

**UJI TERATOGENIK NIKEL PADA FETUS  
MENCIT PUTIH BETINA**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**UTARI KHUSNUL KHOTIMAH**  
**NIM : 1604070**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2020**

## **PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Utari Khusnul Khotimah  
NIM : 1604070  
Judul Skripsi : Uji Teratogenik Nikel Pada Fetus Mencit Putih Betina

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut ke Universitas Perintis Indonesia untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, Agustus 2020

Utari Khusnul Khotimah

## **Lembar Pengesahan Skripsi**

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Utari Khusnul Khotimah  
NIM : 1604070  
Judul Skripsi : Uji Teratogenik Nikel Pada Fetus Mencit Putih Betina

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 5 Agustus 2020 berdasarkan ketentuan yang berlaku

**Ketua Sidang**

**apt. Farida Rahim, M.Farm**

**Pembimbing I**

**Anggota Penguji 1**

**Prof. Dr. apt. Almahdy A, M.S**

**Drs. B.A Martinus, M.Si**

**Pembimbing II**

**Anggota Penguji II**

**Dr. apt. Ifmaily, S.Si, M.Kes**

**apt. Verawati, M.Farm**

**Mengetahui :  
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap  
(Qs. Alam Nasyrah: 7,9)

Alhamdulillah sebuah langkah usai sudah satu cita telah ku gapai. Namun .... Itu bukan akhir dari perjalanan. Melainkan awal dari satu perjuangan, sepercik ilmu telah engkau karuniakan kepadaku hanya untuk mengetahui sebagian kecil dari engkau muliakan...

Syukur alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T  
Sebuah perjalanan telah ku tempuh dengan izinmu ya Allah  
Walau terkadang tersandung dan terjatuh.....

Ya Rabbi..... sujudku padamu  
Sepercik ilmu telah aku dapat atas ridhaMu ya Allah  
Semoga hari-hari yang cerah membentang di depanku  
Bersama rahmat dan ridhaMu ya Allah

Ayah ... Ibu .....  
Telah ku lalui hari-hari ini .....  
Ini berkat do'a dan air mata disetiap sujudmu...  
kini telah ku gapai sebuah cita-cita yang akan aku persembahkan  
untukmu Ayah.. Ibu.. ku tercinta..  
Buat adik-adikku ( Meily dan Hani), Terima kasih atas segala kasih sayang serta dukungan yang engkau berikan kepadaku... Engkau menjadikan ku kuat disetiap langkah ku....

Teruntuk semua dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia, terimakasih untuk ilmu yang sangat berarti semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada Bapak Prof. Dr. apt. Almahdy A, M.S dan Ibu Dr. apt. Ifmaily, S.Si, M.Kes sebagai pembimbingku serta Ibu Epi Supri Wardi, M.Si sebagai pembimbing akademik yang sudah sangat membantu, membimbing serta menasehati selama ini.

" For My Friend's"...

Cani, Duyung, Mungil, Aul, Ii, Iyat, Hayati, Pijaw dan teman-teman  
Teh Es ku tersayang. Terima kasih untuk semangat, cinta dan kasih sayang yang tak dapat diungkap...

Suka, duka kita lalui bersama, semua kenangan itu takkan kulupakan dan juga buat semua angkatan 16 Verenigen yang tak bisa disebutkan namanya satu persatu, perjalanan panjang telah kita lalui bersama, semoga kita semua bisa dapatkan apa yang kita cita-citakan. Amin ya robbal'alamin.

Once again thanks for all who have helped and supported all this time...

Utari Khusnul Khotimah, S.Farm

## KATA PENGANTAR



Syukur alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya. Sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“UJI TERATOGENIK NIKEL PADA FETUS MENCIT PUTIH BETINA”**. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Universitas Perintis Indonesia.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari iringan do'a tulus dan dukungan tiada hentinya yang diberikan oleh Ayahanda Batur, Ibunda Nurhayati, S.Pd serta keluarga besar yang sangat penulis sayangi, kasih sayang beserta do'a tulus ikhlas memberikan semangat dan dukungan yang tiada ternilai bagi penulis. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. apt. Almahdy A, M.S dan Ibu Dr. apt. Ifmailly, S.Si. M.Kes selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan meluangkan waktu, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. apt. Elfi Sahlan Ben, M.S selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

5. Ibu Epi Supri Wardi, M.Si. selaku Pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Universitas Perintis Indonesia.
6. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis dan Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
7. Kerabat yang selalu mendampingi dan rekan – rekan yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Terima kasih untuk cinta dan cerita yang sangat teramat banyak.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, Agustus 2020

Penulis

## ABSTRAK

Nikel merupakan logam berat yang dapat mencemari lingkungan dan dapat mengganggu kesehatan manusia diantaranya dapat menimbulkan reaksi alergi dan toksisitas lain. Nikel dapat terabsorpsi oleh tubuh secara oral melalui makanan yang tercemar oleh nikel akibat mengolah makanan dengan alat-alat yang mengandung nikel dengan waktu yang cukup lama. Makanan yang tercemar nikel dapat dikonsumsi oleh setiap orang termasuk ibu hamil. Untuk itu dilakukan penelitian uji efek teratogenik nikel terhadap fetus mencit putih betina selama organogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati efek teratogen dari nikel pada fetus mencit putih betina yang hamil berupa kelainan skeletal dan morfologi akibat pemberian nikel. Nikel diberikan dalam bentuk nikel klorida heksahidrat secara oral satu kali sehari. Hewan percobaan dibagi menjadi empat kelompok yaitu, kontrol (negatif), dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB. Pada hari kehamilan ke-18 dilakukan laparatomi. Fetus ditimbang dan dihitung jumlahnya, dilihat tapak resorpsi, diamati malformasi morfologi secara visual kemudian diamati malformasi rangka dan pertulangan dengan direndam dengan pewarnaan ganda yaitu larutan alizarin red dan alcian blue. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa satu fetus mencit dosis 50 mg/kgBB mengalami *haemoragi*, pada dosis 100 mg/kgBB satu fetus mencit mengalami *phocomelia*, satu fetus mencit mengalami lambat pertumbuhan dan delapan ekor fetus mencit mengalami *haemoragi*. Sedangkan fetus mencit dosis 200 mg/kgBB tidak dapat diamati karena nikel bersifat toksik terhadap fetus sehingga induk mencit mengalami keguguran.

Kata Kunci : Nikel, Teratogenik, Fetus, Dosis, Mencit.

## ***ABSTRACT***

Nickel is a heavy metal that can pollute the environment and can disrupt human health, including causing toxicity and allergic reactions. Nickel can be absorbed by the body orally through food contaminated by nickel due to food processing with tools that contain nickel with a long time. Nickel-contaminated food can be consumed by anyone, including pregnant women. For this reason, research was conducted to test the teratogenic effects of nickel on the fetus of female white mice during organogenesis. This study aims to observe the teratogenic effects of nickel on the fetus of pregnant white female mice in the form of skeletal and morphological abnormalities due to nickel administration. Nickel is given as nickel hexahydrate orally once a day. Experimental animals were divided into four groups namely, (negative) control, doses of 50, 100 and 200 mg/kgBW. On the 18th pregnancy, a laparotomy was performed. The fetus was weighed and counted, viewed at the resorption site, visually observed morphological malformations then observed skeletal malformation staining with alizarin red and alcian blue solutions. The results of the study showed that one mouse fetus with a dose of 50 mg/kgBW had haemorrhage, at a dose of 100 mg/kgBW one fetus had phocomelia, one fetus had slow growth and eight fetuses had haemorrhage. While the fetus of mice with a dose of 200 mg/kgBW could not be observed because of miscarriage in pregnancy.

*Keywords : Nickel, Teratogenic, Fetus, Dose , Mice.*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS PENYERAHAN HAK CIPTA</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Nikel .....	5
2.1.1 Karakteristik Nikel .....	5
2.1.2 Sifat-sifat Nikel .....	5
2.1.3 Aplikasi Nikel.....	6
2.1.4 Mekanisme Masuknya Logam Nikel (Ni) ke dalam Tubuh.....	7
2.1.5 Toksisitas Nikel .....	8
2.1.6 Kinetika Nikel dalam Tubuh .....	11
2.1.7 Penggolongan Logam Berdasarkan Toksisitas .....	12
2.2 Teratologi.....	12
2.2.1 Metode Uji Efek Teratogen .....	14
2.2.2 Daur Estrus .....	16
2.2.3 Proses Kehamilan .....	17
2.2.4 Periode Kritis Kehamilan .....	18
2.2.5 Transfer Obat Melalui Plasenta .....	21
2.2.6 Mekanisme Teratogen .....	22
<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN</b> .....	<b>25</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Metode Penelitian .....	25
3.2.1 Alat .....	25
3.2.2 Bahan .....	25
3.3 Prosedur Penelitian .....	25
3.3.1 Persiapan Hewan Percobaan.....	25
3.3.2 Aklimatisasi Hewan Percobaan dan Penentuan Siklus Estrus .....	26
3.3.3 Pengawinan Hewan Percobaan .....	26
3.3.4 Perencanaan Dosis .....	26
3.3.5 Pembuatan Sediaan Uji.....	27
3.3.6 Pemberian Sediaan Uji .....	28

3.3.7 Penimbangan Berat Badan Induk Mencit.....	28
3.3.8 Laparatomi.....	28
3.4 Parameter yang Diamati dalam Penelitian.....	28
3.4.1 Jumlah Fetus yang Hidup dan Mati.....	28
3.4.2 Berat Fetus.....	28
3.4.3 Malformasi Morfologi secara Visual.....	29
3.4.4 Resorpsi.....	29
3.4.5 Malformasi Rangka dan Pertulangan.....	29
3.5 Analisis Data.....	29
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1 Hasil.....	30
4.2 Pembahasan.....	31
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>43</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji.....	10
2. Penggolongan Ion-ion Logam Berdasarkan Toksisitas .....	12
3. Berat Badan Rata-rata Induk Mencit Selama Kehamilan .....	45
4. Jumlah Fetus Mencit dari Setiap Kelompok .....	47
5. Rata-rata Berat Badan Fetus Mencit Setelah Laparatomi Pada Hari Ke-18 Kehamilan.....	48
6. Pengamatan Makroskopis Fetus Mencit Untuk Malformasi Morfologi Visual dan Skeletal.....	49
7 Hasil Uji Normalitas Rata-rata Berat Badan Fetus secara Statistik .....	55
8. Hasil Uji Homogenitas Rata-rata Berat Badan Fetus secara Statistik.....	55
9. Hasil Statistik ANOVA Satu Arah Terhadap Rata-rata Berat Badan Fetus .....	55
10. Hasil Uji Normalitas Jumlah Fetus Secara Statistik .....	57
11. Hasil Uji Homogenitas Jumlah Fetus Secara Statistik.....	57
13. Hasil Statistik ANOVA Satu Arah Terhadap Jumlah Fetus .....	58

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Periode kritis kehamilan.....	21
2. Skema kerja pengamatan efek teratogen dari nikel pada fetus mencit .....	43
3. Surat Keterangan Lolos Uji Kode Etik .....	44
4. Grafik perubahan berat badan rata-rata induk mencit pada masa organogenesis kehamilan selama pemberian nikel untuk setiap kelompok perlakuan. ....	46
5. Diagram batang jumlah rata-rata fetus pada masing-masing dosis.....	47
6. Diagram batang berat rata-rata fetus setelah laparatomi.....	48
7. a. Mencit berada pada masa estrus yang ditandai dengan vagina terbuka, basah, dan berwarna merah.....	50
b. Mencit tidak berada pada masa estrus.....	50
8. Sumbat vagina menunjukkan mencit berada pada hari kehamilan ke-0....	50
9. Kehamilan mencit ke-18 hari .....	51
10. a. Mencit setelah dilaparotomi .....	51
b. Mencit mengalami keguguran.....	51
11. a. Fetus mencit kontrol.....	52
b. Fetus mencit dosis 50 mg/kgBB .....	52
c. Fetus mencit dosis 100 mg/kgBB.....	52
12. a. Fetus dosis 100 mg/kgBB yang mengalami lambat pertumbuhan .....	52
b. Fetus dosis 100 mg/kgBB yang mengalami <i>phocomelia</i> .....	53
13. Fetus mengalami <i>haemoragi</i> .....	53
14. a. Hasil pewarnaan ganda fetus mencit kontrol .....	53
b. Hasilpewarnaan ganda fetus mencit dosis 50 mg/kgBB .....	53
c. Hasil pewarnaan ganda fetus mencit dosis 100 mg/kgBB .....	53
15. a. Induk mencit 1 dosis 200 mg/kgBB .....	54
b. Fetus dosis 200 mg/kgBB yang terhenti pertumbuhannya.....	54

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema Kerja Pengamatan Teratogen Nikel .....	43
2. Surat Izin Etik Penelitian Menggunakan Hewan .....	44
3. Hasil Uji Teratogenik Nikel Terhadap Fetus Mencit Selama Kehamilan.....	45
4. Hasil Pengamatan Efek Teratogenetik Nikel Pada Fetus Mencit Setelah Laparatomi Pada Hari Ke- 18 Kehamilan.....	47
5. Pengamatan Makroskopis Fetus Mencit untuk malformasi Visual dan Skletal.....	49
6. Foto Hasil Penelitian .....	50
7. Hasil Perhitungan Statistik Rata-rata Berat Badan Fetus Mencit .....	55
8. Hasil Perhitungan Statistika Jumlah Fetus Mencit .....	57

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Industri logam di Indonesia mengalami perkembangan yang ditandai dengan penggunaan teknologi modern, bahan baku dan bahan kimia yang beraneka ragam. Bahan kimia yang ditambahkan dalam industri memiliki nilai positif salah satunya adalah meningkatkan kualitas produk. Sedangkan nilai negatif yaitu memberi dampak bagi lingkungan akibat limbah industri yang mengkontaminasi elemen-elemen lingkungan baik air, tanah, maupun udara (Mukono, 2005). Peningkatan proses industrialisasi sejalan dengan pencemaran yang ikut berkembang khususnya pencemaran lingkungan terhadap logam berat. Logam berat merupakan logam yang memiliki nilai densitas lebih dari  $5 \text{ g/cm}^3$  (Hutagalung, 1991). Pencemaran logam berat di lingkungan dapat menimbulkan bahaya bagi kesehatan (Widowati *et al*, 2008).

