Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 12, No. 1, 2007, halaman 32-40
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes

Helmi Arifin, Vivi Delvita, Almahdy A
Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas

Diterima tanggal : 01 Februari 2007 disetujui : 23 Maret 2007

Abstrak

Telah dilakukan uji pengaruh pemberian vitamin C terhadap fetus pada mencit diabetes. Mencit yang telah diinduksi diabetes dengan larutan aloksan diberi sediaan vitamin C secara oral dengan variasi dosis 13 mg/kgBB, 39 mg/kgBB dan 117 mg/kgBB pada hari ke enam sampai ke lima belas kehamilan. Pada hari ke delapan belas kehamilan dilakukan laparaktomi, kemudian dua pertiga jumlah fetus direndam dalam larutan merah alizarin dan sisanya dalam larutan Bouin's.

Hasil penelitian menunjukkan vitamin C pada dosis 13 mg/kgBB, 39 mg/kgBB dan 117 mg/kgBB tidak mempengaruhi berat badan induk dan jumlah fetus secara bermakna, namun memberi pengaruh terhadap berat badan fetus pada kontrol positif. Pada kontrol positif, induk mencit diabetes tanpa pemberian vitamin C, mengalami aborsi spontan dan ditemukan tapak resorpsi. Pengamatan efek teratogen secara makroskopis terhadap fetus dan uterus tidak memperlihatkan adanya malformasi.

Keywords : Vitamin C, fetus, diabetes.

Pendahuluan

Vitamin C (asam askorbat) merupakan salah satu vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Kekurangan vitamin C telah dikenal sebagai penyakit sariawan dengan gejala seperti gusi berdarah, sakit lidah, nyeri otot dan sendi, berat badan berkurang, lesu dan lain-lain (Lopedes, 1977). Vitamin C mempunyai peranan yang penting bagi tubuh manusia seperti dalam sintesis kolagen, pembentukan carnitine, terlibat dalam metabolisme kolesterol menjadi asam empedu dan juga berperan dalam pembentukan neurotransmiter norepinefrin.

Vitamin C mempunyai sifat sebagai antioksidan yang dapat melindungi molekul-molekul yang sangat diperlukan oleh tubuh, seperti protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat dari kerusakan oleh radikal bebas dan reaktif oksigen spesies (Higdon, 2004). Vitamin C juga dibutuhkan untuk memelihara kehamilan, mengatur kontrol kapiler darah secara memadai, mencegah hemoroid, mengurangi resiko diabetes dan lain-lain (Sardi, 2004).

Stress oksidatif merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara prooksidan (*reactive oxygen species*) dan antioksidan (Agarwal, 2005). *Reactive oxygen spesies* (ROS) adalah radikal bebas dan senyawa yang mudah membentuk radikal bebas yang cenderung reaktif dan bereaksi dengan senyawa lain. Di dalam tubuh ROS cenderung bereaksi dengan jaringan sehingga menimbulkan reaksi berantai yang menimbulkan kerusakan jaringan (Christianto, 2000). Kerusakan utama yang ditimbulkan oleh ROS adalah perubahan makromolekul seperti poliunsaturasi asam lemak dalam lipid membran, protein esensial dan DNA. ROS yang berlebihan juga mengganggu fungsi sel termasuk sel beta, sel endothelial, lemak, otot dan sel saraf (Chertow, 2004a). .

Pada diabetes mellitus mudah sekali terjadi pembentukan ROS yang berlebih (Christianto, 2000). Kadar gula darah yang tinggi menyebabkan stress oksidatif yang akan meningkatkan glikosilasi dan oksidasi dari protein yang berkaitan dengan patogenesis dari komplikasi diabetes. Stress oksidatif memberi kontribusi pada kerusakan fungsi islet dan resistensi insulin sehingga memperburuk kondisi diabetes.

Stress oksidatif juga meningkat pada diabetes semasa kehamilan dan dapat memberi kontribusi pada cacat kelahiran dan pertumbuhan yang abnormal pada janin (Cederberg, 2006). Sehingga dapat dinyatakan bahwa ROS terlibat dalam teratogenitas dari diabetes (Le Roith, 2000). Komplikasi yang sering terjadi pada diabetes semasa kehamilan diantaranya makrosomia, neonatus, keguguran, kematian intrauterin, ukuran janin besar, bayi prematur dengan insiden sindrom distress pernapasan yang tinggi serta malformasi janin (Wilson, 1994).

Stress oksidatif dapat diatasi dengan antioksidan dengan cara mengubah ROS menjadi H_2O untuk mencegah produksi yang berlebih dari ROS. Secara teoritis, vitamin C sebagai salah satu antioksidan dapat memutus rantai dan menghentikan perkembangan ROS dan menangkap radikal bebas sehingga bisa mengurangi stres oksidatif (Yatim, 1996).

