan osifikasi di bagian lumbar vertebrae, B3. Keterlambatan osifikasi pada bagian cervical vertebrae (a), clavícula (b) dan lumbar vertebrae (c).

Pada kasus hemoragi ini tidak ada perbedaan antara kontrol (pemberian minyak wijen) dengan kelompok perlakuan (pemberian campuran minyak wijen dan ekstrak). Jika sel darah merah berada pada larutan hipotonis, yakni larutan yang konsentrasi zat terlarutnya di luar sel lebih rendah dibanding dengan di dalam sel, maka sel darah merah akan lisis (pecah). Hal ini disebabkan karena tidak adanya dinding sel yang dapat menghambat proses lisisnya sel darah merah (Zulti 2008).

Morfologi fetus – hambatan pertumbuhan

Pada penelitian ini, fetus yang mengalami hambatan pertumbuhan hanya terdapat pada kelompok perlakuan 0,02 mL ekstrak (Tabel 6). Menurut Ritter (1977), senyawa teratogen dengan dosis rendah mampu menyebabkan kematian beberapa sel dan dapat pula menyebabkan terjadinya pergantian sel, karena sel-sel fetus mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi. Apabila satu atau sekelompok sel rusak oleh gangguan agensia toksik, maka sel-sel normal di sekitarnya akan membelah dan menggantikan peran sel-sel yang rusak tersebut. Penggantian sel-sel fetus yang rusak akan dipertahankan selama masa organogenesis agar terbentuk morfologi yang normal. Apabila gagal atau tidak mencapai target pada fase organogenesis, maka akan menyebabkan malformasi sehingga terbentuk fetus dengan morfologi normal, namun berukuran kecil.

Hambatan pertumbuhan pada fetus kemungkinan disebabkan oleh terganggunya pembelahan sel, sehingga sintesis asam nukleat

dan protein terganggu serta sel-sel yang rusak tidak dapat diperbaiki. Pertumbuhan fetus terjadi karena proliferasi sel dengan jalan mitosis dan kecepatan proliferasi merupakan fungsi dari kecepatan pertumbuhan (Herbold 1985). Fetus yang mengalami hambatan pertumbuhan pada penelitian ini disebabkan oleh kematian sel akibat pemberian ekstrak sebagai anti kanker yang diberikan pada saat sel-sel tersebut mulai aktif membelah, sehingga terjadi penghambatan dalam pembelahan sel. Jika zat asing ini diberikan secara terus menerus, lama kelamaan sel-sel tersebut akan mati. Jika semakin banyak sel yang mati, maka fetus akan sulit untuk berkembang.

Morfologi fetus – tubuh bongkok

Tubuh bongkok pada penelitian ini hanya ditemukan pada kelompok perlakuan 0,04 mL ekstrak (Gambar 13). Embriogenesis normal berakhir dengan terbentuknya individu baru yang bentuk dan strukturnya sama seperti induknya, tetapi embriogenesis abnormal akan berakhir dengan terbentuknya individu yang bervariasi (Wilson 1973). Bentuk kelainan yang berupa tubuh bongkok pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh kelainan bentuk vertebrae (tulang belakang) yang disebabkan oleh kematian beberapa sel tulang penyusun vertebrae, akibatnya kecepatan pertumbuhan tulang satu dengan yang lainnya tidak sama, sehingga tulang membengkok. Fitrianna (2009) menyatakan bahwa vertebrae terbentuk pada hari ke-12. Pada penelitian ini, ekstrak diberikan pada induk mulai hari ke-5 hingga hari ke-17.

Diduga kematian sel ini disebabkan oleh ekstrak yang diberikan pada induk. Mengingat bahwa respon imun terhadap zat teratogen pada setiap individu berbeda (Wilson 1973), maka fetus dengan sistem imun yang rendah tidak mampu memperbaiki sel, khususnya sel penyusun vertebrae yang rusak atau mati oleh adanya zat teratogen tersebut.