Logam berat dapat menimbulkan efek gangguan terhadap kesehatan manusia, tergantung pada bagian mana logam berat tersebut yang terikat dalam tubuh serta besarnya dosis paparan. Efek toksik dari logam berat mampu menghalangi kerja enzim sehingga mengganggu metabolisme tubuh, menyebabkan alergi, bersifat mutagen, teratogen atau karsinogen bagi manusia maupun hewan. Salah satu logam berat yang dapat mencemari lingkungan adalah Nikel (Ni), yang banyak digunakan untuk berbagai keperluan industri logam, antara lain sebagai ferronikel, yaitu paduan logam nikel dan besi dan campuran baja nirkarat (Widowati *et al*, 2008).

Nikel banyak digunakan sebagai campuran baja nirkarat, campuran kawat las *cast iron* (besi tuang) karena Ni memiliki karakteristik *low solubility* pada karbon, nikel *screen* pada mesin *rotary print* dalam industri *printing* tekstil berbagai jenis *alloy* nikel, koin, industri *plumbing*, peralatan listrik, *stainless steel* (Ridhowati, 2013). Maka tidak menutup kemungkinan nikel juga terdapat pada alat-alat yang ada di rumah dan digunakan sehari-hari seperti sendok, garpu, bohlam lampu pijar, dan lain-lain oleh semua orang tidak terkecuali oleh ibu hamil.

Absorpsi nikel dapat melalui inhalasi, oral dan dermal. Gangguan kesehatan yang timbul dapat berupa gangguan sistemik, gangguan imunologi, gangguan neurologis, gangguan reproduksi, gangguan perkembangan, efek karsinogenik dan kematian (ATDSR, 2005).

Rute dari paparan nikel sangat berpengaruh terhadap dampak tingkat keparahan pada sistem biologi, imunologi, neurologi, reproduksi, mobilitas dan perkembangan karsinogenik, baik secara akut (<10 hari), subkronis (10-100 hari), dan kronis (>100 hari) periode paparan. Salah satu rute paparan yang paling umum dari toksisitas nikel adalah melalui kulit yang menimbulkan alergi pada hipersensitivitas terhadap nikel. Sebuah penelitian melaporkan bahwa nikel mampu membangkitkan respon ganda dari immunodolator dan immunotoxic karena nikel sebagai alergen pada manusia (Das KK *et al*, 2010). Nikel sebagai  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dapat menimbulkan pengurangan berat badan, meningkatkan angka kematian, anomali morfologi mata, tungkai dan ekor pada pengamatan periode postnatal pada mencit albino swiss (Saini *et al*, 2014).

Kehamilan merupakan masa yang paling rentan terhadap kondisi lingkungan sekitar bagi ibu dan janinnya, sehingga harus memperhatikan keselamatan embrio yang dikandungnya terutama pada fase organogenesis yaitu proses pembentukan calon organ, pada fase ini sel-sel aktif berpolarisasi secara intensif dan mengalami diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi sehingga embrio sangat rentan terhadap teratogen sebab pengaruh dari makanan, minuman dan lingkungan sekitar yang mengandung senyawa kimia baik langsung ataupun tidak langsung dapat menyebabkan kematian pada fetus, terhambatnya pertumbuhan dan terjadinya kelainan pada proses pembentukan tulang. Pada pembentukan dan perkembangan tulang (osifikasi) dimulai hari ke 11 hingga ke 17 masa kehamilan pada mencit sehingga pada masa tersebut sangat rentan terhadap senyawa yang dapat masuk ke dalam plasenta (Thraser *et al*, 2006).

Toksisitas akut oral pada sampel senyawa nikel yaitu nikel florida, nikel sulfat, nikel klorida, nikel asetat, nikel sulfamate, nikel hidrokarbonat, nikel dihidroksida, nikel sulfida, nikel oksida, dan abu nikel memiliki toksisitas akut oral LD<sub>50</sub> sebesar 310-11.000 mg/kg BB. Senyawa ini termasuk dalam kategori sedikit toksik (Henderson *et al*, 2012).

Bila selama ini penelitian hanya terfokus pada pencemaran lingkungan atau efek alergi dari nikel. Maka peneliti mengamati efek teratogenik dari nikel secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan mencit. Penelitian dilakukan selama masa organogenesis, masa ini merupakan fase kritis kehamilan yang menyebabkan kerusakan pada janin dan nikel diberikan dalam bentuk nikel klorida heksahidrat rute pemberian oral satu kali sehari. Penelitian ini bertujuan

untuk mengamati efek teratogenik dari nikel pada mencit putih betina yang hamil, berupa kelainan skeletal dan morfologi akibat pemberian nikel.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Apakah pemberian  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  secara oral pada fase organogenesis memberikan efek teratogenik terhadap fetus mencit ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek teratogenik pemberian oral garam nikel pada mencit putih selama fase organogenesis.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek teratogenik yang ditimbulkan dari pemberian garam nikel secara oral selama fase organogenesis.

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Nikel**

#### **2.1.1 Karakteristik Nikel**

Nikel adalah logam unsur kimia perak putih yang secara alami ada di kerak bumi (Arita *et al*, 2012; Kong *et al*, 2014). Karena sifat fisik dan kimia yang unik, sangat keras, keras dari besi, feromagnetik, memiliki plastisitas yang baik dan sangat tahan terhadap karat dan korosi, nikel dan senyawanya banyak digunakan dalam industri (Reck *et al*, 2008; Kong *et al*, 2014).

Nikel memiliki berat molekul 58,69. Kelarutan nikel dalam air adalah 1,13 mg/L pada suhu 37°C. Nikel memiliki bilangan oksidasi -1, 0, +2, +3, dan +4, umumnya pada kondisi normal nikel memiliki bilangan oksidasi +2 (Ni<sup>+2</sup>). Nikel adalah feromagnetik yang baik dari panas dan listrik. Elemental nikel juga sangat tahan terhadap alkali yang kuat (US EPA, 1994; OEHHA, 2018)

#### **2.1.2 Sifat-Sifat Nikel**

Nikel adalah logam putih seperti perak yang bersifat keras dan anti karat. Logam ini membantu dalam proses pengubahan beberapa logam olahan dalam bentuk larutan yang menghasilkan energi (Rusmini, 2010). Nikel bersifat liat dapat ditempa dan sangat kukuh. Logam ini melebur pada 1455°C (Sari, 2013).

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III (1979), Nikel Klorida P NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O memiliki pemerian hablur atau serbuk hablur berwarna hijau. Dan mengandung tidak kurang dari 98,0 % NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O. Kelarutan larut dalam air.

Penetapan kadar nikel dengan cara larutkan 1 gram dalam 100 ml air, tambahkan larutan yang dibuat dengan melarutkan 3 gram natrium asetat P dalam air, panaskan hingga suhu 80°C. Titrasi dengan dinatrium adetat 0,1 M menggunakan indikator merah mordan 7 P. 1 ml dinatrium adetat 0,1 M setara dengan 23,77 mg  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

### **2.1.3 Aplikasi Nikel**

Dalam keadaan murni, nikel bersifat lembek, tetapi jika dipadukan dengan besi, krom dan logam lainnya, dapat membentuk baja tahan karat yang keras, mudah ditempa, sedikit ferromagnetis, dan merupakan konduktor yang baik terhadap panas dan listrik (Sari, 2013)

Garam nikel banyak digunakan dalam industri, dan sekitar 20% nikel diproduksi juga nikel sulfat dan nikel hidroksida untuk digunakan dalam rendaman elektroplating, baterai, pewarna tekstil dan katalis (US EPA , 1994). Nikel sulfat juga digunakan sebagai zat kimia yang menghasilkan senyawa nikel yang lain, dan pada elektroplating baja untuk menjadi enamel porselen. Nikel asetat digunakan sebagai katalis menengah, sebagai pewarna fixative di industri tekstil, dan elektroplating. Nikel karbonat digunakan untuk menghasilkan nikel monoksida, bubuk nikel, katalis nikel, dan kaca berwarna. Ini juga digunakan dalam elektroplating sebagai katalis untuk menghilangkan kontaminan organik dalam air (NTP, 2014).

Nikel merupakan zat gizi esensial untuk beberapa jenis hewan dan manusia. Nikel terdapat pada DNA dan RNA. Nikel berfungsi menstabilkan

struktur asam nukleat serta protein, dan sebagai kofaktor berbagai enzim. Defisiensi nikel bisa mengakibatkan kerusakan hati dan alat tubuh lain. Ni merupakan nonspesifik aktifator enzim. Ni spesifik untuk enzim urease dalam rumen sebagai *Ni-metalloenzym*. Ni berperan dalam metabolisme tubuh bersama dengan vitamin B-12. Ni mengatur kadar lipid dalam jaringan Ni juga berperan dalam sintesis fosfolipid. Manusia pada umumnya mengonsumsi nikel dari makanan sebesar 150 µg/hari, sedangkan intake Ni asal makanan pada orang dewasa sebesar 100-300 µg/hari. Sumber nikel dalam makanan antara lain terdapat dalam coklat, kacang buncis, biji-bijian, kacang-kacangan, dan serelia (Widowati, 2008).

#### **2.1.4 Mekanisme Masuknya Logam Nikel (Ni) ke dalam Tubuh**

Paparan nikel dapat terjadi melalui inhalasi, oral, dan kulit. Gejala awal dari paparan nikel karbonil berupa sakit kepala, mual, muntah, epigastrik, sakit dada disertai batuk-batuk, hiperpnea, sianosis, sakit lambung dan usus, serta keadaan lemah. Defisiensi nikel dapat mengakibatkan kerusakan hati dan alat tubuh lain, Ni merupakan nonspesifik aktifator enzim. Enzim yang mengandung nikel telah diidentifikasi dalam tanaman dan mikroorganisme. Kadar Ni dalam jaringan akan dijaga dan diatur oleh mekanisme homeostatik (Ridhowati, 2013).

##### **a. Melalui Inhalasi**

Paparan nikel dalam jangka panjang sering kali tidak jelas, paparan akut nikel berakibat fatal, terutama terjadinya paparan nikel karbonil. Senyawa nikel paling berbahaya adalah nikel tetrakarbonil yang mudah menguap, bila terinhalasi menimbulkan edema paru-paru. Paparan akut nikel berdosisi tinggi melalui

inhalasi dapat mengakibatkan kerusakan berat pada paru-paru dan ginjal serta gangguan gastrointestinal berupa mual, muntah dan diare.

b. Melalui Oral

Paparan nikel per oral sebagian besar akan dieksresikan melalui feses. Absorpsi nikel dalam makanan adalah sebesar 1-10%. Eksresi nikel dalam feses, akan meningkat sesuai dengan peningkatan intake Ni dalam makanan. Peningkatan konsumsi makanan yang mengandung nikel mengakibatkan peningkatan sensitivitas dermatitis serta meningkatnya kadar Ni dalam urin. Nikel dapat masuk melalui oral dari makanan dan minuman yang tercemar nikel.

c. Melalui Kulit

Paparan nikel lewat kulit secara kronis bisa menimbulkan gejala antara lain dermatitis nikel berupa eksema (kulit kemerahan, gatal) pada jari-jari, tangan, pergelangan tangan serta lengan. Sebesar 4-9% orang yang terpapar nikel akan menunjukkan dermatitis alergi, terutama pada orang yang menggunakan peralatan logam yang mengandung nikel, antara lain koin atau perhiasan. Kadar nikel dalam darah dipengaruhi oleh paparan nikel dan ditentukan oleh ada tidaknya terapi chelate.

### **2.1.5 Toksisitas Nikel**

Pada manusia, toksisitas nikel dipengaruhi oleh rute paparan, dosis, dan kelarutan senyawa nikel. Rute utama dari nikel adalah diinduksi melalui inhalasi yaitu paru-paru. Nikel juga dapat tertelan atau terserap melalui kulit. Target utama toksisitas dari nikel adalah organ ginjal dan paru-paru dan juga mungkin berpengaruh pada organ lain tetapi dalam tingkat rendah seperti hati, limpa,

jantung dan testis. Meskipun efek kesehatan yang paling umum terjadi dari toksisitas nikel adalah reaksi alergi (Cameron, 2011).

Sebuah studi pada manusia oleh US EPA (1994), mengungkapkan bahwa paparan nikel menyebabkan kerusakan permanen paru-paru, fungsi paru yang abnormal, nekrosis tubular ginjal, anemia, eosinofilia, dan hidung septum ulserasi. Perubahan kimia fisiologis dengan mengurangi retensi nitrogen, glukosuria, fosfaturia, dan ekskresi ion kalsium dan seng setelah paparan nikel juga dilaporkan. Penghambatan aktivitas ATPase dapat menyebabkan gangguan neurologis, kejang, dan koma.