Berdasarkan atas efek vitamin C sebagai antioksidan maka diuji apakah vitamin C ini dapat mengurangi stress oksidatif pada mencit yang diinduksi dengan aloksan dan mencegah malformasi pada fetus yang sedang berkembang.

Metodologi Penelitian

- **Persiapan, aklimatisasi Hewan Percobaan dan Penentuan Siklus Estrus**

  Dalam penelitian ini digunakan mencit betina berumur lebih kurang dua bulan, sehat, perawan, memiliki daur estrus yang teratur yaitu empat sampai lima hari dan berat berkisar 25 sampai 30 gram Aklimatisasi hewan dilakukan selama 10 hari untuk membiarkan hewan berada pada lingkungan percobaan. Makanan dan minuman diberikan secukupnya, berat badan hewan ditimbang setiap hari dan diamati tingkah lakunya (Farmakope Indonesia, 1995). Selama aklimatisasi dilakukan penentuan siklus estrus dengan metoda pipet, dengan cara menyemprotkan NaCl fisiologis menggunakan pipet berujung tumpul sebanyak satu atau dua tetes pada vagina mencit, kemudian dihisap kembali. Hasil hisapan diratakan pada kaca objek dan dikeringkan, setelah kering diberi pewarna metilen biru 0,1%, biarkan beberapa saat lalu amati bentuk sel-sel epitel dan leukositnya di bawah mikroskop (Yatim, 1996). Mencit yang digunakan dianggap sehat bila bobot badan tetap (deviasi maksimum 10%), secara visual menunjukkan prilaku yang normal dan mempunyai daur estrus yang teratur yaitu empat sampai lima hari.

Penginduksian Diabetes

Sebelum mencit dikawinkan mencit terlebih dahulu didiabeteskan dengan cara : mencit yang telah dipuasakan selama 18 jam (air minum tetap diberi) diinjeksi dengan larutan aloksan tetrahidrat secara intraperitoneal (IP) dengan dosis 200 mg/kg (Aguilar, 2000). Mencit diberi makan pelet dan minum yang mengandung glukosa 10% selama dua hari setelah pemberian aloksan (Chen, 2001). Hari ke-3 dan seterusnya minum glukosa 10% diganti dengan air minum biasa. Lalu dilakukan pengukuran terhadap kadar gula darah mencit. Mencit yang positif diabetes (kadar gula darahnya di atas 200 mg/dL) dikawinkan dengan mencit jantan.

- **Pengawinan Hewan Percobaan**

  Pengawinan hewan dilakukan pada masa estrus dengan mencampurkan hewan jantan dan betina (1:4). Mencit jantan dimasukkan ke kandang mencit betina pada pukul empat sore dan dipisahkan lagi besok paginya. Bila ditemukan sumbat vagina berarti mencit telah mengalami kopulasi dan berada pada hari kehamilan ke nol. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan yang belum kawin dicampur kembali dengan mencit jantan (Almahdy, 2004).

- **Pemberian Sediaan Uji**

  Pemberian sediaan uji dilakukan selama 10 hari berturut-turut mulai hari ke enam sampai hari ke lima belas kehamilan secara oral, tanpa mempuasakan hewan. Beberapa literatur menyebutkan bahwa dosis pemakaian vitamin C untuk wanita hamil adalah 85 mg/hari dan kebutuhan akan vitamin C makin meningkat pada kondisi gestational diabetes (Higdon, 2004). Maka dosis yang dipakai untuk penelitian ini adalah 100, 300, 900 mg/hari. Variasi dosis ditetapkan berdasarkan rumus Mallon (Thompson, 1975).

- **Pembuatan Larutan Alizarin Merah dan Larutan Bouin's**

  Larutan merah alizarin dibuat dengan cara menambahkan 6 mg merah alizarin pada satu liter larutan KOH 1 %. Larutan ini digunakan untuk mewarnai bagian skeletal dan pertulangan mencit. Larutan Bouin's dibuat dengan cara melarutkan asam pikrat dalam air panas dan dibuat jenuh, biarkan satu malam, kemudian ditambahkan formaldehid 14 % dan asam asetat glasial masing-masing dengan perbandingan 75:20:5. Larutan Bouin's digunakan untuk melihat bagian viseral fetus mencit (Manson, et al, 1982).

- **Laparaktomi**

  Pada hari ke delapan belas kehamilan mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan laparaktomi untuk mengeluarkan fetus dengan membedah pada bagian abdomen ke arah atas sampai terlihat uterus yang berisi fetus. Fetus dikeluarkan dengan memotong uterus dan plasenta selanjutnya diamati apakah ada resorpsi pada uterus yang ditandai dengan adanya gumpalan merah sebagai tempat tertanamnya fetus. Jumlah fetus pada masing-masing bagian uterus dihitung, juga fetus yang hidup dan yang

mati. Setelah fetus dikeringkan dengan kertas tissue, lalu ditimbang berat masing-masing fetus untuk mengetahui berat rata-rata kelahiran. Ada tidaknya kelainan secara visual seperti bentuk ekor, daun telinga, kelopak mata, jumlah jari kaki depan dan belakang juga diamati (Wilson and Warkany, 1975).

