

**Efek teratogenik asap obat nyamuk bakar  
terhadap fetus mencit (*mus musculus l.*) galur balb-c  
pada masa organogenesis**

Tri Rahayuningsih

M0402045

**BAB I**

**PENDAHULUAN**

**A. Latar Belakang Masalah**

Pencemar udara biasanya berbentuk partikel (debu atau aerosol) dan gas (CO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> dan hidrokarbon), tergantung dari macam, ukuran, dan komposisi kimianya. Udara yang tercemar oleh partikel dan gas dapat menimbulkan gangguan kesehatan yang tingkat dan jenisnya berbeda-beda. Penyakit yang ditimbulkan oleh pencemaran udara antara lain penyakit pernafasan, asma, penyakit kardiovaskuler, kanker, paru-paru, dan dapat menimbulkan gangguan pada janin (Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan, 1990; Sunarto, 2002).

Banyak produk bahan kimia yang digunakan dalam kehidupan rumah tangga, seperti produk insektisida dan pembersih bentuk aerosol. Bentuk aerosol berbahaya bagi kesehatan karena pertikel-pertikel kimia yang dikeluarkan sangat halus dan dapat bertahan di udara ruangan selama beberapa jam (Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan, 1990). Obat nyamuk bakar akan mengeluarkan asap yang mengandung beberapa gas seperti karbondioksida (CO<sub>2</sub>),

karbonmonoksida (CO), nitrogen oksida, amoniak, metana, dan partikel yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Liu *et al.*, 2003).

Saat ini terdapat begitu banyak pilihan bentuk obat nyamuk yang ada di pasaran, antara lain bentuk semprot, bakar, oles maupun elektrik. Perbedaan terletak pada kemasan dan konsentrasi bahan aktif atau zat racunnya. Obat nyamuk bakar merupakan salah satu formula yang berbentuk *coil*, yang penggunaannya dengan dibakar agar menghasilkan asap untuk membunuh nyamuk, yang banyak digunakan dalam lingkungan rumah tangga dengan sengaja. Obat nyamuk berbahaya bagi manusia karena kandungan bahan aktifnya yang termasuk golongan organofosfat dan karbamat. Bahan aktif ini antara lain *dichlorovinyl dimethyl phosfat* (DDVP), propoksur (karbamat), dietiltoluemit, dan piretrin yang merupakan jenis insektisida pembunuh serangga (Adiwisastra, 1992). Beberapa negara sudah melarang penggunaan bahan-bahan aktif tersebut sebagai racun nyamuk di lingkungan rumah tangga karena sangat berbahaya terutama bagi anak-anak. Banyak ahli yang memperkirakan pengaruh buruk bahan aktif dalam obat nyamuk ini tidak hilang dan terus menetap dalam tubuh sampai anak tersebut dewasa (Anonim, 2003).

Salah satu kandungan obat nyamuk adalah propoksur. Bahan kimia ini bersifat toksik pada tubuh makhluk hidup. Menurut beberapa penelitian efek dari propoksur antara lain toksisitas akut, toksisitas kronik, efek reproduksi dan efek teratogen (Abd-Elraof *et al.*, 1981). Selain itu juga berpengaruh terhadap lingkungan seperti toksik pada burung, lebah madu, organisme air, mencemari air, tanah, dan tumbuh-tumbuhan (*Environment Pesticide Agricultural*, 1992).

Penelitian mengenai efek teratogenik propoksur sudah pernah dilakukan oleh Eben *and* Kimmerle (1978) dan Kimmerle *and* Iyatomi (1976) yang melaporkan bahwa pemberian propoksur secara oral pada tikus bunting menyebabkan penurunan berat badan dan perkembangan fetus terhambat serta gangguan pada sistem syaraf pusat. Selain itu, menurut Becker *et al.* (1989) inhalasi propoksur pada tikus jantan dan betina selama 6 jam menurunkan aktivitas plasma dan eritrosit kolinesterase pada otak

Risiko terbesar terdapat pada obat nyamuk bakar akibat asapnya yang dapat terhirup. Umumnya bahan aktif yang dipakai dalam obat nyamuk adalah yang cepat terurai dan berdaya racun tinggi, atau dapat mematikan nyamuk dengan cepat. Seberapa jauh dampaknya tergantung pada jenis, jumlah, usia dan bahan campurannya (*Environment Pesticide Agricultural*, 2002).