Pada sebuah penelitian (Chan *et al*, 2016), mendapatkan hasil bahwa paparan nikel setelah 168 jam pada embrio katak (*Bombina orientalis*) pada konsentrasi 33,8 M dan 5,4 M dapat mempengaruhi perkembangan fungsional ingsang dan kematian embrio. Pada konsentrasi subletal (1-10 M), nikel menyebabkan kelainan embrio, termasuk ekor bengkok dan ekor displasia. Pada konsentrasi 10 M, nikel secara signifikan memberikan penurunan panjang ekor dan kepadatan otot ekor embrio. Pada penelitian lain (Saini *et al*, 2014) mengamati efek pemberian nikel pada mencit albino swiss pada postnatal didapatkan hasil pada dosis 184,5 mg/kg menunjukkan adanya pengurangan berat badan, angka kematian yang tinggi, peningkatan laju anomali morfologi di mata, tungkai dan ekor.

Menurut Widowati *et al* (2008), paparan nikel atau (Ni) dapat terjadi melalui oral, inhalasi dan kontak kulit. Nikel merupakan bahan karsinogenik alat respirasi, bagi pekerja industri pemurnian nikel. Pekerja yang terpapar nikel

ditempat kerja selama 40 tahun dapat mengalami kanker paru-paru dan kanker nasal. Para pekerja di lingkungan industri yang menggunakan bahan Ni pada awalnya menunjukkan perubahan sitologi pada sputa, yang selanjutnya berubah menjadi kanker alat pernafasan. Reaksi Ni dan karbonmonoksida (CO) menghasilkan nikel karbonil (NiCO<sub>4</sub>) yang bisa terurai menjadi Ni dan CO pada temperatur 200 °C. Proses tersebut merupakan metode yang mudah untuk pemurnian Ni. Nikel karbonil bersifat lebih toksik dan dapat mengganggu kesehatan masyarakat dibandingkan dengan senyawa nikel yang lainnya. Nikel dan senyawa nikel merupakan bahan karsinogenik. Inhalasi debu mengandung nikel sulfida dapat mengakibatkan kanker paru-paru, kanker rongga hidung, kanker pita suara serta kematian.

**Tabel 1. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji (Hodge dan Sterner, 1995 ; BPOM, 2014)**

Tingkat Toksisitas	LD <sub>50</sub> oral	Klasifikasi
1	≤ 1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg/kg	Toksik
3	50-500 mg/kg	Toksik sedang
4	500-5000 mg/kg	Toksik ringan
5	5-15 gram	Praktis tidak toksik
6	≥ 15 gram	Relatif tidak membahayakan

Jika dilihat dari tabel di atas, nikel termasuk kedalam tingkatan toksisitas 3 dengan klasifikasi toksik sedang karena nikel memiliki LD<sub>50</sub> 310 mg/kgBB (Handerson *et al*, 2012).

## 2.1.6 Kinetika Nikel dalam Tubuh (WHO, 1991)

### 1. Absorpsi

Jumlah nikel diserap dari udara diperkirakan akan bervariasi menurut tingkat atmosfer sekeliling, 75% asupan nikel melalui pernapasan masih dipertahankan dalam tubuh. Sekitar 50% nikel yang dihirup akan disimpan dalam mukosa bronkus, dan 25% disimpan dalam parenkim paru. Penyerapan nikel dari saluran pencernaan terjadi setelah konsumsi makanan, minuman, atau air minum yang tercemar nikel.

### 2. Distribusi dan Penyimpanan

Nikel diangkut dalam darah, terutama terikat albumin. Akumulasi nikel tertinggi terjadi pada ginjal, kelenjar endokrin, paru-paru dan hati. Konsentrasi tertinggi juga ditemukan pada otak setelah pemberian nikel karbonil.

### 3. Metabolisme

Ion nikel memiliki konfigurasi elektron yang memungkinkan sebagai ion pusat suatu senyawa kompleks, seperti kompleks nikel (II) dimetil glioksima. Pengompleks nikel dengan dimetil glioksima berperan sebagai katalis dalam metabolisme tubuh. Kombinasi senyawa kompleks  $[\text{Ni}(\text{EDTA})]^{2-}$  secara signifikan dapat dijadikan antikoagulan untuk mencegah penggumpalan darah.

### 4. Eksresi

Secara umum, nikel yang diserap melalui saluran pencernaan, akan dikeluarkan melalui feses. Pada manusia dan hewan, eksresi nikel melalui urin biasanya lebih besar.

### 2.1.7 Penggolongan Logam Berdasarkan Toksisitas

**Tabel 2. Penggolongan Ion-ion Logam Berdasarkan Toksisitas (Fernanda, 2012)**

Kelas A	Kelas Antara	Kelas B
Ca <sup>2+</sup>	Cr <sup>2+</sup>	Hg <sup>2+</sup>
Mg <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
Ba <sup>2+</sup>	As <sup>2+</sup>	Cu <sup>+</sup>
Be <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Ti <sup>+</sup>
Al <sup>3+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Ag <sup>+</sup>

Ion-ion logam kelas B merupakan yang paling toksik dan efektif untuk berikatan dengan kelompok -SH (misalnya sistein) dan kelompok yang mengandung nitrogen (misalnya lisin dan histidin imidazol) pada enzim (Palar, 2004).

Toksisitas logam berat bisa dikelompokkan menjadi 3, yaitu bersifat toksik tinggi yang terdiri dari unsur-unsur Hg, Cd, Pb, Cu, dan Zn, bersifat toksik sedang yang terdiri dari unsur-unsur Cr, Ni, dan Co, dan bersifat rendah yang terdiri atas unsur Mg dan Fe (Widowati *et al*, 2008).

### 2.2 Teratologi

Teratologi adalah studi tentang penyebab, mekanisme dan manifestasi embrionik yang cacat (abnormal). Zat kimia yang bersifat teratogen secara nyata dapat mempengaruhi perkembangan janin dan menimbulkan efek yang berubah-ubah, mulai *letalitas* sampai kelainan bentuk (malformasi) dan keterlambatan pertumbuhan. Prinsip teratologi adalah pemberian senyawa uji pada hewan percobaan pada masa kehamilan dan melihat pengaruhnya terhadap perkembangan fetus sehingga diketahui kemampuan atau potensi toksisitas

senyawa terhadap sel janin yang sedang berkembang (Lu, 1995; Harbinson, 2001).

Menurut Syamsudin (2011), suatu senyawa dianggap teratogenik jika proses zat tersebut :

- a. Menghasilkan rangkaian malformasi yang khas, mengindikasikan selektifitas organ tertentu.
- b. Memberikan efeknya pada tahap pertumbuhan jenis tertentu, yaitu selama organogenesis irgan target dalam periode waktu yang terbatas.
- c. Memperlihatkan insiden tergantung dosis.

Sedangkan teratogen merupakan bahan-bahan yang memiliki efek yang merugikan pada embrio atau janin antara tahap fertilisasi dan kelahiran. Walaupun gen dan kromosom yang abnormal dapat menyebabkan kecacatan, istilah teratogen biasanya dibatasi pada zat-zat dari lingkungan seperti obat-obatan dan virus. Teratogen dapat beraksi pada induk, pada plasenta, atau pada embrio/janin (Wilson, 1977).

Pada tahun 1928, Murphy memeriksa 320 wanita hamil dan menemukan 14 bayi dengan lingkaran kepala kecil dan cacat mental. Ternyata ibu-ibu ini menjalankan terapi radiasi pada awal kehamilannya. Di tahun 1944, Warkany dan Schraffenberger melaporkan cacat janin akibat kekurangan gizi. Di tahun 1941, Gregg memperkirakan adanya hubungan antara wanita hamil yang menderita rubella dengan kebutaan, ketulian dan kematian pada anak (Lu, 1995).

Di tahun 1961, W.Lens mengamati kaitan cacat anggota badan dengan obat sedatif dan antimual talidomid yang menegaskan bahwa obat juga dapat

melewati plasenta dan menimbulkan cacat lahir. Sejak saat itu, banyak obat yang diketahui bersifat teratogen (Salder, 2010).

Menurut Syamsudin (2011), teratogen dapat bekerja melalui beberapa proses, yaitu :

1. Mengubah kecepatan proliferasi sel
2. Menghalangi sel sehingga agregasi tak benar
3. Mengubah matriks yang mengganggu perpindahan sel-sel
4. Merusak bagian atau kemampuan sel berespons

### **2.2.1 Metode Uji Efek Teratogen (Manson *et al.*, 1982)**

Sejumlah metode yang dapat digunakan untuk menguji efek teratogenik, yaitu :

#### **a. Secara *In Vitro***

Sediaan uji diberikan pada biakan embrio yang dibuat pada tempat yang dikondisikan menyerupai kondisi rahim selama masa kehamilan.

Kelebihan metoda ini adalah dapat dilakukan dalam jumlah yang besar dengan waktu yang pendek, sedangkan kekurangan adalah kurang mencerminkan kejadian dimanusia.

#### **b. Secara *In Ovo* (pada telur)**

Sediaan uji disuntikkan pada bagian kuning telur yang fertil, selanjutnya telur diinkubasi. Efek diamati setelah pertumbuhan embrio sempurna. Kelebihan metode *in ovo* adalah dapat dilakukan dalam jumlah yang banyak dan sederhana dalam pengerjaannya. Kekurangannya adalah kurang mencerminkan kejadian pada manusia.

c. Secara *In Vivo*

Sediaan uji langsung disuntikkan pada hewan yang hamil pada masa organogenesis. Hewan uji dapat berupa rodensia atau primata. Kelebihan metode ini yaitu proses yang terjadi pada hewan dapat dianalogkan dengan proses yang terjadi pada manusia, sedangkan kekurangannya adalah memakan waktu yang lama.

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam uji efek teratogen adalah :

1. Rute Pemberian

Senyawa uji sebaiknya diberikan dengan rute yang sama dengan manusia.

2. Lama Pemberian

Pemberian senyawa uji dilakukan sepanjang masa organogenesis, dimana pada masa ini sensitifitas dari organ sangat tinggi terhadap teratogen.

3. Dosis

Dosis tertinggi yang digunakan dekat dengan dosis toksik terhadap induk dan dosis terendah yang diberikan harus tidak menampakkan efek buruk pada induk. Satu atau lebih dosis harus berada diantara kedua dosis tersebut. Uji efek teratogen sebaiknya dilakukan minimal dengan tiga atau empat dosis.

4. Pemilihan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang umum dipakai yaitu tikus, mencit, dan kelinci karena mudah didapat, murah, dan mudah dibiakkan. Disamping itu, hewan yang ideal untuk digunakan sebaiknya memiliki karakteristik berikut : farmakokinetik dari senyawa uji pada hewan percobaan mirip dengan manusia.

Transfer obat melalui plasenta dalam laju yang sama seperti manusia. Memiliki embrio dan fetus yang memiliki periode perkembangan dan jalur metabolisme yang mirip dengan konsep pada manusia.

### **2.2.2 Daur Estrus.**

Menurut Yatim (1996), mamalia yang bukan primata seperti mencit tidak mengalami menstruasi. Perubahan periodik yang terjadi dalam sekresi hormon kelamin selama periode tertentu dari siklus seksualnya disebut periode estrus. Siklus estrus adalah jarak antara masa estrus dengan masa estrus berikutnya. Secara fisiologis, siklus estrus terjadi di dalam ovarium, tetapi dapat diamati secara histologi melalui apusan vagina. Pada sel epitel vagina terdapat sel-sel pipih yang banyak, tergantung pada banyaknya hormon yang dihasilkan ovarium.

Daur estrus terdiri dari beberapa fase antara lain (Almahdy, 2012) :

1. Fase Proestrus

Pada asupan vagina dijumpai banyak sel epitel berinti dan sedikit leukosit. Lamanya sekitar 12 jam. Pada fase ini, hewan betina belum mau menerima hewan jantan untuk kopulasi. Ciri-ciri : vagina terbuka, berwarna merah dan basah.

2. Fase Estrus

Fase ini merupakan fase terpenting dalam daur estrus, karena pada fase ini hewan betina mau menerima hewan jantan untuk kopulasi. Lamanya fase ini adalah 12 jam dan pada asupan vagina ditemukan sel epitel bertanduk. Ciri-ciri : mirip dengan proestrus, tapi berwarna lebih merah dan kurang basah.

### 3. Fase Metestrus

Fase ini merupakan fase yang terjadi segera setelah fase estrus selesai. Pada asupan vagina ditemukan leukosit diantara sel epitel bertanduk. Lama fase ini adalah 6-12 jam. Pada fase ini, hewan betina menolak hewan jantan. Ciri-ciri : vagina terbuka, berwarna pucat dan tidak basah.

### 4. Fase Diestrus

Pada apusan vagina banyak ditemukan sel leukosit dan sel epitel berinti. Lamanya setengah dari daur estrus (48-57 jam). Ciri-ciri : vagina sedikit terbuka, berwarna ungu kebiruan dan basah.

Metode untuk menentukan siklus estrus (Almahdy, 2012) :

#### a. Secara histologis dengan menggunakan hapusan vagina.

Caranya adalah dengan meneteskan larutan NaCl fisiologis pada vagina mencit melalui pipet berujung tumpul. Kemudian tetesan tadi diambil dengan kapas (*cotton bud*) dan dioleskan pada kaca objek. Pada kaca objek ditetaskan metilen blue 0,5%. Amati dibawah mikroskop. Kelemahan metode ini adalah harus melakukan pengamatan setiap hari pada hewan uji.