- **Fiksasi dan Pengamatan Cacat Morfologis**

Sepertiga dari jumlah fetus dari satu induk difiksasi dengan larutan Bouin's selama empat belas hari sampai berwarna kuning dan keras, kemudian fetus dikeringkan, diperiksa bagian luar fetus yang meliputi telinga, mata, kaki dan ekor. Selanjutnya diamati ada tidaknya celah pada langit-langit dengan menyelipkan pisau bedah pada geraham, sayat kepalanya menurut bidang datar tepat di bagian tengah daun telinga.

Sisanya dua pertiga bagian lagi, direndam dengan larutan merah alizarin biarkan selama dua sampai tiga hari, sambil sekali-kali digoyang sampai fetus menjadi transparan dan akan terlihat tulang yang berwarna merah, kemudian diamati kelainan tulang dan hitung jumlahny. Selanjutnya fetus dikeluarkan dan disimpan dalam larutan yang terdiri dari etanol 70%, gliserin dan formaldehid 14%. Pengamatan dilakukan terhadap tulang dada, tulang kaki dan jari-jari kaki, semua hasil pengamatan dibandingkan dengan kontrol (Alamhdy, 1993).

Data yang dikumpulkan dari penelitian ini berupa :

- Berat badan induk mencit selama kehamilan setelah diberi sediaan uji sampai laparaktomi
- Jumlah fetus, jumlah fetus yang hidup dan yang mati.
- Pengamatan berat badan fetus
- Jenis cacat
- Jumlah fetus yang cacat
- Pengamatan terhadap hasil fiksasi dengan larutan Bouin's dan larutan merah alizarin

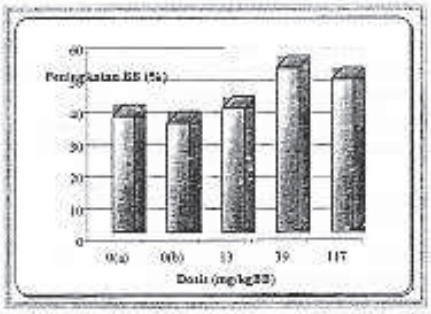
Analisa Data

Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan metoda analisa varian satu arah dan uji berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Mencit yang telah didiabeteskan dengan menginduksinya dengan larutan aloksan secara intraperitoneal (IP) diberikan vitamin C secara oral pada masa kritis kahamilan, yaitu pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan tanpa mempuasakannya. Hasil menunjukkan bahwa peningkatan berat badan rata-rata induk mencit diabetes selama pemberian larutan vitamin C pada dosis 13, 39 dan 117 mg/kgBB berturut-turut adalah 51.11, 38.69, 47.58% serta pada kontrol positif dan kontrol negatif adalah 34.04% dan 36.2%.



Gambar 1. Diagram batang peningkatan berat badan rata-rata induk mencit pada masing-masing kelompok dosis

Ket : (a). Kontrol negatif
(b). Kontrol positif

Tabel 1. Berat badan rata-rata induk mencit selama kehamilan

Hari ke	Berat Badan (gram)				
	D_1	D_2	D_3	D_4	D_5
6	30.5	28.4	28.8	32.8	30
7	31.54	28.86	29.44	33.9	30.52
8	32.02	29.5	30.3	35.02	32.54
9	32.66	30.2	31.24	35.3	32.92
10	32.94	30.6	32	36.44	33.5
11	34.18	31.86	33.16	37.4	34.46
12	34.98	32.6	34.3	38.34	35.04
13	36	33.64	35.9	38.34	35.86
14	36.92	34.8	37.3	39.6	37.5
15	38.24	29.56	38.6	40.4	39.26
16	39.72	30.72	40.3	41.54	40.8
17	40.62	30.96	41.74	43.4	42.34
18	41.5	32	43.2	45.26	44.1

Keterangan : D_1 = kelompok kontrol negatif
D_2 = kelompok kontrol positif
D_3 = kelompok dosis 13 mg/kgBB

D_4 = kelompok dosis 39 mg/kgBB
D_5 = kelompok dosis 117 mg/kgBB

Pemberian vitamin C pada induk mencit yang diabetes tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah fetus (Tabel I). Pada perhitungan statistik dengan analisa secara varian menunjukkan hasil $p>0.01$ (Tabel II).

