

TERATOGENITAS PEWARNA SINTETIS TRIPAN BIRU

Almahdy A dan Ratnawilis

ABSTRACT

A study of the effect of Trypan Blue on the foetuses was conducted in mice. In vivo method was used by injected the Trypan Blue solution sub-cutaneously in day 9 of gestation. Water was used in the control group. Dams were killed one day prior to parturition, and foetuses developed in Alizarin and Bouin's solution. The study showed that Trypan Blue was able to show the incident of cleft palate and skeletal anomalies in the pups examined ($p=0,05$).

PENDAHULUAN

Karena belum adanya Undang-undang penggunaan zat pewarna di Indonesia, maka terdapat kecenderungan penyalahgunaan pemakaian zat pewarna untuk sembarang bahan pangan; misalnya zat pewarna tekstil dipakai untuk makanan. Timbulnya penyalahgunaan zat warna tersebut disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk makanan atau disebabkan karena tidak adanya penjelasan dalam label yang melarang penggunaan senyawa tersebut untuk bahan pangan. Disamping itu harga zat pewarna untuk industri non makanan relatif lebih murah dibandingkan dengan zat pewarna untuk makanan.

Salah satu zat warna yang harganya murah, dan mudah diperoleh adalah suatu senyawa sintesis Tripian Biru. Hasil studi metabolisme menunjukkan bahwa setiap senyawa azo ($-N=N-$) agar dapat dieksresi keluar tubuh harus memiliki senyawa $-SO Na$ yang melekat pada bagian senyawa tersebut. Pada Biru Tripian terdapat bagian yang tidak memiliki gugus $-SO Na$ (Gambar 1). Diduga bagian senyawa tersebut tidak ikut dieksresi. Jika tidak dieksresi, maka kemungkinan besar bagian senyawa tersebut akan menumpuk pada pada bagian tertentu tubuh (Furia, 1978).

Senyawa yang menumpuk dalam tubuh pada wanita hamil akan diteruskan keplasenta atau terus dan secara langsung akan mempengaruhi fetus yang belum memiliki sistem eksresi. Fetus yang umumnya peka terhadap senyawa kimia akan memberikan respon berupa bentuk kelainan tubuh maupun fungsi fisiologis (Ullberg, 1982).

BAHAN DAN METODA

Hewan percobaan yang dipakai adalah mencit galur Swiss-Webster, berumur kurang lebih dua setengah bulan dengan berat antara 17 - 25 gram.

Penelitian didahului oleh tahap aklimasi pada mencit selama sepuluh hari, yang bertujuan agar mencit terbiasa dengan lingkungan yang akan dilaluinya. Pada tahap ini diamati tingkah laku dan penimbangan berat badan setiap hari. Apusan vagina dilakukan bagi mencit betina untuk penentuan siklus estrusnya. Mating dilakukan pada siklus proestrus atau estrusnya, dengan cara menyatukan mencit betina dengan jantan dalam satu kandang. Awal kehamilan ditetap bila dijumpai sumbat vagina pada pemeriksaan apusan vagina esok harinya. Pada periode kritis kehamilan senyawa diberikan. Untuk memperbandingkannya digunakan kelompok kontrol yang hanya diberi aquades saja. Pada hari ke 18 kehamilan mencit dibunuh, fetus dikeluarkan dan dihitung. Disamping itu juga diamati jumlah resorpsi dan kelainan yang terjadi. Selanjutnya fetus dimaserasi dalam larutan Alizarin dan larutan Bouin's. Kemudian beberapa parameter teratogenik diamati. Kebermaknaan setiap parameter uji dihitung dengan student t-test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 100 ekor mencit betina yang disediakan diperoleh 60 (60 %) ekor yang memiliki status baik sesuai dengan parameter yang lazim dalam Farmakope Indonesia untuk uji-uji hayati dengan menggunakan mencit, bahwa kenaikan atau penurunan berat badannya tidak melebihi 10%.

Dari 60 ekor mencit yang sehat tersebut diperoleh 43 ekor (71.67 %) yang memiliki daur estrus yang teratur antara 4 sampai 5 hari. Dari sejumlah mencit yang lolos uji tersebut digunakan sebanyak 32 ekor

untuk pengujian, masing-masing 16 ekor untuk kontrol dan perlakuan.