#### b. Secara visualisasi.

Cara ini dilakukan dengan melihat secara langsung vagina mencit. Pada fase estrus hewan uji dapat dikawinkan, sedangkan kalau tidak berada pada fase estrus hewan uji dibiarkan dan besoknya dilihat kembali.

### 2.2.3 Proses Kehamilan

Manuaba *et al* (2012), mengemukakan kehamilan adalah proses mata rantai yang bersinambungan dan terdiri dari ovulasi, migrasi spermatozoa dan ovum, konsepsi dan pertumbuhan zigot, nidasi (implantasi) pada uterus, pembentukan plasenta dan tumbuh kembang hasil konsepsi sampai aterm.

#### a. Pembuahan (Fertilisasi)

Fertilisasi (pembuahan) adalah penyatuan sel telur/ovum (oosit sekunder) dan sel benih / spermatozoa yang berlangsung di ampulla tuba.

#### b. Pembelahan Sel (Zigot)

Pada manusia memiliki 46 kromosom, yaitu 44 kromosom otosom dan 2 kromosom kelamin. Ketika sudah pembelahan, sel telur (ovum) matang mempunyai 22 kromosom otosom serta 1 kromosom X, dan sel sperma mempunyai 22 kromosom otosom serta 1 kromosom X atau 22 kromosom serta 1 kromosom Y. Zigot adalah hasil pembuahan yang memiliki 44 kromosom otosom serta 2 kromosom. Pembelahan ini terjadi selama 3 hari (Prawirohardjo, 2010).

#### c. Nidasi (Implantasi)

Nidasi adalah masuknya atau tertanamnya hasil konsepsi pada stadium blatokista (blastula) ke dalam dinding uterus (endometrium) pada awal kehamilan. Umumnya nidasi terjadi pada dinding depan atau belakang rahim (korpus) dekat fundus uteri. (Mochtar, 2011).

#### d. Pertumbuhan dan perkembangan zigot-embrio-janin menjadi bakal individu baru (Sukarni, 2014)

#### **2.2.4 Periode Kritis Kehamilan**

Periode kritis selama perkembangan kehamilan pada manusia dapat dibagi dalam dua periode, yaitu periode embrionik dan periode perkembangan fetus. Selama fase awal, dua minggu pertama, proliferasi sel berlangsung cepat. Pada periode ini terdapat kerawanan terhadap embrio, tapi jarang menimbulkan teratogenik karena pada fase ini masih terdapat sifat totipotensi. Selama masa organogenesis embriologi masa fetal dimana organ yang dikandung sudah menyerupai organ bentuk dewasa secara kasar dan beberapa organ sudah dapat menjalankan fungsinya.

Menurut Syamsudin (2011), organogenesis (16-60 hari pasca konsepsi pada manusia) adalah masa dimana embrio paling sensitif terhadap paparan teratogenetik. Banyak kelainan struktural terjadi pada periode ini. Periode janin ditandai oleh pematangan secara cepat, pertumbuhan sel aktif, proliferasi dan migrasi, khususnya di dalam sistem saraf pusat. Paparan teratogenetik selama periode ini bisa menyebabkan keterlambatan pertumbuhan janin, kematian atau disfungsi sistem saraf pusat yang mungkin baru terdeteksi di akhir masa kanak-kanak.

Harbinson (2001), telah mengamati periode kritis kehamilan menggunakan senyawa uji rubratoksin terhadap mencit dan berkesimpulan bahwa periode kritis pada mencit dengan lama kehamilan 19 hari adalah hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan. Pada manusia periode kritis adalah pada fase diferensial organ yaitu pada hari ke-21 kehamilan sampai hari ke-56 kehamilan (trimeseter pertama).

Pajanan singkat teratogen pada periode kritis kehamilan dapat menyebabkan kemungkinan cacat yang berbeda-beda tergantung pada hari pajanan teratogen tersebut.

Perkembangan janin secara umum (Lu,1995) :

a. Tahap Pradiferensial

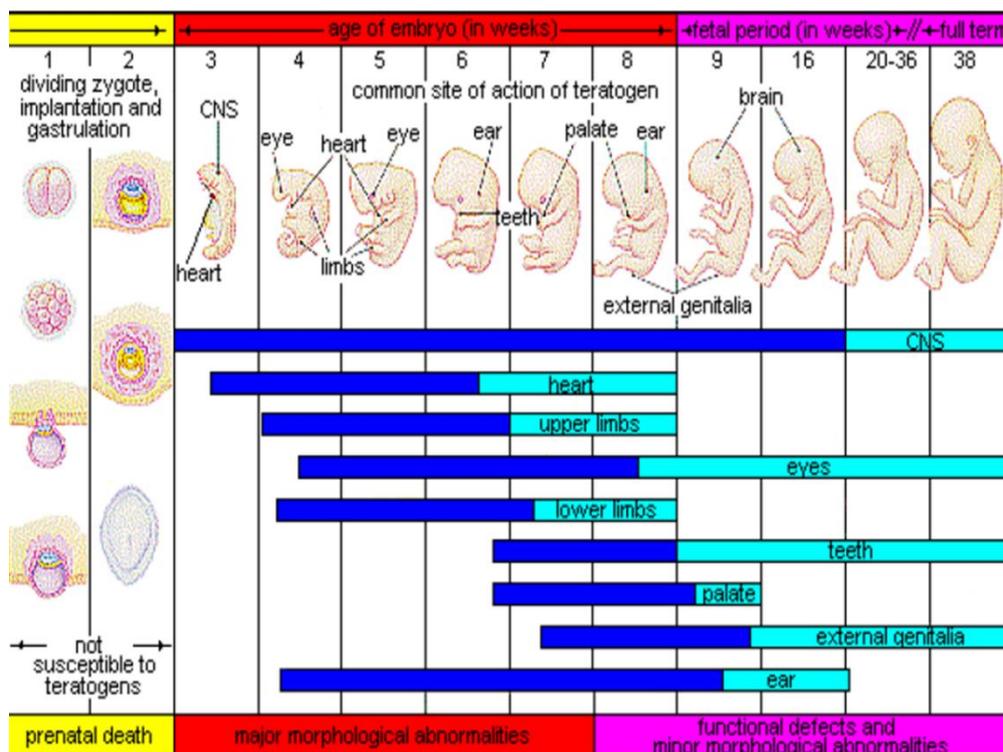
Selama tahap ini, embrio tidak rentan terhadap zat teratogen. Zat ini dapat menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian besar sel embrio, atau tidak menimbulkan efek nyata. Bahkan bila terjadi efek yang agak berbahaya, sel yang masih hidup akan menggantikan kerusakan tersebut dan membentuk embrio normal. Lamanya resistensi ini berkisar antara 5 sampai 9 hari, tergantung jenis dan spesiesnya.

b. Tahap Embrio

Dalam periode ini sel secara intensif menjalani diferensial, mobilisasi, dan organisasi. Selama periode ini organogenesis terjadi. Akibatnya embrio sangat rentan terhadap efek teratogen. Periode ini biasanya berakhir setelah beberapa waktu yaitu hari ke- 10 sampai hari ke- 14 pada hewan pengerat dan pada minggu ke- 14 pada manusia.

c. Tahap Janin

Tahap ini ditandai dengan perkembangan dan pematangan fungsi. Dengan demikian, selama tahap ini, teratogen tidak mungkin menyebabkan cacat morfologik, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi. Cacat morfologik umumnya mudah dideteksi pada saat kelahiran atau sesaat sudah kelahiran, tetapi kelainan fungsi, seperti gangguan SSP, mungkin tidak dapat didiagnosis segera setelah kelahiran.



**Gambar 1.** Periode Kritis Kehamilan (Lu, 1995)

### 2.2.5 Transfer Obat Melalui Plasenta

Fungsi utama plasenta adalah mengadakan difusi bahan-bahan makanan dari darah ibu ke darah fetus dan difusi produk ekskresi ke peredaran darah. Adapun fungsi-fungsi dari plasenta sebagai berikut :

1. Sebagai alat yang memberikan makanan pada janin (nutritif)
2. Sebagai alat yang mengeluarkan bekas metabolisme (ekresi)
3. Sebagai alat yang memberikan zat asam, dan mengeluarkan CO<sub>2</sub> (respirasi)
4. Sebagai alat yang membentuk hormon
5. Sebagai alat yang menyalurkan berbagai antibodi ke janin

Menurut Katzung (2004), berikut adalah faktor-faktor yang mempengaruhi transfer obat melalui plasenta pada janin adalah :

## 1. Farmakokinetik

Umumnya obat-obat yang digunakan wanita hamil dapat melintasi plasenta dan mempengaruhi embrio serta janin. Faktor yang mempengaruhi laju transfer obat ke plasenta dan efek obat pada janin antara lain :

- a. Sifat fisikokimia obat
- b. Kecepatan obat melintasi plasenta dan jumlah obat yang sampai pada janin
- c. Lama pemaparan obat
- d. Distribusi obat ke jaringan-jaringan yang berbeda pada janin
- e. Tahap perkembangan plasenta dan jaringan pada waktu pemaparan obat
- f. Efek kombinasi obat

## 2. Kelarutan

Obat lipofilik berdifusi dengan mudah melintasi plasenta dan masuk sirkulasi janin.

## 3. Ukuran Molekul

Obat dengan BM kecil dari 500 mudah melwati plasenta. Obat dengan BM 500-1000 agak sulit, sedangkan obat dengan BM >1000 biasanya tidak bisa melewati plasenta.

### **2.2.6 Mekanisme Teratogen**

Menurut Harbinson (2001), dari percobaan-percobaan teratologi dan embriologi diambil kesimpulan tentang mekanisme teratogen sebagai berikut :

#### 1. Mutasi

Merupakan mekanisme dasar cacat perkembangan yang merupakan perubahan urutan nukleotida pada molekul DNA. Informasi yang dikode kepada DNA akan disalin secara salah ke RNA dan kemudian pada protein.

Bila berefek pada sel somatik, maka ia akan ditransmisikan ke semua turunan sel, tetapi tidak bersifat turunan. Mutasi somatik pada awal embrionik dapat mempengaruhi sel progenik menyebabkan cacat struktur dan fungsi. Mutasi disebabkan oleh radiasi, mutagen kimia seperti asam nitrat, senyawa pengalkilasi dan faktor lain yang menyebabkan pemecahan kromosom.

## 2. Gangguan Mitosis

Gangguan mitosis disebabkan oleh senyawa sitotoksik yang menghambat sintesa DNA, sehingga memperlambat mitosis. Benang mitosis gagal terbentuk akibat senyawa kimia yang mengganggu polimerisasi tubulin kedalam kumparan mikrotubula.

## 3. Pemecahan Kromosom

Pemecahan kromosom dapat menyebabkan defisiensi atau penataulangan kromosom. Aberasi kromosom dapat disebabkan oleh virus, radiasi atau senyawa kimia. Defisiensi kromosom biasanya bersifat letal terhadap sel atau organisme, dan kelebihan kromosom juga akan merusak sel.

## 4. Kurangnya Prekursor dan Substrat untuk Biosintesis

Biosintesa akan berubah karena kurangnya zat makan tertentu. Adanya analog vitamin, asam amino tertentu, purin dan pirimidin dapat menyebabkan metabolit yang tidak normal dalam biosintesa.

## 5. Mengubah Integritas Asam Nukleat atau Fungsinya

Hal ini dapat terjadi akibat penggunaan antibiotik dan antineoplasma. Senyawa ini dapat mengganggu replikasi, transkripsi, translasi RNA dan asam nukleat. Gangguan translasi RNA dan sintesa protein merupakan mekanisme

teratogen senyawa sitotoksik. Senyawa yang mengganggu sintesis protein umumnya bersifat embriosida, tapi dapat bersifat teratogen.

#### 6. Fungsi Enzimatis

Fungsi enzimatis ini penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Antagonis asam folat akan menghambat dihidrofolat reduktase dan bersifat teratogen. Asetozolamid menghambat karbonik anhidrase dan mempengaruhi perkembangan fetus. Senyawa-senyawa teratogenik ini menghambat enzim dan mempengaruhi pertumbuhan fetus dan perkembangannya.

#### 7. Perubahan Sifat Membran

Perubahan sifat membran dapat menyebabkan ketidakseimbangan osmolar. Pelarut seperti DMSO akan menyebabkan perkembangan yang dihubungkan dengan pergeseran ionik antara kompartemen pada embrio ayam dengan merubah permeabilitas membran sel dan membran lain.

#### 8. Ketidakseimbangan Osmolaritas

Hipoksia dan zat menyebabkan hipoksia (CO dan CO<sub>2</sub>) dapat bersifat teratogen dengan mengurangi oksigen dalam proses metabolisme yang membutuhkan oksigen dan juga dapat menyebabkan ketidakseimbangan osmolaritas. Hal ini dapat menyebabkan edema dan hematoma, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kelainan bentuk dan iskemia jaringan.

#### 9. Suplai Energi

Terganggunya suplai energi dapat mengganggu perkembangan fetus, seperti kekurangan sumber glukosa. Gangguan glikolisis oleh senyawa iodoasetat dapat mengurangi penghasilan energi dan menyebabkan kelainan pada fetus. Kurangnya senyawa fiboflavin juga dapat menyebabkan teratogen.