Pengaruh pemberian vitamin C terhadap berat badan fetus dapat dilihat pada Tabel IV. Pada perhitungan statistik dengan analisa secara varian menunjukkan hasil $p<0.01$ (Tabel III)

Tabel II. Hasil perhitungan analisa varian terhadap pertambahan berat badan rata-rata induk mencit selama pemberian vitamin C

Sumber Ragam	Db	JK	KT	F Hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Zat uji	4	77.83	19.458	1.839	2.87	4.43
Galat	20	211.629	10.582			
Total	24	289.459				

Tabel III. Hasil Perhitungan analisa varian terhadap jumlah fetus setelah dilaparaktomi

Sumber ragam	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0.05	0.01
Zat uji	4	4	1	0.345	2.87	4.43
Galat	20	58	2.9			
Total	24	62				

Tabel IV. Berat rata-rata fetus mencit setelah dilaparaktomi pada hari ke-18 kehamilan

No Mencit	Berat badan rata-rata fetus setelah dilaparaktomi				
	D1	D2	D3	D4	D5
1	1.091	0.455	0.774	0.889	1.008
2	0.981	0.824	0.88	0.897	0.914
3	1.002	0.295	0.972	0.853	0.917
4	1.005	0.952	0.888	0.953	0.969
5	0.99	0.427	0.832	0.899	0.92
Jumlah	5.069	2.953	4.346	4.491	4.728
$\overline{X} \pm SD$	1.014 ± 0.044	0.591 ± 0.282	0.869 ± 0.073	0.898 ± 0.036	0.946 ± 0.042

Secara makroskopis, pemberi-an vitamin C pada mencit yang diabetes tidak memperlihatkan adanya kelainan pada telinga, kelopak mata, jari kaki, tulang, ekor pada dosis 13, 39, 117 mg/kgBB. Pada kontrol positif ditemukan 2 tapak reserbsi pada satu induk mencit .

Pembahasan

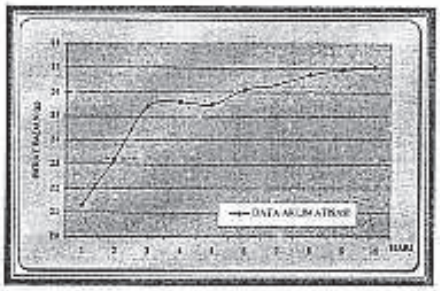
Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah vitamin C. Vitamin C mempunyai sifat sebagai antioksidan yang mampu meredam radikal bebas dan reaktif oksigen spesies (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Sardi, 2004). Radikal bebas dan ROS mudah terbentuk pada penderita diabetes mellitus yang akan menyebabkan terjadinya stress pada molekul dan jaringan tubuh. Pada kehamilan dengan diabetes, radikal bebas dan ROS tidak hanya akan merusak jaringan si ibu tapi juga mempunyai potensi yang besar merusak jaringan janin. Untuk itu digunakan vitamin C untuk melihat pengaruh vitamin C dapat melindungi janin dari serangan radikal bebas dan reaktif oksigen spesies (Cederberg, 2006).

Vitamin C yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin yang beredar di pasaran. Vitamin C merupakan vitamin yang mudah larut dalam air, sehingga dalam membuat sediaannya cukup digunakan pelarut air . Karena vitamin C mudah teroksidasi oleh udara, terutama dalam bentuk larutan, maka dalam pengerjaannya sediaan tidak boleh terlalu lama dibiarkan berinteraksi dengan udara. Oleh karena itu sediaan harus segera disimpan di dalam lemari pendingin begitu selesai digunakan.

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih. Para ahli banyak menggunakan mencit untuk hewan percobaan, disamping mempunyai struktur fisiologis yang mirip dengan manusia, penggunaan mencit sebagai hewan percobaan juga mempunyai beberapa keuntungan seperti waktu kehamilan yang singkat yaitu 18 hari, jumlah fetusnya yang banyak, pemeliharaannya yang mudah dan harganya yang relatif murah. Selain itu dalam beberapa penelitian menyebutkan bahwa mencit lebih rentan terhadap teratogen dibandingkan hewan percobaan lainnya (Manson, 1982).

Pada penelitian ini hewan yang digunakan adalah mencit betina yang sehat dan perawan atau belum pernah melahirkan. Hal ini didasarkan pada teori bahwa anak generasi pertama mencit lebih banyak daripada anak generasi berikutnya, sehingga dengan menggunakan mencit yang belum pernah melahirkan data yang akan diperoleh lebih banyak.

Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama kurang lebih 10 hari untuk membiasakan hewan percobaan berada dalam lingkungan percobaan dan menghindari hewan percobaan mengalami stress yang dapat mempengaruhi data. Selama aklimatisasi diamati daur estrus, penimbangan berat badan dan pengamatan tingkah laku (Gambar 2).



Gambar 2. Diagram garis berat badan rata-rata induk mencit selama aklimatisasi

Hewan yang sehat berdasarkan standar Farmakope Indonesia Edisi III adalah hewan yang tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% dan selama pemeliharaan menunjukkan prilaku yang normal. Selain itu hewan yang digunakan adalah hewan betina yang memiliki daur estrus yang teratur, hal ini perlu dilakukan agar tidak terjadi kehamilan semu walaupun ditemukan sumbat vagina pada waktu pengawinannya.