Abnormalitas internal fetus tikus putih

Pengamatan terhadap abnormalitas internal, yakni pengamatan terhadap perkembangan skeleton fetus *R. norvegicus* galur wistar dengan membuat preparat *wholemout*. Preparat ini dibuat menggunakan pewarnaan ganda, yaitu *Alcian Blue* dan *Allizarin Red-S*. *Alcian Blue* dan *Allizarin Red-S* merupakan zat kimia khusus untuk pewarnaan jaringan tulang (Inouye 1976). *Alcian Blue* akan melakukan afinitas dengan matriks dalam jaringan tulang rawan, sehingga tulang rawan akan terwarnai biru. Sedangkan *Allizarin Red-S* akan melakukan afinitas dengan matriks dalam jaringan tulang, sehingga tulang akan terwarnai merah. Adapun kelainan internal yang diamati meliputi struktur tulang dan hasil osifikasinya.

Skeleton berasal dari mesoderm. Pada mesoderm terjadi differensiasi meliputi mesoderm kepala, badan dan ekor yang dalam tingkat perkembangan ini disebut mesenkim embrional. Mesenkim berkembang menjadi struktur-struktur mesoderm tubuh, termasuk jaringan pengikat yaitu kartilago (tulang rawan) dan tulang (Sagi 1997). Proses kalsifikasi terjadi melalui dua cara, yaitu osifikasi intra membran dan endokondral. Osifikasi intra membran merupakan proses pembentukan tulang dari jaringan mesenkim menjadi jaringan tulang, misalnya pembentukan tulang pipih. Sedangkan osifikasi endokondral yaitu proses pembentukan tulang yang terjadi dimana sel-sel mesenkim berdiferensiasi lebih dulu menjadi kartilago (jaringan tulang rawan), lalu berubah menjadi jaringan tulang, misalnya pembentukan tulang panjang, ruas tulang belakang dan pelvis.

Menurut Loegito *et al.* (1995) dalam Ekawati (2002), ada 3 tolok ukur untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan skeleton, yaitu: Jumlah komponen skeleton dan tingkat osifikasinya, Sempurna atau tidaknya proses osifikasi, dan ada atau tidaknya kelainan dalam pembentukan skeleton. Berdasarkan pengamatan hasil penelitian menunjukkan terdapatnya keterlambatan proses osifikasi pada semua

perlakuan mulai dari dosis terendah hingga dosis tertinggi (Tabel 6).

Perkembangan tulang terdiri dari bertambahnya ukuran, kedewasaan dan umur. Perubahan dari perkembangan membranous dan kartilagenous tulang keras disebut pendewasaan tulang. Terdapat 5 periode pembentukan tulang yaitu: (i) periode embrionik: mandibula, maksila, humerus, radius, ulna, femur, dan fibia; (ii) periode fetal: scapula, illium, fibula; (iii) tulang muda: epiphisis pada anggota badan, karpal, tarsal, dan sesamoids; (iv) tulang remaja: scapula, tulang rusuk, tulang pinggul/pinggang; (v) tulang dewasa (Jessop 1988). Kelainan rangka fetus yang ditemukan pada penelitian ini berupa bentuk skeleton lordosis yang terdapat pada kelompok perlakuan 0,16 mL ekstrak dan keterlambatan proses osifikasi terdapat pada semua kelompok perlakuan. Namun, kelompok perlakuan dengan cacat skeleton terbanyak ditemukan pada kelompok perlakuan 0,02 mL ekstrak (Tabel 6).

Tabel 6. Persentase kecacatan skeleton fetus *R. norvegicus* akibat pemberian ekstrak pada induk.

Dosis ekstrak <i>P. conoideus</i> var. buah kuning	Jumlah induk	Jumlah fetus	Jumlah fetus yang diamati	Prosentase fetus cacat (%)
P1 0	5	58	20	0%
P2 0,02 mL	5	52	12	33,33%
P3 0,04 mL	5	44	18	5,56%
P4 0,08 mL	5	46	21	9,52%
P5 0,16 mL	5	44	9	22,22%

Tulang-tulang yang mengalami keterlambatan osifikasi pada penelitian ini terdapat di daerah cranium, cervical vertebrae, clavicula, lumbar vertebrae, sacral vertebrae, serta tibia dan fibula. Keterlambatan osifikasi tampak pada skeleton fetus yang berwarna biru yang menunjukkan bahwa tulang tersebut masih bersifat tulang rawan (kartilago).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 0,02 mL ekstrak mengalami keterlambatan osifikasi terbanyak dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh faktor kurangnya nutrisi pada induk tikus putih, sehingga proses metabolisme terhambat. Ditandai oleh adanya berat badan fetus yang sangat ringan dibandingkan dengan berat fetus dari kelompok lain yaitu 0,7 g. Nutrisi yang paling penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tulang

adalah kalsium (Dewoto 2007). Menurut Setiyohadi (2009), kalsium memegang 2 peranan fisiologis penting di dalam tubuh. Di dalam tulang, garam-garam kalsium berperan pada proses kalsifikasi, sehingga tulang menjadi keras. Pengerasan tulang berfungsi untuk menopang berat badan. Sedangkan di dalam cairan ekstraseluler dan sitosol, kalsium berperan pada berbagai proses biokimia tubuh dalam bentuk ion-ion kalsium.