Fetus sangat rentan terhadap obat nyamuk, karena organ-organ tubuhnya belum sempurna, dan daya tahan tubuhnya belum baik. Bahan aktif obat nyamuk akan masuk ke dalam tubuh melalui saluran pernafasan, kemudian akan beredar dalam darah. Kemudian bahan aktif ini akan menyebar pada sel-sel tubuh (Wahyuni, 2005). Seorang yang sudah dewasa sebagian akan mampu mengatasi pengaruh racun pada dirinya, namun tidak demikian halnya dengan fetus yang dikandungnya.

Masa kehamilan merupakan saat yang rawan bagi wanita terhadap pengaruh lingkungan, tidak hanya bagi ibu tetapi juga keselamatan fetus yang dikandungnya, terutama pada tahap organogenesis karena pada tahap itu sel-sel fetus sedang aktif berproliferasi (Roberts, 1971). Salah satu faktor yang banyak

berpengaruh tetapi tidak disadari penggunaannya adalah paparan asap obat nyamuk bakar selama berjam-jam saat tidur. Apabila asap tersebut terhisap oleh wanita hamil, maka kemungkinan besar akan mempengaruhi kondisi fetus atau perkembangan embrio, sehingga dapat menimbulkan kelainan kongenital baik berupa kelainan bentuk luar maupun kelainan fungsional yang terlihat setelah masa kehidupan yang lama.

Beberapa insektisida telah diketahui dapat menyebabkan pengaruh buruk pada kelahiran atau penyimpangan dari perkembangan yang normal. Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan uji teratogenesis yaitu suatu pengamatan terhadap kemungkinan terjadinya kelainan kongenital atau kelainan fungsi organ yang bersifat permanen akibat penggunaan dan paparan asap obat nyamuk bakar sebagai insektisida pada masa pertumbuhan dan perkembangan organ fetus.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh asap obat nyamuk bakar yang diinhalasikan pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis terhadap persentase fetus mencit hidup dan kematian intrauterus, berat badan, panjang badan, serta keadaan morfologi fetus?

2. Bagaimana pengaruh asap obat nyamuk bakar yang diinhalasikan pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis terhadap struktur skeleton (bentuk dan jumlah tulang) fetus mencit (*Mus musculus* L.)?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Pengaruh inhalasi asap obat nyamuk bakar kepada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis terhadap persentase fetus mencit hidup dan kematian intrauterus, berat badan, panjang badan, serta keadaan morfologi fetus.
2. Pengaruh inhalasi asap obat nyamuk bakar kepada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis terhadap struktur skeleton (bentuk dan jumlah tulang) fetus mencit (*Mus musculus* L.).

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada penulis dan masyarakat luas, terutama bidang kedokteran dan farmasi tentang efek samping penggunaan obat nyamuk bakar. Penggunaan obat nyamuk bakar menyimpan potensi negatif terhadap jumlah fetus, berat dan panjang badan fetus, keadaan morfologi, dan struktur skeleton fetus apabila induknya terpapar asap obat nyamuk bakar dalam jangka waktu tertentu.

## **BAB II**

### **LANDASAN TEORI**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Obat nyamuk**

Salah satu produk industri yang dapat menyebabkan pencemaran adalah insektisida yang banyak digunakan manusia. Sekarang ini telah diketahui banyak jenis serangga, di antaranya dapat menimbulkan masalah bagi manusia. Dengan perkembangan teknologi pada saat ini, insektisida yang sering digunakan adalah insektisida organik sintetik. Insektisida dari berbagai tipe merupakan kontaminan lingkungan yang lazim di udara, air dan makanan (Gibson dan Skett, 1991).

Menurut Fardiaz (1992), insektisida organik sintetik dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan struktur dan komposisinya, yaitu: 1) insektisida organoklorin, misalnya DDT, metoksiklor, aldrin dan dieldrin; 2) Insektisida organosfosfor, misalnya paration dan malation; 3) Insektisida karbamat, misalnya *karbaryl*.

Obat nyamuk bakar merupakan obat nyamuk yang berbentuk *coil* dan salah satu formulasi obat nyamuk yang menimbulkan asap (*smoke*). *Coil* obat nyamuk bakar ini merupakan campuran antara pestisida, oksidan, dan bahan yang mudah terbakar (Ngabekti 1992). Obat nyamuk bakar akan menghasilkan asap yang banyak apabila dibakar. Obat nyamuk bakar sering digunakan dengan sengaja dalam kehidupan sehari-hari. Selain murah harganya, obat nyamuk bakar juga mudah didapatkan serta cukup efektif dalam membunuh nyamuk. Setiap

*coil* obat nyamuk memiliki berat rata-rata 12 gram dan masa pembakaran selama 7,5 sampai 8 jam (Widjayanto, 1997).