Dalam penginduksian diabetes digunakan aloksan tetrahidrat dengan dosis 200 mg/kgBB secara intraperitoneal IP. Aloksan merupakan zat diabetogen yang bekerja selektif terhadap sel β pulau Langerhans pankreas sehingga menghambat pengeluaran insulin yang mengakibatkan hewan percobaan menderita diabetes (Chen, 2001).

Setelah mencit didiabeteskan, masing-masing mencit diukur kadar gula darahnya dengan alat Glukotest. Mencit yang dapat digunakan untuk penelitian adalah mencit yang telah positif diabetes yaitu yang mempunyai kadar gula darah di atas 200 mg/dL (Tabel V) (Aguilar, 2000).

Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa masing-masing mencit telah benar-benar diabetes sehingga hewan percobaan dapat dikondisikan berada dalam keadaan yang seragam.

Dosis vitamin C yang digunakan pada penelitian ini adalah 13, 39 dan 117 mg/kgBB. Pada beberapa literatur menyebutkan bahwa dosis vitamin C per hari untuk ibu hamil adalah 85 mg/hari. Konsumsi vitamin C meningkat 10 – 25 mg/hari pada ibu hamil dan menyusui, oleh karena itu dosis minimal untuk penelitian ini adalah dosis 100 mg/hari. Variasi ditetapkan berdasarkan rumus Mallon

(Manson, 1982). Umumnya dalam pengujian teratogen digunakan tiga variasi dosis.

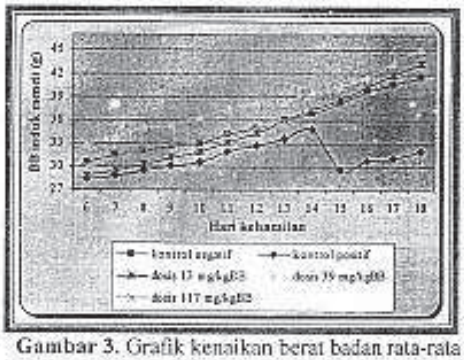
Tabel V. Kadar gula darah mencit setelah diinduksi dengan aloksan

Nomor mencit	Kadar gula darah (mg/dL)			
	D2	D3	D4	D5
1	352	367	372	361
2	232	366	339	372
3	269	302	260	321
4	509	317	203	205
5	324	286	307	315

Keterangan : D2 = kelompok kontrol positif
D3 = kelompok dosis 13 mg/kgBB
D4 = kelompok dosis 39 mg/kgBB
D5 = kelompok dosis 117 mg/kgBB

Mencit betina yang telah diabetes dikawinkan dengan mencit jantan. Sediaan uji diberikan pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan, karena pada masa ini mencit sangat rentan terhadap senyawa teratogen dan senyawa lain yang dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan. Masa ini disebut juga masa organogenesis karena sudah mulai terbentuk organ-organ dari embrio seperti mata, otak, jantung, urogenita, rangka, palatum dan sebagainya. Periode ini disebut periode kritis kehamilan (Yatim, 1996). Pada hari ke-1 sampai hari ke-5 kehamilan tidak dilakukan penyuntikan karena pada saat itu terdapat sifat totipotensi pada janin yang dapat memperbaiki jaringan yang rusak. Pada hari ke-16 dan seterusnya, senyawa teratogen tidak menimbulkan cacat morfologis, tapi mengakibatkan kelainan fungsional yang tidak dapat dideteksi segera setelah kelahiran (Lu, 1995).

Pada masa kehamilan dilakukan penimbangan berat badan induk mencit dengan tujuan melihat bagaimana efek diabetes dan senyawa uji terhadap induk mencit. Apabila terjadi penurunan berat badan secara drastis dan pendarahan pada vagina, maka ada kemungkinan induk mencit mengalami keguguran (aborsi). Dari grafik kenaikan berat badan induk mencit (Gambar 2) terlihat pada hari ke-6 sampai hari ke-8 kehamilan tidak terjadi kenaikan berat badan yang cukup besar, kenaikan berat badan cenderung meningkat pada hari ke-14 sampai hari ke-18 kehamilan. Kenaikan ini disebabkan karena berkembangnya fetus dan bertambahnya volume cairan amnion, plasenta dan selaput amnion, jumlah fetus juga dapat mempengaruhi kenaikan berat badan induk mencit (Guyton, 1983). Umumnya semakin besar kenaikan berat badan induk, kemungkinan makin banyak pula fetus yang akan dilahirkan.