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan dibulan Januari-April 2020 (selama  $\pm$  4 bulan) di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Kandang pemeliharaan dan kandang perlakuan, alat untuk pembedahan : gunting bedah, cawan petri dan tisu gulung, alat untuk pengamatan morfometri : kaca arloji, timbangan analitik, alat untuk pembuatan larutan alizarin red dan alcian blue : pinset, kaca arloji, pipet tetes, gelas ukur, dan gelas beker, alat untuk dokumentasi : kamera, alat untuk perlindungan diri : jas labor, sarung tangan, dan masker.

#### **3.2.2 Bahan**

Garam nikel ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), makanan mencit, aquadest, larutan alizarin red, larutan alcian blue, mencit, KOH 1%, alkohol 70%, eter, NaCl 0,9% dan gliserin.

### **3.3 Prosedur Kerja**

#### **3.3.1 Persiapan Hewan Percobaan**

Hewan yang digunakan pada percobaan ini adalah mencit putih (*Mus musculus*) betina dan jantan, berumur 7-9 minggu, berat badan berkisar 20-30 gram, tidak cacat dan tidak hamil. Jumlah mencit betina sebanyak 12 ekor dan mencit jantan 4 ekor. Kelompok hewan coba 3 ekor kelompok kontrol negatif, 3 ekor kelompok dosis 50 mg/kgBB, 3 ekor kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 3 ekor kelompok dosis 100 mg/kgBB

### **3.3.2 Aklimatisasi Hewan Percobaan dan Penentuan Siklus Estrus**

Aklimatisasi dilakukan selama 10 hari untuk membiasakan hewan berada pada lingkungan percobaan. Makanan dan minuman diberikan secukupnya. Berat ditimbang setiap hari dan diamati tingkah lakunya. Selama aklimatisasi dilakukan penentuan daur estrus dengan cara pengamatan vagina mencit secara visual, mencit dalam masa estrus ditandai dengan vagina mencit berwarna lebih merah dan bergetah.

Hewan yang digunakan dianggap sehat apabila perubahan bobot badan tidak lebih dari 10% secara visual menunjukkan perilaku yang normal dan mempunyai daur estrus yaitu 4-5 hari (Almahdy, 2011)

### **3.3.3 Pengawinan Hewan Percobaan**

Pada masa estrus hewan dikawinkan dengan perbandingan jantan dan betina 1 : 3. Mencit jantan dimasukkan ke kandang mencit betina pada pukul empat sore dan dipisahkan kembali besok paginya. Pada pagi hari dilakukan pemeriksaan sumbat vagina. Adanya sumbat vagina ini menandakan mencit telah mengalami kopulasi dan berada hari kehamilan ke-0. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan belum kawin dicampur kembali dengan mencit jantan (Almahdy, 2011).

### **3.3.4 Perencanaan Dosis**

Berdasarkan pada rentang dosis LD<sub>50</sub> pada nikel, yaitu 310 mg/kg BB (Handerson *et al*, 2012). Dosis diambil dibawah dari dosis LD<sub>50</sub>. Dosis dibuat dalam 3 tingkatan, yaitu 50, 100 dan 200 mg/kgBB.

### 3.3.5 Pembuatan Sediaan Uji

Larutan sediaan uji dibuat dengan melarutkan nikel klorida heksahidrat ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) pada berbagai dosis dengan aquadest yang cukup sampai volume yang dibutuhkan. Volume pemberian obat secara peroral 1% dari berat badan mencit.

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat Badan} \left( \frac{\text{gr}}{\text{BB}} \right)}{\text{VaO (mL)}}$$

Dosis I : 50 mg/KgBB

Dosis II : 100 mg/KgBB

Dosis III : 200 mg/KgBB

- $\text{VaO} = 1\% \times \text{Berat Badan}$

$$= 1\% \times 20 \text{ gr}$$

$$= 0,2 \text{ mL}$$

- Dosis yang diberikan pada mencit

$$\frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gr BB}} \times 20 \text{ gr} = 1,2 \text{ mg}/20 \text{ grBB}$$

- Konsentrasi Dosis I =  $\frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{grBB}} \right) \times \text{Berat Badan} \left( \frac{\text{gr}}{\text{BB}} \right)}{\text{VaO (mL)}}$

$$= \frac{\left( \frac{1,2 \text{ mg}}{20 \text{ grBB}} \right) \times \left( \frac{20 \text{ gr}}{\text{BB}} \right)}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 5 \text{ mg/mL}$$

$$= 0,5 \text{ gr}/100 \text{ mL}$$

$$= 0,5 \%$$

Untuk perhitungan dosis yang diberikan pada mencit dan konsentrasi dosis II dan III perhitungan mengikuti cara diatas masing-masing yaitu 1% dan 2%.

### **3.3.6 Pemberian Sediaan Uji**

Sediaan uji dan kontrol diberikan pada hari ke- 6 sampai hari ke- 15 kehamilan secara peroral satu kali sehari dengan kelompok sebagai berikut :

D0 = Kontrol negatif (tanpa perlakuan) hanya diberikan aquadest saja

D1 = Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 = Kelompok dosis 100 mg/kgBB

D3 = Kelompok dosis 200 mg/kgBB

### **3.3.7 Penimbangan Berat Badan Induk Mencit**

Lakukan penimbangan berat badan induk mencit setiap hari selama pemberian sediaan uji (nikel klorida heksahidrat) sampai mencit akan dilaparatomi.

### **3.3.8 Laparatomi**

Laparatomi dilakukan setelah usia kehamilan mencapai 18 hari, semua ekor mencit dari setiap kelompok dikorbankan dengan cara dibius dengan eter dan dibedah untuk dilakukan pengamatan terhadap ada atau tidaknya tapak resorpsi untuk fetus yang hidup dan yang mati pada masing-masing bagian fetus.

## **3.4 Parameter yang Diamati dalam Penelitian**

### **3.4.1 Jumlah fetus yang hidup dan mati**

Fetus hidup maupun mati kita bedakan berdasarkan warna dan gerakan fetus, kemudian dilakukan penghitungan jumlah fetus terhadap yang hidup dan mati.

### **3.4.2 Berat fetus**

Fetus dikeluarkan dari uterus lalu dibersihkan dari sisa darah dan ditimbang dengan timbangan digital berat tubuhnya.

### **3.4.3 Malformasi morfologi secara visual**

Pengamatan malformasi secara visual dilakukan dengan melihat adanya kelainan visual, misalnya pada ekor, daun telinga, kelopak mata, jumlah jari kaki depan dan belakang.

### **3.4.4 Resorpsi**

Pengamatan terhadap adanya resorpsi dilakukan dengan melihat adanya sisa embrio berupa titik hitam kehijauan pada dinding uterus, jumlah resorpsi yang ditemukan kemudian dihitung.

### **3.4.5 Malformasi rangka dan pertulangan**

Sebagian dari sisa pengujian malformasi visual, direndam dengan larutan merah alizarin dan alcian blue selama tiga hari sambil sesekali digoyang hingga fetus menjadi transparan. Sehingga nantinya terlihat tulang sejati berwarna merah dan tulang rawan berwarna biru. Amati kelainan tulang. Pengamatan dilakukan pada tulang dada, tulang kaki, dan tulang jari kaki. Semua hasil pengamatan dibandingkan dengan kontrol.

## **3.5 Analisis Data**

Data jumlah fetus dan berat badan fetus yang diperoleh dari pengujian ini akan dianalisis dengan analisa varian (ANOVA) satu arah. Jika hasil signifikan ( $p < 0,50$ ), analisa dilanjutkan dengan uji Duncan.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Setelah dilakukan uji teratogenik nikel terhadap fetus mencit *Mus Musculus* di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Hasil pengamatan terhadap perubahan berat badan induk mencit pada kehamilan hari ke-6 sampai ke- 18 sebelum dilakukan laparatomi, terlihat adanya perbedaan nilai rata-rata dari semua kelompok perlakuan. Rata-rata perubahan berat badan induk mencit pada kelompok kontrol negatif adalah 33,90 gram, dosis 50 mg/kgBB sebesar 32,59 gram, dosis 100 mg/kgBB sebesar 30,76 gram, dan dosis 200 mg/kgBB sebesar 29,38 gram (Lampiran 3, Tabel 3).
2. Hasil pengamatan terhadap jumlah dan berat badan fetus mencit dari hasil laparatomi induk mencit pada kelompok kontrol negatif rata-rata mempunyai jumlah fetus sebanyak 8,6 ekor dengan berat badan rata-rata 1,21 gram. Kelompok mencit dosis 50 mg/kgBB rata-rata memiliki jumlah fetus sebanyak 8,3 ekor dan berat badan rata-rata 1,23 gram. Kelompok mencit dosis 100 mg/kgBB rata-rata memiliki jumlah fetus sebanyak 8,3 ekor dan berat badan rata-rata 0,86 gram (Lampiran 4, Tabel 4 dan 5).
3. Hasil pengamatan makroskopis terhadap malformasi secara visual fetus ditemukan adanya *haemoragi* pada satu fetus dari induk mencit 1 pada kelompok dosis 50 mg/kgBB, dan enam ekor fetus pada induk 1 dan dua ekor fetus pada induk 3 pada dosis 100 mg/kgBB. Dan ditemukan juga

satu ekor fetus mencit yang mengalami *phocomelia* dan lambat pertumbuhan pada induk 1 dosis 100 mg/kgBB. Sedangkan pada dosis 200 mg/kgBB mencit mengalami keguguran pada induk 2 dan 3 dan terhentinya pertumbuhan fetus dan kematian pada induk 1 (Lampiran 5, Tabel 6)

## 4.2 Pembahasan

Dalam penelitian uji teratogenik nikel terhadap fetus mencit putih ini menggunakan nikel klorida heksahidrat sebagai sampel penelitian. Nikel klorida heksahidrat dipilih karena nikel dalam bentuk garam lebih mudah larut dalam air dari pada dalam bentuk logam. Nikel (Ni) merupakan zat gizi esensial untuk beberapa jenis hewan dan manusia. Ni terdapat pada DNA dan RNA. Ni berfungsi menstabilkan struktur asam nukleat serta protein, dan sebagai kofaktor berbagai enzim. Ni berperan dalam metabolisme tubuh bersama vitamin B-12. Ni mengatur kadar lipid dalam jaringan dan Ni juga berperan dalam sintesis fosfolipid. Manusia pada umumnya mengonsumsi Ni dari makanan sebesar 150 µg/hari, sedangkan intake Ni asal makanan pada orang dewasa rata-rata sebesar 100-300 µg/hari (Widowati *et al*, 2008)

Paparan nikel bisa terjadi melalui inhalasi, oral dan kontak kulit. Nikel dapat mengkontaminasi makanan selama pengolahan makanan tersebut menggunakan peralatan berbahan *stainless steel* mengandung nikel sehingga nikel dapat luruh dari *stainless steel* bila pengolahan makanan memakan waktu 1 jam seperti pada pembuatan bakso, soto, lontong dan sebagainya. Konsumsi makanan ini dalam kehidupan sehari-hari sulit dihindari oleh tiap orang termasuk ibu hamil.

Sangat berbahaya jika ibu hamil mengonsumsi nikel dalam jumlah berlebih karena tingginya kadar Ni dalam jaringan tubuh manusia dapat mengakibatkan munculnya berbagai efek samping. Menurut Widowati *et al* (2008), efek samping dari akumulasi Ni pada kelenjar pituitari bisa mengakibatkan depresi sehingga mengurangi sekresi hormon prolaktin dibawah normal. Akumulasi Ni pada pankreas bisa menghambat sekresi hormon insulin.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina dan jantan (*Mus musculus*) berumur 7-8 minggu dengan berat badan berkisar 20-30 gram. Mencit jantan yang digunakan sebanyak 4 ekor, sehat dan tidak cacat. Sedangkan mencit betina yang digunakan sebanyak 12 ekor, harus sehat, tidak hamil, belum pernah melahirkan dan memiliki daur estrus yang teratur. Beberapa penyebab yang menjadikan mencit sebagai hewan percobaan yaitu mencit memiliki tingkat reproduksi tinggi, mencit mudah beradaptasi, struktur tubuh mencit mudah dipahami, karakteristik mencit mirip dengan manusia dan mencit lebih rentan terhadap zat uji (Rustiawan, 1990 ; Putri, 2018).

Mencit diaklimatisasi selama 10 hari sebelum diberikan perlakuan. Durasi ini dilakukan dengan pertimbangan bahwa selama aklimasi tersebut dapat dilakukan dua kali pengamatan siklus estrus. Menurut Farmakope Indonesia edisi III, parameter yang diamati selama aklimasi adalah berat badan. Hewan yang sehat dapat ditentukan dari perubahan berat badannya. Selama aklimasi berat badan hewan tidak boleh memiliki fluktuasi lebih dari 10% dan selama pemeliharaan menunjukkan perilaku yang normal (Almahdy, 2012).

Setelah fase estrus diketahui, perkawinan mencit jantan dan betina dilakukan dengan perbandingan 1 : 3 (1 jantan : 3 betina) ketika sore hari karena mencit termasuk hewan yang *nocturnal* (aktif di malam hari). Setiap pagi dilakukan pengecekan sumbat vagina sebagai penanda mencit telah mengalami kopulasi dan berada hari kehamilan ke-0. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan belum hamil dicampur kembali dengan mencit jantan (Almahdy, 2011).