Efek Tripan Biru Terhadap Kenaikan Berat Badan Induk

Untuk melihat keadaan kasar keadaan gizi dan kesehatan induk secara umum, dilakukan analisa terhadap kenaikan berat badan selama kehamilan. Dalam penelitian dilakukan pada hari ke 12 dan hari ke 18. Pada hari pertama kehamilan analisa tidak dilakukan karena senyawa baru diberikan pada hari ke 9 kehamilan. Dari hasil uji-T ($p = 0.05$) dengan probabilitas 0.069 ternyata tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara berat badan kelompok kontrol dan kelompok uji pada kehamilan hari ke-12, sedangkan pada hari ke 18 juga tidak terdapat perbedaan pada $p = 0.05$ dengan probabilitas 0.0560 (Tabel 1 dan Tabel 2).

Dari hasil analisa tersebut dapat dikatakan bahwa induk mencit selama pemberian Tripan biru cukup sehat dan keadaan nutrisinya baik. Secara tidak langsung dapat diterangkan bahwa, senyawa yang diberikan tidak bersifat toksik terhadap induk maupun fetus secara umum. Keadaan gizi dan kesehatan induk secara umum selama kehamilan perlu diamati, karena cacat bawaan selain dapat disebabkan oleh faktor genetik, kromosom, juga dapat disebabkan oleh faktor lingkungan seperti infeksi tertentu dan defisiensi vitamin pada induk. Dengan penjelasan di atas dapat dikatakan bahwa, jika terdapat kelainan atau cacat dalam penelitian ini, maka cacat tersebut bukan disebabkan oleh faktor nutrisi (Wilson, 1978; Manson 1982).

Efek Tripan Biru Terhadap Jumlah Fetus dan Resorpsi

Untuk melihat pengaruh Tripan biru terhadap jumlah fetus, maka jumlah fetus yang ada dicatat. Dari segi jumlah fetus dari induk yang diberi tripan biru, jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan yang berasal dari induk kontrol. Untuk lebih memastikan apakah perbedaan tersebut berbeda secara nyata, dilakukan uji-t. Dari hasil uji-t pada $p:0.05$ dengan probabilitas 0.0345 ternyata terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah fetus pada kedua perlakuan tersebut, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada taraf $p=0.01$ (Tabel 3).

Untuk melihat pengaruh Tripan biru terhadap jumlah resorpsi, dilakukan uji-t. Hasil uji tersebut menunjukkan beda yang berarti pada $p:0,01$ (Tabel 4).

Jadi dari hasil analisa terhadap jumlah fetus dan resorpsi yang terjadi, dapat dikatakan bahwa senyawa tripan biru menyebabkan terjadinya penurunan jumlah fetus dan menyebabkan terjadinya resorpsi, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dengan kata lain dapat dikatakan bahwa, tripan biru berpengaruh terhadap keadaan kehamilan. Adanya resorpsi pada uterus dapat berupa kelanjutan sifat teratogenitas suatu senyawa terhadap hewan uji.

Efek Tripan Biru Terhadap Kelainan Morfologis

Fetus yang dimaserasi dalam larutan alizarin akan mengakibatkan fetus menjadi transparan dengan tulang berwarna merah. Dari hasil maserasi ini dapat diamati jumlah dan bentuk tulang rangka fetus tersebut. Kelainan bentuk dan jumlah tulang rangka juga merupakan salah satu parameter yang diamati pada penelitian-penelitian teratogenisitas suatu senyawa.

Dalam penelitian ini diamati bentuk dan jumlah tulang yang membentuk tulang rangka secara umum. Tulang rangka dihitung dan bentuknya dibandingkan dengan yang berasal dari kontrol. Kelainan yang terlihat adalah adanya sebagian fetus yang tidak memiliki tulang ekor, atau jumlah tulang ekornya tidak lengkap. Pada kelompok kontrol tidak terdapat kelainan tersebut.

Efek Tripan Biru Terhadap Terjadinya Cleft Palate

Fetus yang dimaserasi dalam larutan Bouin's akan menjadi keras dan berwarna kuning. Dari sini dapat diamati terjadi atau tidaknya cleft palate. Dari hasil amatan ternyata bahwa cleft palate terdapat pada kedua kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi Tripan biru. Untuk melihat apakah jumlah tersebut bermakna atau tidak dilakukan analisa t-test. Hasil analisa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah cleft palate yang terbentuk pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok yang diberi

tripan biru, pada $p:0,01$, dengan tingkat kemungkinan $5.069E-03$. Hasil analisa ini menunjukkan bahwa senyawa tripan biru dapat menyebabkan terjadinya cleft palate secara bermakna sekali dibandingkan dengan kontrol (Tabel 5).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :Tripan Biru yang diberikan secara sub-kutan pada hari kesembilan kehamilan dapat menyebabkan kelainan pada tulang rangka dalam hal ini terjadinya penundaan pertumbuhan tulang ekor (caudal) dan terjadinya cleft palate. Atau dengan kata lain bahwa senyawa tripan biru bersifat Teratogen terhadap mencit.