Gambar 3. Grafik kenaikan berat badan rata-rata induk mencit pada masa kritis kehamilan selama pemberian vitamin C untuk tiap kelompok dosis

Pada kontrol positif yaitu pada induk mencit yang menderita diabetes dan tidak diberi sediaan, terlihat penurunan berat badan yang cukup drastis pada hari ke-14 kehamilan, hal ini disebabkan karena terjadinya aborsi spontan pada salah satu induk mencit (gambar 3). Pada dosis 117 mg/kgBB, berat badan rata-rata induk mencit lebih kecil dibanding dosis 39 mg/kgBB. Hal ini disebabkan karena jumlah fetus mencit pada dosis 39 mg/kgBB lebih banyak dibanding dosis 117 mg/kgBB.

Pengamatan terhadap induk mencit dilakukan selama pemberian sediaan vitamin C sampai dilakukan laparaktomi. Selama pengamatan induk mencit terlihat bahwa sediaan vitamin C tidak terlalu mempengaruhi berat badan induk mencit. (Gambar 1). Pada analisa statistik diperlihatkan bahwa vitamin C tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan berat badan rata-rata induk mencit yang diabetes (Tabel II). Pada kontrol positif terjadi penurunan berat badan yang cukup drastis pada hari ke-14 kehamilan (Gambar 3). Penurunan berat badan ini terjadi karena induk mencit mengalami aborsi spontan. Pada hari ke-14 kehamilan tiba-tiba saja salah satu induk mencit mengalami pendarahan pada vaginanya, beberapa lama setelah itu pada vagina induk mencit tersebut tampak fetus keluar sehingga segera dilakukan pembedahan pada induk mencit itu. Keadaan diabetes pada masa kehamilan dapat menyebabkan terjadinya aborsi spontan pada sang ibu.

Hal ini disebabkan oleh perubahan metabolisme yang terjadi pada ibu hamil yang menderita diabetes (Chertow, 2004b). Aborsi spontan hanya terjadi pada satu induk mencit, hal ini bisa saja terjadi karena adanya kerentanan genetik pada individu mencit walaupun dari satu anakan yang sama (Aloomis, 1994).

Pemeriksaan pada fetus dilakukan dengan mengeluarkan fetus pada hari ke-18 dengan cara laparaktomi, karena mencit yang melahirkan secara spontan cenderung untuk memakan keturunannya yang cacat, yang mati atau yang hampir mati, sehingga dapat mempengaruhi hasil perhitungan data. Selain itu dengan dilakukan laparaktomi jumlah resorpsi yang terjadi dapat diamati (Wilson and Fraser, 1978).

Pengamatan terhadap jumlah fetus terlihat bahwa pemberian vitamin C pada dosis 13, 39, 117 mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah fetus bila dibandingkan dengan kontrol positif. Peningkatan jumlah fetus yang paling besar terlihat pada dosis 39 mg/kgBB, sementara itu dosis 13 dan 117 mg/kgBB jumlah fetusnya di bawah kontrol negatif tapi masih lebih tinggi dibanding kontrol positif. Hal ini mungkin disebabkan vitamin C meningkatkan proses metabolisme di dalam tubuh yang memicu pertumbuhan. Pada analisa statistik menunjukkan bahwa pemberian vitamin C tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap jumlah fetus ($p>0.05$) (Tabel VI).

Tabel VI. Jumlah Fetus pada masing-masing dosis

NoMencit	Jumlah Fetus				
	D_1	D_2	D_3	D_4	D_5
1	9	10	10	7	7
2	10	11	9	10	11
3	10	8	10	12	10
4	11	6	8	12	9
5	10	11	11	11	12
Jml	50	46	48	52	49
$\bar{X} \pm SD$	10 ± 0.707	9.2 ± 2.168	9.6 ± 1.140	10.4 ± 2.074	9.8 ± 1.924

Pengamatan terhadap berat badan fetus menunjukkkan bahwa pemberian vitamin C mempengaruhi berat badan fetus secara bermakna pada ketiga tingkatan dosis bila dibandingkan kontrol positif (Tabel III). Bila dibandingkan dengan kontrol negatif, berat badan rata-rata fetus pada ketiga tingkatan dosis tidak berbeda secara signifikan. Pada dosis 117 mg/kgBB terlihat berat badan rata-rata fetus lebih besar di antara ketiga dosis, tapi lebih rendah dibanding kontrol negatif. Dosis 13 mg/kgBB menunjukkan berat badan rata-rata fetus paling rendah di antara ketiga tingkatan dosis tapi masih jauh lebih besar bila dibandingkan dengan kontrol positif. Rendahnya berat badan rata-rata fetus pada kontrol positif disebabkan karena ada salah satu induk mencit yang mengalami aborsi spontan pada hari ke-14 kehamilan yang menghasilkan fetus yang ukurannya sangat kecil dibandingkan kontrol negatif.