Pada penelitian ini, dua belas ekor mencit yang telah hamil dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor mencit sebagai ulangan. Tiap kelompok perlakuan mendapat perbedaan perlakuan. Untuk kelompok pertama sebagai kontrol negatif, hanya diberikan *aquadest*, untuk kelompok kedua diberikan nikel dengan dosis 50 mg/kgBB, kelompok ketiga diberikan nikel dengan dosis 100 mg/kgBB, dan kelompok keempat diberikan nikel dengan dosis 200 mg/kgBB.

Sediaan uji (nikel klorida heksahidrat) diberikan kepada induk selama fase organogenesis. Dimana pada fase ini terjadi pada hari ke-6 sampai ke-15 kehamilan, pada fase ini organ yang dikandung sudah menyerupai bentuk dewasa secara kasar dan beberapa organ sudah dapat menjalankan fungsinya. Pada kehamilan hari ke-1 sampai ke-5 tidak diberikan sediaan uji karena pada masa ini embrio pada periode pradiferensial, dimana terjadi proliferasi sel berlangsung cepat dan embrio masih memiliki sifat totipotensi. Pada periode ini terdapat kerawanan terhadap embrio tetapi jarang menimbulkan tertogenik (Manson *et al*, 1982, Horbinson, 2001).

Selama pemberian zat uji sampai laparatomi induk mencit ditimbang berat badannya. Penimbangan dilakukan untuk melihat keadaan gizi dan kesehatan induk secara umum dan melihat bagaimana pengaruh zat uji terhadap induk mencit. Dari grafik perubahan berat badan induk mencit (Lampiran 3, Tabel 3) terlihat pada hari ke-6 sampai ke-18 kehamilan terjadi kenaikan berat badan induk mencit pada kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Kenaikan berat badan tersebut disebabkan karena perkembangan fetus mencit dan bertambahnya volume cairan amnion, plasenta serta selaput amnion pada fetus (Almahdy dan Yandri, 2010). Rata-rata berat badan induk mencit selama kehamilan pada kelompok kontrol negatif, dosis 50 mg/kgBB, dan dosis 100 mg/kgBB secara berurut sebesar 34,85 gram, 32,59 gram, dan 30,76 gram. Sedangkan pada kelompok dosis 200 mg/kgBB mengalami penurunan berat badan, setelah dilaparatomi dilakukan pemeriksaan pada uterus dan fetus mencit. Hasilnya pada satu ekor induk didapatkan fetusnya tidak berkembang, tapi bukan tapak resorpsi. Pada dua ekor induk lainnya didapatkan uterus sudah menciut dan tidak ditemukannya fetus. Karena hal tersebut dapat dikatakan bahwa nikel dosis 200 mg/kgBB toksik terhadap induk dan fetus mencit. Oleh karena itu tidak dilakukan penimbangan berat badan fetus dan perhitungan jumlah fetus pada kelompok dosis 200 mg/kgBB (Gambar 10).

Pada hari kehamilan ke-18, selesai ditimbang induk mencit dikorbakan dengan cara dibius dengan eter untuk dilakukan laparatomi terhadap induk mencit untuk mengeluarkan fetus dari uterus. Laparatomi dilakukan untuk menghindari mencit melahirkan secara spontan atau alami, karena kelahiran spontan akan dapat

mengurangi jumlah data, karena adanya sifat kanibalisme rodensia. Biasanya mencit atau tikus akan memakan anaknya yang baru lahir jika anak tersebut cacat atau jumlahnya lebih dari jumlah mammae yang dimiliki induknya. Disamping itu, laparotomi dilakukan dengan tujuan untuk mengamati ada atau tidaknya tapak resorpsi yaitu gumpalan merah pada uterus sebagai bekas tempat tertanamnya fetus (Almahdy, 2012).

Setelah induk mencit dilaparotomi, kantong fetus dikeluarkan dari rongga perut induk mencit kemudian dikeluarkan dari selaput ovarium dan dibilas menggunakan larutan NaCl 0,9% agar darah yang masih melekat pada fetus bersih, lalu dikeringkan di atas tisu dan fetus dipindahkan ke atas cawan petri satu persatu lalu dihitung.

Dari hasil perhitungan jumlah mencit diperoleh jumlah fetus rata-rata pada kelompok kontrol negatif, dosis 50 mg/kgBB, dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB adalah sebanyak 8,6 , 8,3 , 8,3 dan 0 ekor (Lampiran 4, Tabel 4). Jika dibandingkan kelompok kontrol negatif memiliki jumlah fetus lebih banyak dari pada kelompok dosis. Tetapi secara statistika menggunakan analisa varian satu arah didapatkan pemberian nikel tidak mempengaruhi jumlah fetus mencit secara bermakna ( $Sig > 0,05$ ) (Lampiran 8).

Setelah dihitung, fetus kemudian ditimbang satu persatu. Dari hasil penimbangan berat badan fetus, kelompok kontrol negatif mempunyai rata-rata berat badan fetus mencit sebesar 1,21 gram, kelompok dosis 50 mg/kgBB mempunyai rata-rata berat badan fetus sebesar 1,23 gram, dan kelompok dosis 100 mg/kgBB mempunyai rata-rata berat badan fetus sebesar 0,86 gram. Jika

dibandingkan kelompok dosis 50 mg/kgBB memiliki rata-rata berat badan fetus mencit lebih tinggi dari pada kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Hasil perhitungan uji statistika ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa pemberian nikel selama masa organogenesis pada induk mencit terhadap berat badan fetus mencit tidak berbeda nyata ( $\text{Sig} > 0,05$ ) (Lampiran 7).

Hasil perendaman dengan larutan alizarin red dan alcian blue dapat diamati bentuk kelainan tulang fetus. Dimana alizarin red mampu terserap oleh osteum (tulang keras) bersifat asam dan memberikan warna merah keunguan pada tulang karena perbedaan muatan pada alizarin red dan osteum (Puspitasari, 2015). Sedangkan alcian blue bersifat basa dan akan terikat pada kartilago yang bersifat asam (Rudiyatmi, 2012). Hasil akhir mengindikasikan bahwa osteum akan berwarna merah dan kartilago berwarna biru. Hasil pengamatan dari tiap kelompok secara umum struktur skeleton teramati dan memiliki struktur yang normal, namun otot kurang transparan. Hal ini dicurigai karena perendaman dengan KOH 1% dalam waktu yang kurang optimal sehingga otot menjadi kurang transparan dan jernih.

Dari pengamatan dilakukan secara morfologi secara visual didapatkan satu ekor fetus mencit pada dosis 50 mg/kgBB dan delapan ekor mencit dosis 100 mg/kgBB mengalami *haemoragi* pada bagian leher, ekor dan kaki. *Haemoragi* spontan dapat disebabkan oleh disfungsi trombosit. Hal ini disebabkan adanya gangguan sirkulasi darah. *Haemoragi* adalah gangguan peredaran darah darah otak yang ditandai dengan adanya pendarahan intra serebral atau pendarahan subaraknoid. Sedangkan pada fetus dosis 100 mg/kgBB ditemukan fetus yang

mengalami *phocomelia* dan lambat pertumbuhan, hal ini dicurigai disebabkan oleh nikel yang dapat menghambat pembelahan sel. *Phocomelia* adalah kelainan kongenital yang melibatkan malformasi anggota badan.

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian uji efek teratogenik nikel terhadap fetus mencit putih maka dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian nikel selama masa organogenesis satu fetus mencit dosis 50 mg/kgBB mengalami *haemoragi*, pada dosis 100 mg/kgBB satu fetus mencit mengalami *phocomelia*, satu fetus mencit mengalami lambat pertumbuhan dan delapan ekor fetus mencit mengalami *haemoragi*. Sedangkan fetus mencit dosis 200 mg/kgBB tidak dapat diamati karena nikel bersifat toksik terhadap fetus sehingga induk mencit mengalami keguguran.

### **5.2 Saran**

Peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian uji teratogenik nikel terhadap spesies hewan lain karena adanya sifat kerentanan antar spesies.

## DAFTAR PUSTAKA

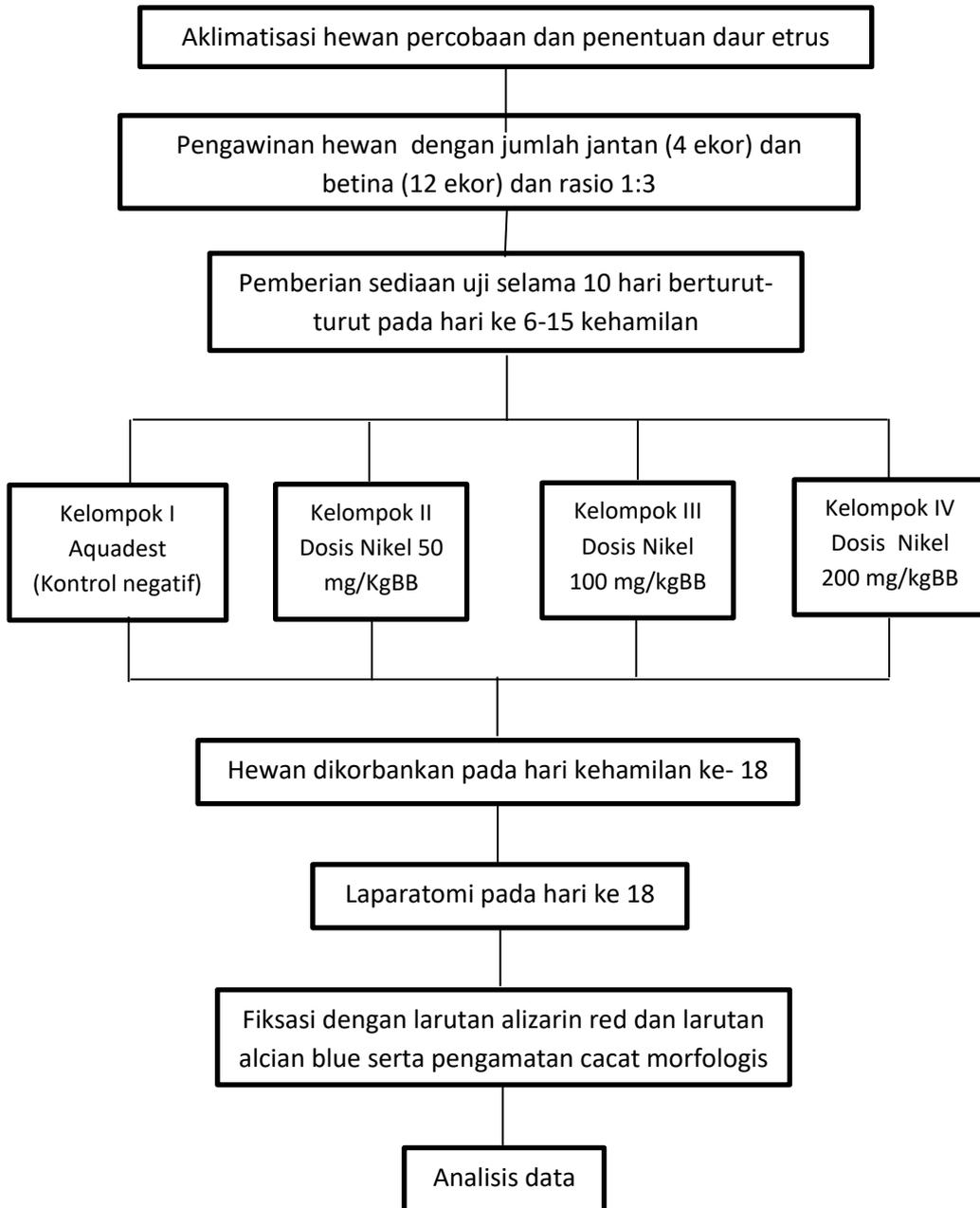
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATDSR). 2005. *Toxicological Profile for Nickel*. U.S. Department of Health and Human Service. Online <http://www.atsdr.cdc.gov/profiles/tp15.pdf> (Diakses pada tanggal 28 September 2019)
- Almahdy, A. 2012. *Teratologi Eksperimental*. Padang : Universitas Andalas Press
- Almahdy, A. 2011. Uji Aktivitas Vitamin A terhadap Efek Teratogen Warfarin Pada Fetus Mencit Putih. Medan : USU Press. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*; 617-629
- Almahdy dan Yandri, 2010. Uji Fetotoksisitas Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Pada Mencit Putih. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* Vol 15. N0.1 Hal 29-33
- Arita, A. Niu, J. Qu, Q. Zhao, N. Ruan, Y. Nadas, A. Chervona, Y. Wu, F. Sun, H.; Hayes, R.B. 2012. Global levels of histone modifications in peripheral blood mononuclear cells of subjects with exposure to nickel. *Environ. Health Perspect* 120; 198–203
- Barwell MS, NTP (National Toxicology Program). 2014. *Report on Carcinogen, Thirteen Edition*. Research Triangle Park, NC : U.S Department of Health and Human Service, Public Health Service. <http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/roc.13>. (13 oktober 2019)
- BPOM, 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara In Vivo*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Cameron, Keyuna Virginia .B, Paul B. Tchounwou. 2011. *Exploring the Molecular Mechanism of Nickel induced Genotoxicity and Carcinogenicity*. Israel : Weizmann Institute of Science. *Rev Environ Health* 26(2); 81–92
- Chan Jin Park, Sang Ha Song, Dae Han Kim, Myung Chan Gye. 2016. Nickel Affects Gill and Muscle Development in Oriental Fire-bellied Toad (*Bombina orientalis*) embryos). South Korea : Hamyang University. *Elsevier* 182; 67-78
- Das KK, Buchner V. 2007. Effect of nickel exposure on peripheral tissues: role of oxidative stress in toxicity and possible protection by ascorbic acid. *Rev Environ Health* 22; 133–49
- Das KK, Das SN, Dhundasi SA. 2010. Nickel: molecular diversity, application, essentiality and toxicity in human health. In: Blanc G, Moreau D, editors. *Biometals: molecular structures, binding properties and applications*. New York, NY: *Nova Science Publishers*, 20:33–58.