Norazlina *et al.* (1999) menyatakan bahwa konsumsi 1% kalsium pada tikus dengan kandungan vitamin E rendah mampu meningkatkan kepadatan mineral tulang. Tubuh normal mengandung 1.100 g kalsium dengan berat badan 70 kg. Jika dosis tersebut dikonversikan pada tikus dengan bobot 200 g, maka terdapat 3,14 g kalsium dalam tubuh tikus. Yuliati *et al.* (2007) mengungkapkan bahwa penambahan 27 mg/200 g BB/hari dapat meningkatkan ketebalan tulang trabekular. Secara histologi, tulang dibagi menjadi 2 yaitu tulang kortikal dan tulang trabekular. Tulang kortikal mempunyai peran mekanik dan protektif, sedangkan tulang trabekular bersifat metabolik. Ketebalan tulang menunjukkan kekuatan dari tulang, karena tulang yang tebal di dalamnya terdapat jumlah mineral yang melimpah.

Kalsium yang terkandung dalam *P. conoideus* var. buah kuning adalah 15,3 mg/100 g bahan. Dosis tersebut sangat kecil dibandingkan dengan asupan kalsium yang digunakan pada penelitian Yuliati *et al.* (2007). Kalsifikasi merupakan proses pengendapan garam-garam kalsium dan fosfor pada matriks tulang. Vitamin D juga diperlukan dalam proses ini. Vitamin D merupakan prohormon, sehingga jika tubuh tidak mendapat cukup matahari maka vitamin D perlu dipenuhi melalui makanan. Perubahan vitamin D menjadi vitamin D3 yang aktif (kalsitriol) terjadi di ginjal. Di usus, kalsitriol dapat meningkatkan absorpsi kalsium dan fosfor. Sintesis kalsitriol diatur oleh kadar kalsium dan fosfor dalam darah. Bila kadar kalsium darah rendah, maka hormon paratiroid dikeluarkan untuk merangsang ginjal dalam memproduksi kalsitriol. Peran vitamin D3 dalam proses kalsifikasi tulang dengan cara mengatur agar kalsium dan fosfor tersedia di dalam darah untuk diendapkan pada matriks tulang. Karena jumlah kalsium yang digunakan tidak mencukupi kadar kalsium dalam darah, sehingga proses kalsifikasi terhambat. Akibatnya tulang-tulang masih bersifat tulang rawan.

Terdapat dua metabolisme utama dalam pembentukan tulang yang rentan terhadap kekurangan nutrisi, yaitu: proses sintesis protein untuk membentuk matriks organik tulang yang terdiri dari jaringan kolagen dan non kolagen protein. Proses berikutnya adalah kalsifikasi tulang, pada tahap ini mineral diantaranya kalsium dan fosfor diendapkan dalam matriks tulang. Jika terdapat hambatan dalam pembentukan matriks organik, maka akan ada hambatan dalam proses kalsifikasi tulang sehingga terjadi penurunan kadar mineral tulang, diantaranya kalsium dan fosfor. Terjadinya hambatan kalsifikasi tulang akan menyebabkan hambatan dalam pembentukan sel osteoklas (Setiyohadi 2009).

Regenerasi tulang dipengaruhi oleh dua sel, yaitu osteoklas dan osteoblas. Osteoklas berperan dalam merombak tulang menggunakan asam dan enzim (resorpsi tulang), sedangkan osteoblas berperan dalam pembentukan tulang baru untuk menggantikan tulang lama yang dirombak oleh osteoklas (Rebecca dan Brown 2007). Osteoklas merupakan sel yang motil. Sel ini akan meresorpsi tulang membentuk lakuna, kemudian bergerak ke bagian tulang yang lain. Pada saat sel osteoklas berpindah, tidak terjadi resorpsi tulang. Tetapi pada saat sel osteoklas berhenti bergerak, maka proses resorpsi terjadi. Meningkatnya resorpsi tulang menyebabkan berkurangnya jumlah tulang.