Keadaan diabetes mellitus pada kehamilan ternyata memberikan pengaruh terhadap berat badan fetus mencit. Pada beberapa kasus, ibu yang diabetes akan melahirkan bayi yang berukuran besar. Janin menerima pasokan gula yang berlebih dari ibu maka ia akan memproduksi insulin yang lebih banyak sehingga terjadilan hiperinsulinaemia pada janin. Gula yang berlebihan akan dibakar oleh oksigen menjadi protein dan lemak. Pengaruh insulin akan mengubah gula menjadi cadangan lemak dan glikogen, terjadi penumpukan lemak di bawah kulit. Hal inilah yang akan menyebabkan janin menjadi besar. Pada ibu hamil dengan diabetes yang tidak diobati dapat menimbulkan kelahiran prematur karena adanya perubahan metabolit selama kehamilan.

Pengamatan jumlah tapak resorpsi dapat dilihat pada Tabel IV. Resorpsi berupa gumpalan merah

yang tertanam pada uterus. Pembentukan resorpsi disebabkan karena pengaruh kadar gula darah yang tinggi pada masa organogenesis, dimana pada masa tersebut tidak terdapat lagi sifat totipotensi sehingga tidak bisa memperbaiki kerusakan jaringan dan tidak bisa lagi berkembang sehingga fetus akan mati. Tapak resorpsi hanya dijumpai pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada kadar gula darah yang tinggi dapat mempengaruhi metabolisme dan sistem hormonal pada induk mencit maupun pada embrio. Embrio yang sedang berkembang pada masa organogenesis tidak mampu menyesuaikan diri dan bertahan pada kondisi tersebut sehingga embrio mati dan tidak dapat lagi berkembang. Pada dosis 13, 39 dan 117 mg/kgBB tidak ditemukan adanya tapak resorpsi, hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dapat bekerja melindungi fetus pada ketiga tingkatan dosis tersebut hingga fetus dilahirkan.

Pengamatan fetus yang telah direndam dalam larutan alizarin merah terlihat bahwa pada hewan normal ada tujuh tulang servic, tiga belas tulang thorac, enam tulang tumbal, enam tulang sacral dan dua atau tiga tulang caudal. Namun setelah fetus direndam dengan larutan alizarin merah-KOH 1% (Wilson anf Warkany, 1975) tidak terdapat kelainan tulang pada semua tingkatan dosis dibandingkan terhadap kontrol.

Fetus yang direndam dalam larutan Bouin's akan keras dan berwarna kuning, dapat digunakan untuk mengamati bagian luar fetus dan celah langit-langit. Formaldehid dan asam asetat yang terdapat di dalam larutan Bouin's akan mengawetkan jaringan embrio. Proses kimiawi yang terjadi dalam hal ini bersifat komplek dan belum dimengerti sepenuhnya, sedangkan asam pikrat akan mewarnai fetus sehingga berwarna kuning dan lebih mudah dalam mengamatinya (Jungueira, 1997) .

Parameter yang diamati antara lain kelopak mata, daun telinga, kaki dan jari-jari kaki serta celah pada langit-langit. Dari ketiga tingkatan dosis yang digunakan dalam penelitian ini tidak satu pun ditemukan kelainan morfologis, pada kontrol positif juga tidak ditemui kelainan morfologis. Hal ini dapat menunjukkan bahwa kadar gula darah yang tinggi tidak memberi pengaruh pada perkembangan morfologis dari fetus mencit.

Fetus pada kontrol positif yang lahir prematur semuanya mati setelah dilahirkan. Hal ini bisa disebabkan kurangnya vitamin C di dalam tubuh mencit. Di dalam tubuh vitamin C banyak terkonsentrasi pada kelenjar adrenal. Vitamin C merupakan kofaktor yang dibutuhkan dalam biosintesa katekolamin dan steroidegenesis adrenal. Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada binatang percobaan yang kekurangan asam askorbat pada jaringannya akan mengalami kematian setelah lahir. Glukortikoid mempunyai efek terhadap perkembangan janin, glukortikoid dapat menurunkan insiden sindrom gawat pernapasan pada bayi yang dilahirkan prematur, sehingga dapat mengurangi resiko kematian (Katzung, 1998).

Hal yang perlu diperhatikan selama perlakuan hewan adalah keadaan gizi dan kesehatan induk mencit selama kehamilan, karena cacat bawaan selain disebabkan faktor genetik juga disebabkan faktor lain seperti lingkungan atau infeksi tertentu. Dari hasil pengujian ini dapat dipahami bahwa kadar gula darah yang tinggi sangat rentan terhadap keguguran, matinya embrio dan kesulitan dalam memperoleh kehamilan. Vitamin C sebagai antioksidan dalam hal ini ternyata mampu melindungi fetus dari kematian dalam masa organogenesis. Namun dalam kondisi seperti ini belum dapat disimpulkan bahwa vitamin C dapat memperbaiki keadaan diabetes pada induk mencit dan melindungi fetus secara keseluruhan. Hal ini dikaitkan dengan adanya sifat ketahanan tubuh pada masing-masing individu yang berbeda-beda antara spesies hewan. Karena itu perlu disarankan agar penelitian terhadap pemberian vitamin C pada mencit yang diabetes perlu dikembangkan lebih lanjut dengan parameter yang lebih bervariasi.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari uji pemberian vitamin C terhadap fetus pada mencit yang diabetes dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian vitamin C dengan dosis 13, 39 dan 117 mg/kg BB pada mencit yang diabetes tidak mempengaruhi berat badan induk mencit dan jumlah fetus mencit secara nyata, namun memberi pengaruh terhadap berat badan rata-rata fetus mencit pada kelompok kontrol positif.
2. Kadar gula darah yang tinggi pada kontrol positif dapat menyebabkan aborsi spontan pada induk mencit, tapi tidak menyebabkan kelainan morfologis pada fetus mencit.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut secara histologis dari fetus hewan diabetes.