Walaupun pada mencit ditemukan adanya cacat, namun secara pasti belum dapat diprediksikan pada manusia, karena mencit merupakan hewan uji yang cukup peka terhadap terjadinya suatu kelainan akibat senyawa ataupun pengaruh eksogen. Jadi mencit dapat dianggap sebagai indikator dini, tetapi bukan sebagai prediktor yang pasti. Untuk itu disarankan agar dilakukan penelitian pada bangsa hewan uji lain, kalau perlu pada bangsa yang lebih tinggi yang sifat dan fisiologisnya lebih mirip dengan manusia, yakni bangsa primata.

DAFTAR PUSTAKA

- Furia, T. E., 1978, *Handbook of Food Additives*. The Chemical Rubber Co, Ohio
- Manson, J.M., et al, Teratology Test Method For Laboratory Animal, in *Principle Method of Toxicology*, ed. A.W. Hayes, Ravel Press, New York, 1982, 144-184.
- Ullberg, S, 1982, The Distribution of Drugs and Other Agents in the Fetus. *Developmental Toxicology*, Croom Helm, London.
- William, K.E. Biological Mechanism of the Teratogenesis, in *Developmental Toxicology*, ed. Snell, K., Croom Helm Ltd., London, 1982, 96-120.
- Wilson, J.G., Fraser, F.G, *Handbook of Teratology*, Plenum Press, New York, U. 1978, 94-72.

Tabel 1. Hasil Analisa Pengaruh Biru Tripian Terhadap Berat Badan Induk Pada hari ke 12 Kehamilan

	KONTROL	BIRU TRIPAN
MEAN	32.6313	32.0188
S.D.	.9541	1.2292
N	16	16
T	1.5745	(DF.30)
Prob.	0.0629	

Tabel 2. Hasil Analisa Pengaruh Biru Tripian Terhadap Berat Badan Induk pada Hari ke 18 Kehamilan

	KONTROL	BIRU TRIPAN
MEAN	43.7875	42.2688
S.D.	1.4528	3.4129
N	16	16
T	1.6378	(DF.30)
Prob.	0.0560	

Tabel 3. Hasil Analisa Pengaruh Biru Tripian Terhadap Jumlah Fetus Dibandingkan dengan Kontrol

	KONTROL	BIRU TRIPAN
MEAN	10.8125	9.3125
S.D.	2.0726	2.4144
N	16	16
T	1.8856	(DF.30)
Prob.	0.0345	

Tabel 4. Hasil Analisa Pengaruh Biru Tripian Terhadap Jumlah Resorpsi

	KONTROL	TRIPAN BIRU
MEAN	.8125	1.8750
S.D.	.9811	1.0247
N	16	16
T	-2.9959	(DF.30)
Prob.	2.723E-03	

Tabel 5. Hasil Analisa Pengaruh Biru Tripan Terhadap Jumlah Cleft Palate

PLATE	KONTROL	TRIPAN BIRU
MEAN	.5625	1.7500
S.D.	.8921	1.4832
N	16	16
T	-2.7443	(DF.30)
Prob.	5.069E-03	

Tabel 6. Data rata-rata, simpangan baku dan koefisien keragaman dari berat badan induk mencit, jumlah fetus, resorpsi dan cleft palate

KONTROL	Berat Badan		Fetus	Resorpsi	C.palate:
	Hari 12	Hari 18			
x	32.63	43.79	9.31	0.81	0.56
SD	0.95	1.45	2.07	0.98	0.89
KK	2.91	3.31			
T.BLUE	Berat Badan		Fetus	Resorpsi	C.palate:
	Hari 12	Hari 18			
x	32.01	42.89	10.81	1.88	1.75
SD	1.23	1.66	2.41	1.02	1.48
KK	3.84	3.87			

Gambar 1. Struktur molekul pewarna sintetis Tripan Biru