Santoso (2004) dalam penelitiannya menyatakan bahwa suatu agensia teratogen dapat mempengaruhi ketebalan sel-sel dari femur mencit. Lapisan pada femur mencit menipis, bahkan ada yang mati. Akumulasi agensia teratogen dalam beberapa organ, khususnya organ yang sedang mengalami kalsifikasi akan mengakibatkan kelainan perkembangan pada fetus. Hal ini disebabkan antara lain karena fetus belum mempunyai enzim yang dapat memetabolisir agensia toksik tersebut secara sempurna.

Terdapatnya skeleton fetus dengan osifikasi sempurna, dikarenakan adanya faktor internal, yaitu hormon yang dapat mempertahankan massa tulang. Rebecca dan Brown (2007) menyatakan bahwa hormon adalah salah satu faktor yang mempengaruhi kuat atau tidaknya tulang. Hormon merupakan zat alamiah yang dibuat oleh sel-sel khusus di dalam tubuh. Hormon beredar di dalam aliran darah dan dapat mempengaruhi aktivitas sel di berbagai tempat di dalam tubuh. Selain itu, hormon juga dapat membantu membatasi jumlah resorpsi

tulang, karena hormon yang mengatur kadar kalsium di dalam darah. Hal tersebut diperjelas dengan adanya penelitian dari Masyita (2006), bahwa kekurangan hormon estrogen dapat menyebabkan osteoporosis pada mencit. Osteoporosis terjadi karena hilangnya massa tulang dan meningkatnya penyerapan tulang. Estrogen diduga dapat mempengaruhi proses penghancuran tulang dengan menghambat produksi sitokin. Estrogen berperan penting dalam proses homeostasis, yaitu menunjang sekresi kalsitonin, sebagai inhibitor resorpsi tulang dan dapat meningkatkan kadar vitamin D3 yang berfungsi untuk meningkatkan derajat absorpsi kalsium di usus. Sitokin yang rendah mengakibatkan turunnya aktivitas osteoklas yang berperan dalam perombakan tulang. Sitokin merupakan protein yang berperan dalam proses resorpsi tulang. Sitokin ada dua macam, yaitu IL-1 dan IL-6. IL-1 berperan dalam merangsang resorpsi tulang, replikasi sel tulang dan meningkatkan sintesis IL-6. IL-6 juga berperan meresorpsi tulang dengan jalan mengaktifkan sel-sel osteoklas. Sintesis IL-6 akan dihambat oleh estrogen, sehingga asupan estrogen mampu mengurangi resorpsi tulang (Norazlina *et al.* 2007). Terdapat hubungan antara estrogen dengan vitamin E yaitu bahwa vitamin E merupakan vitamin larut dalam lemak dapat diubah menjadi kolesterol, sedangkan kolesterol merupakan prekursor estrogen yang pembentukannya melalui serangkaian reaksi enzimatik.

Shuid *et al.* (2010), vitamin E berpotensi sebagai agen anabolik pada tulang dan mampu meningkatkan kekuatan tulang. Selain itu, vitamin E dapat memperbaiki struktur tulang. Agen anabolik adalah agen yang mampu meningkatkan kekuatan tulang dengan cara meningkatkan massa tulang. Selain itu, vitamin E berperan sebagai agen anti osteoporotik (Nazrun *et al.*, 2010). Tokoferol yang terkandung di dalam *P. conoideus* var. buah kuning merupakan vitamin E yang berperan dalam pembentukan tulang. Tokoferol bersama dengan kalsium dan vitamin D berperan dalam proses metabolisme tulang. Kalsium berperan dalam meningkatkan kepadatan mineral tulang, sehingga mengurangi aktivitas resorpsi pada tulang. Vitamin E dapat meningkatkan kepadatan kalsium. Sedangkan vitamin D3 diperlukan untuk absorpsi kalsium di dalam usus dan penyimpanan kalsium pada tulang (Norazlina *et al.* 1999).