Literatur :

Agarwal, A., S. Gupta., R.K. Sharma., *Role of Oxidative Stress in Female Reproduction*, Repro. Biol. & Endocrin. 3:28, 2005.

Aguilar, A., J. Estrada., R. Chilpa., *Hypoglicemic Effect of Extract and Fraction from Psacalium decompositum in Healthy anf Alloxan-diabetic Mice*, J. Ethnopharmacol, 74, 2000, 21-27.

Almahdy, A., *Potensi Antimakan dan Teratogenitas Tumbuhan Subang-Subang (Hyptis capitata Jack) (Antifedant and Teratogenic Potential of Hyptis capitata Jack)*, Jurnal Penelitian Andalas, No 12, 1993, 24.

Almahdy, A., *Uji Aktivitas Teratogenitas Ekstrak Etanol Daun Inggu (Ruta graveolens* Linn*) pada Mencit Putih*, Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 9 (2), 2004, 82-87.

Aloomis, T., *Toksikologi Dasar*, Edisi III, alih bahasa oleh Imono Argo Donatus, Penerbit UGM, Yogyakarta, 1994

Christianto, T., *Radikal Bebas dan Diabetes Mellitus*, Pertemuan Ilmiah Berkala-I Ilmu Penyakit Dalam, 2000.

Chertow, B. (a), *Advances in Diabetes for the Millennium: Vitamins and Oxidant Stress in Diabetes and Its Complication*, Marshall University, Huntington, 2004.

Chertow, B. (b), *Oxidative Stress and the Chronic Complication of Diabetes*, Medscape General Medicine 6(3s):4, 2004.

Cederberg, Jonas., *Oxidative Stress, Antioxidative Defenceand Outcome of Gestation in Experimental Diabetic Pregnancy*, http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:uu:diva-612(2006-01-28).

Chen H., Feng R., Guo Y., Sun L., Jiang J., *Hypoglycemic Effect of Aqueous Extract of Rhizoma Polygonati odorati in Mice and Rats*, J. Ethnopharmacol, 74, 2001, 225-229.

Farmakope Indonesia, Edisi IV, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta, 1995.

Guyton, A.C., *Textbook of Medical Physiology*, Edisi V, Bagian 2, diterjemahkan oleh A. Dharma dan P. Lukmanto, EGC, Jakarta, 1983.

Higdon, J., *Vitamin C*, Linus Pauling Institute, Oregon State University, Oregon, 2004.

Jungueira, C.L., J. Carneiro, and R.O. Kelley, *Histologi Dasar*, ed. 8, diterjemahkan oleh Jan Tambayang, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 1997.

Katzung, B.G., *Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi VI*, alih bahasa oleh Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1998.

Lapedes, DN., *Encyclopedia of Food Agriculture and Nutrition*, 4th Edition, Mc. Graw-Hill, Philippines, 1977.

Lu, F.C, *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*, Ed II, Alih Bahasa oleh Edi Nugroho, Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1995.

Le Roith, D., S.I. Taylor., J.M. Olefsky., *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*, Second Edition, Part 2. 2000.

Manson, J. M., H. Zenick and R.D Costlow., *Teratology Test Methods for Laboratory Animals*, Ravent Press, New York, 1982.

Sardi, B., *Premature Birth, Life-Long Developmental Problems, Linked to Low Vitamin C Levels During Pregnancy*, Knowledge of Health, Inc, 2004.

Thompson, E.B., *Drug Bioscreening. Fundamental of Drug Evaluation Technique*, University of Chicago Press, Chicago IL, 1975.

Wilson, L., Sylvia AN., *Patofisiologi. Konsep Klinis Proses Penyakit*, Edisi 4, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta, 1994.

Wilson, JG and J. Warkany., *Teratology Principles and Techniques*, University of Chicago Press, Chicago IL, 1975.

Wilson J.G and Fraser F.G., *Handbook of Teratology*, Plenum Press, New York, 1978.

Yatim, W., *Reproduksi dan Embryologi*, Edisi II, Tarsito, Bandung, 1996.