- Depkes RI. 1997. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Fernanda, Lidya. 2012. Studi Kandungan Logam Berat Timbal (Pb), Nikel (Ni), Kromium (Cr) dan Kadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan Sifat Fraksionasinya pada Sedimen Laut. *Skripsi*. Depok : Universitas Indonesia
- Harbinson, R.D. 2001. *The Basic Science of Poison Cassaret and Doull's Toxicology*. New York : Macmillan Publishing Co.Inc
- Henderson, Rayetta G. Jennifer Durando, Adriana R. Oller, Daniel J. Merkel, Palma A Marone, Hudson K. Bates, 2012 . Acute oral Toxicity of Nickel Compounds. USA : Durham University. *Elsevier* 62; 425-432
- Hutagalung, H.P. *Pencemaran Laut Oleh Logam Berat Dalam Status Pencemaran Laut Di Indonesai dan Teknik Pemantauannya*. P30. LIPI : Jakarta. Hal 45-59
- Katzung, B.G. 2004. *Basic and Clinical Pharmacology. (9rd Ed)*. San fransisco: Mc Graw-Hill Medical.
- Kong, Lu, Meng Tang , Ting Zhang, Dayong Wang, Ke Hu, Weiqi Lu, Chao Wei, Geyu Liang and Yuepu Pu. 2014. Nickel Nanoparticles Exposure and Reproductive Toxicity in Healthy Adult Rats. China : Medical School of Southeast University. *International Journal Molecular Sciences* 15; 21253-21269
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar (Edisi kedua)*. Penerjemah: E. Nugroho. Chicago : University of Chicago Press.
- Manson, J. M., Zenick, H., and Costlow. R. D. 1982. *Teratology Test Methods For Laboratory Animals*. New York : Revent Press
- Manuaba, Ida Bagus Gede. 2012. *Ilmu Kebidanan Penyakit Kandungan dan Keluarga Berencana untuk Pendidikan Bidan Edisi Kedua*. Jakarta : EGC
- Mochtar, R. 2011. *Sinopsi Obstetri Jilid 1*. Jakarta : EGC
- Mukono, HJ, 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Surabaya : Airlangga University Press
- Palar, H. 2004. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat Edisi ke-2*. Jakarta : Rineka Cipta
- Prawihardjo S. 2010. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta : PT Bina Pustaka

- Puspitasari, D. Johanes D B., Gatot S. 2015. Kunyit (*Curcums domestica* Val.) Sebagai Pewarna Alternatif Pewarnaan Tulang Embrio Ayam (*Gallus gallus*. Surabaya : Universitas Negeri Surabaya. *Bio Edu Berkala Ilmiah Pendidikan Biologi*, 4; 827-831
- Putri, Filu Marwati S. 2018. Urgensi Etika Medis dalam Penanganan Mencit pada Penelitian Farmakologi. Yogyakarta : Stikes Madani. *Jurnal Kesehatan Madani Medika* 9 (2) Hal 51-60.
- Reck, B.K.; Muller, D.B.; Rostkowski, K.; Graedel T.E. 2008. Anthropogenic nickel cycle: Insights into use, trade, and recycling. *Environ. Sci. Technol*, 42, 3394–3400
- Ridhowati, S. 2013. *Mengenal Pencemaran Ragam Logam*. Yogyakarta :Graha ilmu
- Rudiyatmi, Eli. 2012. *Bahan Ajar Mikroteknik*. Semarang : Biologi FMIPA UNNES
- Rusmini. 2010. *Analisis Besi dalam Mineral Laterit Melalui Proses Kopresipitasi Menggunakan Nikel Dibutil Dinokarbonat*. Semarang : UNNES
- Rustiawan A, Vanda J. 1990. *Pengujian Mutu Pangan Secara Biologis*. Bogor : Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor
- Salder TW. 2010. *Langman's Embryology*. Kedokteran. Edisi 10. Jakarta : EGC
- Saini,S. N, Nair, MR Saini. 2014. Effect of gestational administration of nickel on postnatal development in Swiss albino mice. India : Human and Experimental Toxicology. *SAGE Journals*.Vol. 33(12) 1199–1208
- Sari, Yulinda A. 2013. Penentuan Kadar Nikel dalam Mineral Laterit Melalui Pemekatan dengan Metode Kopresipitasi Menggunakan Cu-Pirolidin Dithiokarbonat. *Skripsi*. Semarang : UNNES
- Sukarni I, Sudarti. 2014. *Patologi Kehamilan, Persalinan, Nifas dan Neonatus Resiko Tinggi*. Yogyakarta : Nuha Medika
- Syamsudin. 2011. *Buku Ajar Farmakologi Efek Samping Obat*. Jakarta : Salemba Medika
- Thraser, J.D and K.H. Kilburn. 2006. *Embryo Toxicity and Teratogenecity of Formaldehyde (FA)*. California : University of Southern California. *Archives Enviromental Health An International Journal*. 56; 300-311.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). Guidelines for Deriving Numerical National Water Quality Criteria for the Protection of Aquatic Organisms and Their Uses; Office of Research and Development, Environmental Research Laboratories: Duluth, MN, USA; Narragansett, RI, USA; Corvallis, OR, USA, 1994; pp. 1–59.

- Widowati, W., Sastiono, A., dan Jusuf, R., 2008, *Efek Toksik Logam Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran*. Yogyakarta : Andi Yogyakarta
- Wilson, B. J. 1977. *Growth and Poultry Meat Production*. 1st. Britis Poultry Sci. Ltd. Scotland
- WHO (World Health Organization). 1991. *Enviromental Health Criteria 108 : Nikel*.
- Yatim. W. 1996. *Reproduksi dan Embriologi* (Edisi Ketiga). Bandung : Transito

### Lampiran 1. Skema Kerja Pengamatan Teratogen Nikel



**Gambar 2.** Skema kerja pengamatan efek teratogen dari nikel pada fetus mencit

## Lampiran 2. Surat Izin Etik Penelitian Menggunakan Hewan



**KOMITE ETIKA PENELITIAN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127  
Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNEP/2008  
e-mail: [fk2unand@pdg.vision.net.id](mailto:fk2unand@pdg.vision.net.id)

No: 203/KEP/FK/2020

### **KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK** ***ETHICAL CLEARANCE***

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:

*The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:*

#### **“Uji Teratogenik Nikel pada Fetus Mencit Putih Betina”**

Nama Peneliti Utama : Utari Khusnul Khotimah  
*Name of the Investigator*

Nama Institusi : STIFI Perintis Padang  
*Name of Institution*

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.  
*and recommended the above research protocol.*

Padang, 05 Maret 2020

Ketua  
*Chairperson*



Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)  
NIP. 1953 1109 1982 112 001

**Gambar 3.** Surat Keterangan Lolos Uji Kode Etik

**Lampiran 3. Hasil Uji Teratogenik Nikel Terhadap Fetus Mencit Betina Selama Kehamilan**

**Tabel 3. Berat Badan Rata-rata Induk Mencit Selama Kehamilan**

Hari ke-	Berat Badan induk mencit (g)			
	D0	D1	D2	D3
6	27,69	27,14	26,08	25,83
7	28,96	28,00	27,07	27,72
8	29,79	28,12	27,60	28,95
9	30,58	28,79	27,92	29,05
10	31,21	29,85	28,58	29,27
11	32,09	30,24	28,76	30,56
12	33,62	32,03	29,40	33,04
13	35,15	33,12	30,43	31,17
14	37,34	33,75	32,25	30,53
15	39,09	35,04	33,29	29,79
16	41,33	37,40	34,04	28,59
17	42,33	39,67	36,20	28,66
18	43,92	40,47	38,28	28,79
X ±SD	34,85± 5,45	32,59 ± 4,49	30,76 ± 3,76	29,38 ± 1,68

**Keterangan :**

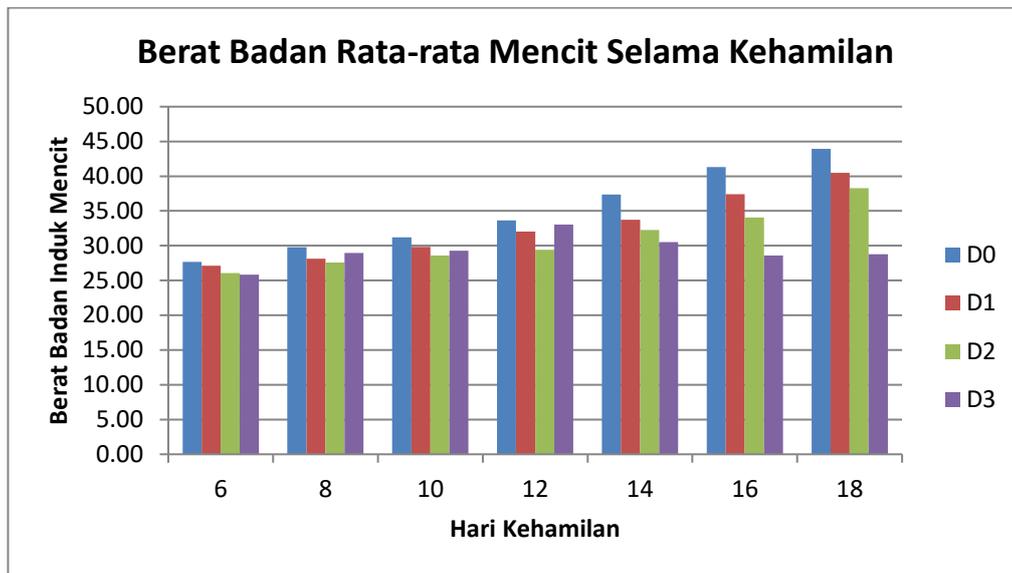
D0 : Kelompok Kontrol negatif

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB

D3 : Kelompok dosis 200 mg/kgBB

**Lampiran 3.** (Lanjutan)



**Gambar 4.** Grafik perubahan berat badan rata-rata induk mencit pada masa organogenesis kehamilan selama pemberian nikel untuk setiap kelompok perlakuan.

**Lampiran 4. Hasil Pengamatan Efek Teratogenetik Nikel Pada Fetus Mencit Betina Setelah Laparatomi Pada Hari Ke- 18 Kehamilan**

**Tabel 4. Jumlah Fetus Mencit dari Setiap Kelompok**

No. Mencit	D0	D1	D2	D3
1	11	10	11	0 (keguguran)
2	9	8	2	0 (keguguran)
3	6	7	12	0 (keguguran)
Jumlah	26	25	25	0 (keguguran)
X ± SD	8,6 ± 2,51	8,3± 1,52	8,3 ± 5,51	0 ± 0

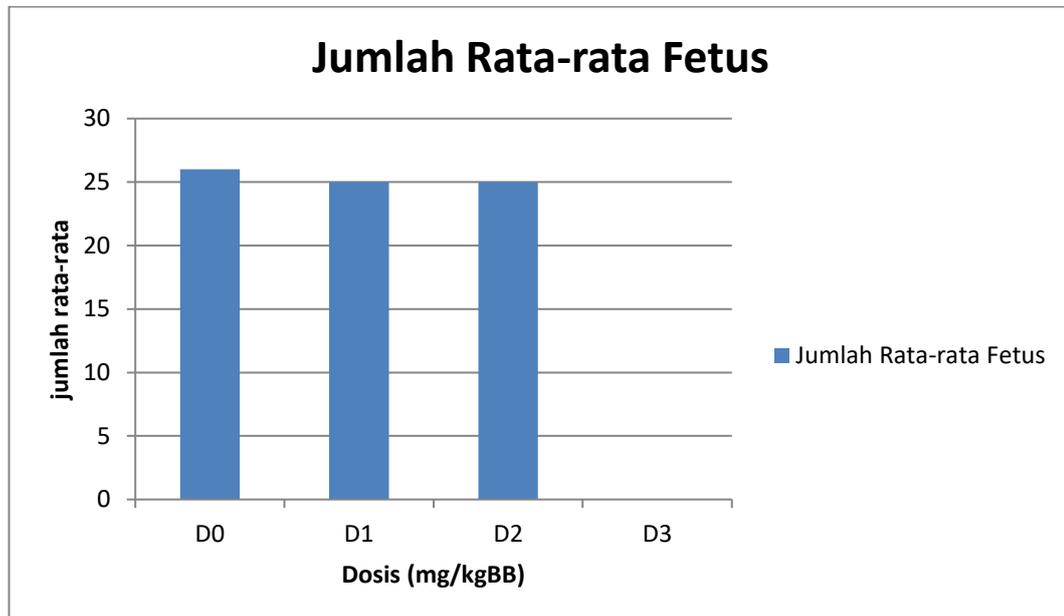
**Keterangan:**

D0 : Kelompok Kontrol negatif

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB

D3 : Kelompok dosis 200 mg/kgBB



**Gambar 5.** Diagram batang jumlah rata-rata fetus pada masing-masing dosis

**Keterangan:**

D0 : Kelompok Kontrol (-)