Xu *et al.* (1995) menyatakan bahwa vitamin E dapat merangsang pertumbuhan tulang

trabekular. Kekurangan vitamin E dapat menurunkan proses transpor kalsium di dalam usus. Asupan vitamin E 10-30 mg/hari cukup untuk mempertahankan kadar normal di dalam darah (Dewoto 2007). Norazlina *et al.* (1999), menyatakan bahwa penggunaan vitamin E sebanyak 60 mg/kg BB/ hari mampu meningkatkan kandungan kalsium pada femur tikus. Kandungan tokoferol pada *P. conoideus* var. buah kuning yaitu 10400 ppm (10400 mg). Kelebihan tokoferol tidak akan dibuang, karena tokoferol disimpan di dalam hati dan jaringan adiposa dalam bentuk gliserol dan sewaktu-waktu dapat digunakan kembali oleh tubuh.

KESIMPULAN

Morfometri fetus tikus putih mengalami perubahan mulai dari kontrol hingga kelompok perlakuan dosis tertinggi. Terdapat fetus yang mengalami: Kematian dan hambatan pertumbuhan pada dosis 0,02 mL ekstrak; resorpsi pada semua kelompok perlakuan, yaitu pada dosis 0,02 mL; 0,04 mL; 0,08 mL; dan 0,16 mL ekstrak; atau kulit transparan terdapat pada kontrol dan semua kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak dapat menyebabkan kelainan pada struktur skeleton fetus tikus putih. Kelainan-kelainan tersebut berupa skeleton lordosis yang terdapat pada dosis 0,16 mL ekstrak dan terjadinya hambatan osifikasi yang dapat dijumpai pada semua kelompok perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alatas Z. 2005. Efek teratogenik radiasi pengion. *Bul Alara* 6 (3): 133-142.
- Almatsier S. 2002. Prinsip dasar ilmu gizi. Gramedia. Jakarta.
- Astirin OP, Harini M, Handajani NS. 2009. The effect of crude extract of *Pandanus conoideus* Lamb. var. yellow fruit on apoptotic expression of the breast cancer cell line (T47D). *Biodiversitas* 10 (1): 44-48.
- Azman A, Kholid BAK, Ima-Nirwana S. 2001. The effects of vitamin E on bodyweight and fat mass in intact and ovariectomized female rats. *Med J Islamic Acad Sci* 14 (4): 125-138.
- Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. 2008. *Drugs in pregnancy and lactation; a reference guide to fetal and neonatal risk*. 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.
- Budi IM. 2000. Kajian kandungan zat gizi dan sifat fisika kimia berbagai jenis minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) hasil ekstraksi secara tradisional di Kabupaten Jayawijaya Propinsi Irian Jaya. Tesis. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Budi IM, Paimin FR. 2005. *Buah merah*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- PKH. 2009. Penyebab kematian embrio dini pada sapi. Pusat Kesehatan Hewan. <http://www.vet-klinik.com>. [21 Oktober 2009]
- Dalimartha S. 2004. Deteksi dini kanker dan simplisia antikanker. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Dewoto HR. 2007. Farmakologi dan terapi: vitamin dan mineral. Edisi 5. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Foye WO. 1996. Prinsip-prinsip kimia medisinal. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Ganiswara SG. 2001. Farmakologi dan terapi. Gaya Baru. Jakarta.
- Gysin R, Azzi A, Visarius T. 2002. α -Tocopherol inhibits human cancer cell cycle progression and cell proliferation by down regulation of cyclin. *FASEB J* 16: 1952-1954.
- Harmanto N. 2001. Sehat dengan ramuan tradisional mahkota dewa obat pusaka para dewa. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Herbold B. 1985. Micronucleus test on the mouse to evaluate for mutagenic effects. Report No. 14102E (Study Nos. T6019042 & T8019675). Institute of Toxicology, Pharmaceutical Division, Bayer AG, Wuppertal, Germany. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Germany (report No. 74164).
- Hidayati MN. 2010. Uji sitotoksitas bagian *P. conoideus* Lam. varietas buah kuning terhadap pertumbuhan sel hela secara in vitro dan profil kandungan kimia bagian teraktif. Tesis S1. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hutahean S. 2002. Prinsip-prinsip uji toksikologi perkembangan. Laboratorium Struktur Hewan Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Inouye M. 1976. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Allizarin Red S. *Congenital Anomalies J* 16 (3): 171 - 173.
- Jessop NM. 1988. Theory and problem of zoology. B & JO Enterprise Pte Ltd, Singapore.