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB

**Lampiran 4. (Lanjutan)**

**Tabel 5. Rata-rata Berat Badan Fetus Mencit Setelah Laparatomi Pada Hari Ke-18 Kehamilan**

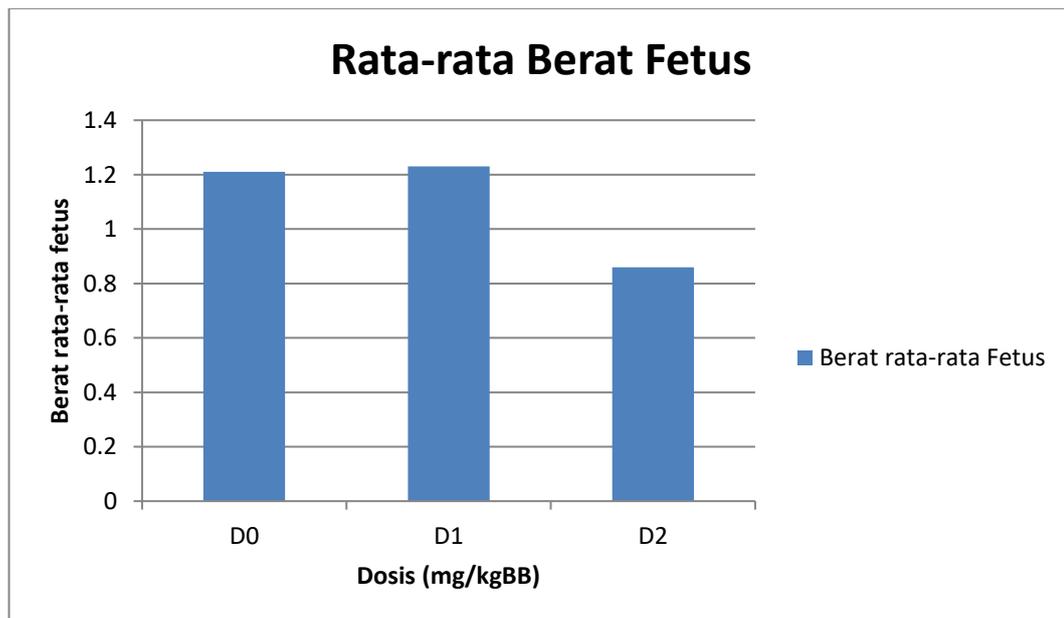
No.Mencit	D0	D1	D2
1	1,113	0,951	0,795
2	1,104	1,326	1,100
3	1,403	1,410	0,685
Jumlah	3,620	3,687	2,580
X ± SD	1,21 ± 0,17	1,23 ± 0,24	0,86 ± 0,22

**Keterangan:**

D0 : Kelompok Kontrol negatif

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB



**Gambar 6.** Diagram batang berat rata-rata fetus setelah laparatomi

**Keterangan :**

D0 : Kelompok Kontrol negatif

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB

**Lampiran 5. Pengamatan Makroskopis Fetus Mencit Untuk Malformasi Visual dan Skletal**

**Tabel 6. Pengamatan Makroskopis Fetus Mencit Untuk Malformasi Morfologi Visual dan Skeletal**

No	Pengamatan	Kelompok Perlakuan								
		D0			D1			D2		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	Fetus Mati	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Tapak Resorpsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Malformasi Morfologi secara visual									
	Ekor	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Daun Telinga	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Kelopak Mata	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	<i>Haemoragi</i>	-	-	-	(1)	-	-	(6)	-	(2)
	Jumlah Jari kaki depan & belakang	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Lambat pertumbuhan	-	-	-	-	-	-	(1)	-	-
	<i>Phocomelia</i>	-	-	-	-	-	-	(1)	-	-
4	Malformasi morfologi secara rangka dan pertulangan (skeletal)	N	N	N	N	N	N	N	N	N

**Keterangan :**

D0 : Kelompok Kontrol negatif

D1 : Kelompok dosis 50 mg/kgBB

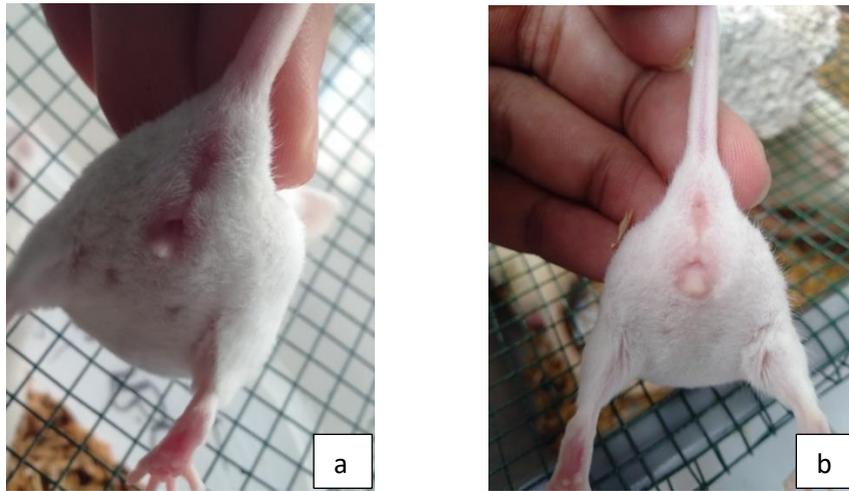
D2 : Kelompok dosis 100 mg/kgBB

N : Normal

- : tidak ada kelainan

( ) : jumlah fetus yang mengalami kelainan

## Lampiran 6. Foto Hasil Penelitian



**Gambar 7.** a. Mencit berada pada masa estrus yang ditandai dengan vagina terbuka, basah, dan berwarna merah  
b. Mencit tidak berada pada masa estrus



**Gambar 8.** Sumbat vagina menunjukkan mencit berada pada hari kehamilan ke-0

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

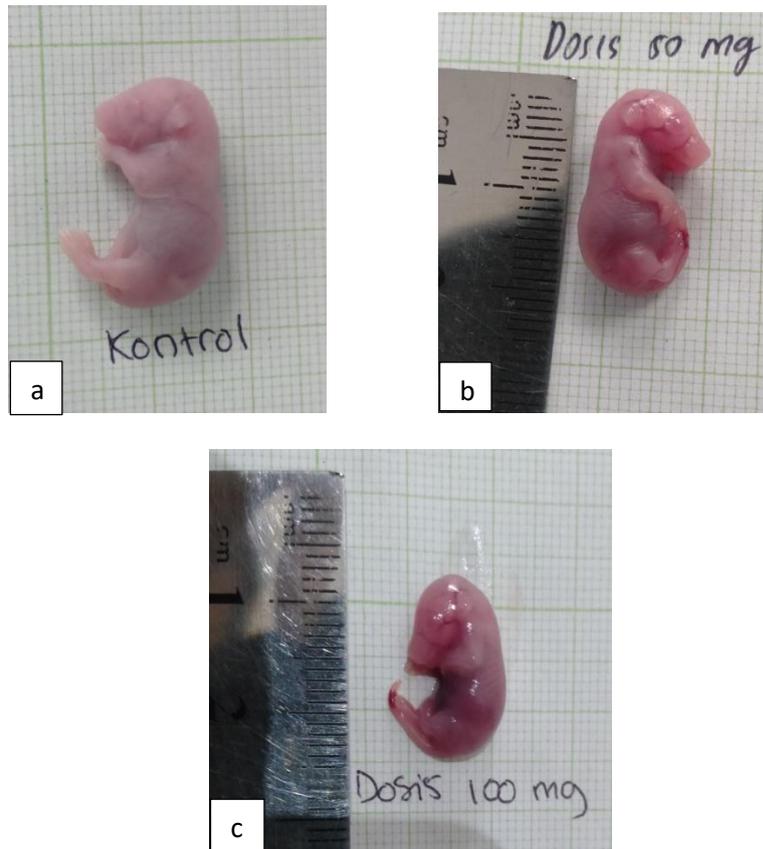


**Gambar 9.** Kehamilan mencit ke-18 hari

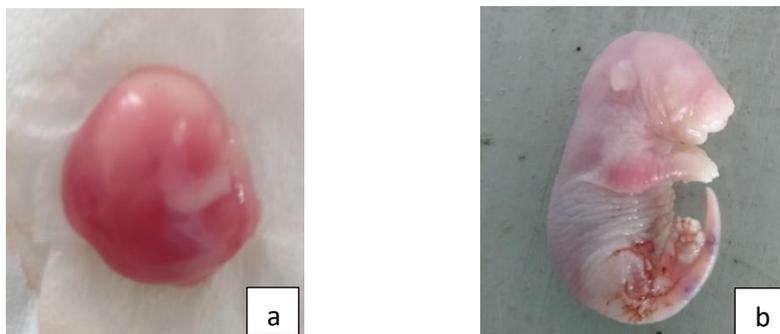


**Gambar 10.** a. Mencit setelah dilaparotomi  
b. Mencit mengalami keguguran

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

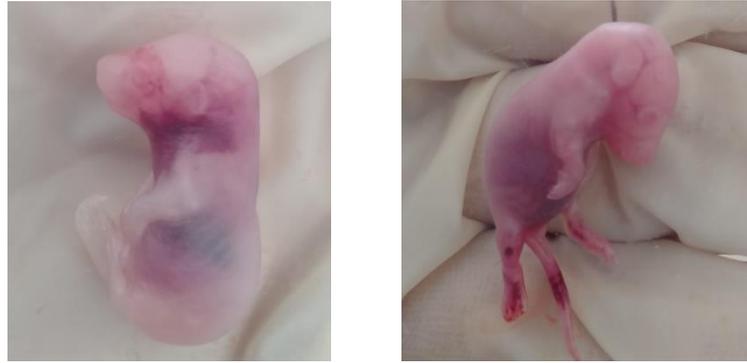


**Gambar 11.** a. Fetus mencit kontrol  
b. Fetus mencit dosis 50 mg/kgBB  
c. Fetus mencit dosis 100 mg/kgBB



**Gambar 12.** a. Fetus dosis 100 mg/kgBB yang mengalami lambat pertumbuhan  
b. Fetus dosis 100 mg/kgBB yang mengalami *phocomelia*

**Lampiran 6. (Lanjutan)**



**Gambar 13.** Fetus mengalami *haemoragi*



**Gambar 14.** a. Hasil pewarnaan ganda fetus mencit kontrol negatif  
b. Hasil pewarnaan ganda fetus mencit dosis 50 mg/kgBB  
c. Hasil pewarnaan ganda fetus mencit dosis 100 mg/kgBB

**Lampiran 6. (Lanjutan)**



**Gambar 15.** a. Induk mencit 1 dosis 200 mg/kgBB  
b. Fetus dosis 200 mg/kgBB yang terhenti pertumbuhannya

**Lampiran 7. Hasil Perhitungan Statistik Rata-rata Berat Badan Fetus Mencit**

No.Mencit	D0	D1	D2
1	1,113	0,951	0,795
2	1,104	1,326	1,100
3	1,403	1,410	0,685
Jumlah	3,620	3,687	2,580
X ± SD	1,21 ± 0,17	1,23 ± 0,24	0,86 ± 0,22

**Tabel.7 Hasil Uji Normalitas Rata-rata Berat Badan Fetus secara Statistik**

Rata-rata BB fetus	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol	,376	3	.	,773	3	,051
Dosis 50 mg/kgBB	,321	3	.	,882	3	,330
Dosis 100 mg/kgBB	,285	3	.	,931	3	,494

a. Lilliefors Significance Correction

**Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas Rata-rata Berat Badan Fetus secara Statistik**

Test of Homogeneity of Variances			
Rata-rata Berat Fetus			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,347	2	6	,720

**Tabel 9. Hasil Statistik ANOVA satu arah terhadap Rata-rata Berat Badan Fetus**

ANOVA					
Rata-rata Berat Fetus					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,257	2	,128	2,856	,134
Within Groups	,270	6	,045		
Total	,527	8			

## Lampiran 7. (Lanjutan)

### Rata- rata BB Fetus

Duncan<sup>a,b</sup>

X	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
dosis 100 mg/kgBB	3	0,86	
kontrol	3		1,21
dosis 50 mg/kgBB	3		1,23
Sig.		1,000	,681

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,00.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

**Lampiran 8. Hasil Perhitungan Statistika Jumlah Fetus Mencit**

No. Mencit	D0	D1	D2
1	11	10	11
2	9	8	2
3	6	7	12
Jumlah	26	25	25
X ± SD	8,6 ± 2,51	8,3 ± 1,52	8,3 ± 5,51

**Tabel 10. Hasil Uji Normalitas Jumlah Fetus secara Statistik**

Tests of Normality						
Jumlah Fetus	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol	,219	3		,987	3	,780
dosis 50 mg/kgBB	,253	3		,964	3	,637
dosis 100 mg/kgBB	,353	3		,824	3	,174

a. Lilliefors Significance Correction

**Tabel 10. Hasil Uji Homogenitas Jumlah Fetus secara Statistik**

Test of Homogeneity of Variances			
Jumlah Fetus			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,261	2	6	,071

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Tabel 11. Hasil Statistik ANOVA satu arah terhadap Jumlah Fetus**

**ANOVA**

Jumlah Fetus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,222	2	,111	,009	,992
Within Groups	78,000	6	13,000		
Total	78,222	8			

**Jumlah Fetus**

**Duncan<sup>a</sup>**

X	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 100 mg/kgBB	3	8,3
Osis 50 mg/kgBB	3	8,3
kontrol	3	8,6
Sig.		1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,00.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.