- Kauffman MH. 1992. The atlas of mouse development. Academic Press. New York.
- Lu FC. 1995. Toksikologi dasar: asas, organ sasaran dan penilaian resiko. UI Press. Jakarta.
- Masyita D. 2006. Struktur mikroskopik tulang mandibula pada tikus ovarrektomi dan pemberian pakan rasio fosfat/kalsium tinggi. *Media Kedokteran Hewan*. 22 (2): 112-117.
- Mun'im A, Retnosari A and S, Heni. 2006. Uji Hambatan Tumorigenesis Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap Tikus Putih Betina yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz (a) Antrasen (DMBA). Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 3 (3):153-161.
- Nazrun A S, Norazlina M, Norliza M and N S Ima. 2010. Comparison of The Effects of Tocopherol and Tocotrienol on Osteoporosis in Animal Models. *International Journal of Pharmacology* 6 (5): 561-568.
- Nindya S. 2001. Perubahan Farmakokinetik Obat pada Wanita Hamil dan Implikasinya secara Klinik. *Cermin Dunia Kedokteran* 133: 40-43.
- Nogrady T. 1992. Kimia Medisinal: Pendekatan Secara Biokimia. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Norazlina M, Ima-Nirwana S, Khalid BAK. 1999. Effect of palm vitamin E, vitamin D and calcium supplementation on bone metabolism in vitamin E deficient rates. *Med J Islamic Acad Sci* 12 (4): 89-96.
- Norazlina M, Lee PL, Lukman HI, Nazrun AS, Ima-Nirwana S. 2007. Effect of vitamin E supplementation on bone metabolism in nicotine-treated rats. *Singapore Med J* 48 (3): 195-199.
- Pergament E, Schechtman A, Curell C. 1996. Vitamin A and pregnancy. *ITIS Newslett* 4 (6). <http://fetal-exposure.org/>
- Pratiwi AP. 2008. Uji sitotoksitas campuran ekstrak *Pandanus conoideus* Lam. varietas buah kuning dan asam laurat dari VCO terhadap sel kanker payudara T47D secara in vitro. Tesis S1. Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rebecca F, Brown P. 2007. Simple guides osteoporosis. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Ritter EJ. 1977. Altered biosynthesis In: Wilson JG, Fraster FC (eds). *Hand book of teratology*. Plenum Press. New York.
- Rugh R. 1968. The mouse, its reproduction and development. Burgess Publishing. Minneapolis.
- Russel RM. 2002. Betacarotene and lung cancer. *Pure Appl Chem* 74 (8): 1461-1467.
- Sagi M. 1997. Embriologi perbandingan pada vertebrata. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Santoso HB. 2004. Kelainan struktur anatomi skeleton mencit akibat kelainan akibat kafein. *Bioscientiae* 1: 23-30.
- Setiyohadi B. 2009. Peran kalsium dan vitamin D pada metabolisme tulang. Subbagian Reumatologi, Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM. Jakarta.
- Setyawati I. 2009. Morfologi fetus mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *J Biologi* 13 (2): 41-44.
- Shuid AN, Zulfadli M, Norazlina M, Norliza M, Ima-Nirwana S. 2010. Vitamin E exhibits bone anabolic actions in normal male rats. *Bone Miner Metab J* 28: 149-156.
- Suryawati S. 1990. Pemakaian obat pada kehamilan. Laboratorium Farmakologi Klinik Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Takekoshi S. 1964. The mechanism of vitamin A induced teratogenesis. *J Embryol Exp Morph* 12 (2): 263-271.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. Obat-obatan penting khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya.. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Wilson JG. 1973. Environment and birth defects. Academic Press. New York.
- Wiryanta BTW. 2007. Keajaiban buah merah kesaksian dari mereka yang disembuhkan. <http://www.deherba.com/khasiat-buah-merah.html>. [8 September 2009]
- Xu H, Watkins BA, Seifert MF. 1995. Vitamin E stimulates trabecular bone formation and alters epiphyseal cartilage morphometry. *Calcif Tissue Int* 57: 293-300.
- Zahrah S. 2008. Efek teratogenik ekstrak air sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur wistar fase organogenesis. Tesis S1. Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Zuhud EAM. 2009. Pengembangan etno-wanafarma di Indonesia. Bagian Konservasi Keanekaragaman Tumbuhan, Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- Zulti F. 2008. Mekanisme transpor melalui membran. <http://www.crayonpedia.org>. [19 Agustus 2010]