Obat nyamuk berbahaya bagi manusia karena kandungan bahan aktif yang termasuk golongan organofosfor dan karbamat. Bahan aktif tersebut antara lain *dichlorovynil dimethyl phosfat* (DDVP), propoksur (karbamat), *diethyltoluemide*, dan piretrin yang merupakan jenis insektisida pembunuh serangga. Racun nyamuk yang beredar di Indonesia saat ini mengandung zat-zat yang berbahaya bagi kesehatan. Hal ini dibuktikan dari penelitian Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI) tahun 1995 yang menemukan bahan aktif di dalam obat nyamuk yaitu propoksur, diklorfos, klorpirifos, piretrin, dietiltoluemit, maupun senyawa turunan piretroid. Senyawa-senyawa ini memiliki daya racun yang tinggi yang dapat merusak sistem syaraf (neurotoksik), merusak sistem hormon, mengganggu sistem pernafasan dan jantung. Lembaga di Amerika yang bergerak di bidang perlindungan lingkungan, yaitu *Environment Protection Authority* (US EPA) telah merekomendasikan hal yang sama (Nashibah, 2003).

Berdasarkan penelitian Asmatullah *et al.* (2004) diklorfos bersifat teratogen yang sangat berpotensi menyebabkan kanker, menghambat pertumbuhan organ, kematian prenatal, dan merusak kemampuan reproduksi. Beberapa abnormalitas yang ditimbulkan oleh senyawa ini antara lain hidrosefali, *meningomyocele*, *gastrochisis*, tulang *manus* dan *pes* berbentuk dayung dan lain-lain. Di lingkungan, senyawa ini juga menimbulkan gangguan cukup berat bagi hewan dan tumbuhan karena bahan ini sulit terurai baik di udara, air maupun di tanah. Propoksur merupakan racun kelas atas pada manusia, jika terhirup maka

akan mengaburkan penglihatan, keringat berlebih, pusing, sakit kepala dan badan lemah. Penelitian lain menunjukkan paparan propoksur pada tikus dapat mengakibatkan fetotoksik, mengurangi jumlah anak, dan mengurangi berat badan fetus. Selain itu propoksur dapat menurunkan aktivitas enzim yang berperan pada syaraf transmisi, dan berpengaruh buruk pada hati dan organ-organ reproduksi. Piretrin merupakan senyawa turunan piretroid memiliki daya racun yang lebih rendah daripada propoksur, diklorfos dan klorpirifos. Efek yang ditimbulkan adalah dapat membuat iritasi pada mata maupun kulit yang sensitif dan penyebab penyakit asma. Piretrin yang digunakan pada obat nyamuk adalah d-alletrin, transflutrin, bioalletrin, d-fenotrin, sifenotrin, atau esbiotrin (Nashibah, 2003).

Bahan aktif dalam obat nyamuk ditemukan pada semua jenis obat nyamuk baik pada obat nyamuk bakar, semprot, dan elektrik. Bahan aktif ini bersifat membunuh nyamuk kendati racunnya sama, dosis masing-masing obat nyamuk berbeda satu sama lain. Kandungan bahan aktif yang berbahaya pada obat nyamuk tergantung kadar konsentrasi racun dan jumlah pemakaiannya (Wahyuni, 2005). Bahan aktif yang terkandung dalam obat nyamuk bakar antara lain :

a. Bioalletrin

Bioalletrin merupakan golongan insektisida flourida yang termasuk insektisida piretrin sintetik yang pertama kali dibuat. Piretrin dalam bentuk serbuk sudah digunakan sebagai pembasmi hama dalam tanaman, hewan ternak dan lingkungan rumah tangga. Karena mahalnnya piretrin alami, maka



orang membuat piretrin sintetik (Ngabekti, 1992). Menurut Ecobichon (1989) piretrin merupakan racun syaraf yang dapat menyebabkan kerusakan syaraf, kejang dan berakhir dengan kematian.

Ngabekti (1992) dan Fishel (2005) menyatakan bahwa keracunan piretrin tingkat berat dapat menimbulkan tumor dengan tanda-tanda dimulai dengan agresitas, tumor ekstremitas diikuti tumor seluruh tubuh, suhu tubuh meningkat dan akhirnya terjadi kematian, sedangkan keracunan tingkat ringan menimbulkan kejang dan hipersalivasi. Pemberian piretrin pada tikus secara oral dapat menyebabkan suhu tubuh menurun, tumor seluruh tubuh dan diikuti kematian, meracuni syaraf pusat, menaikkan kadar gula darah dan memacu kontraksi otot.

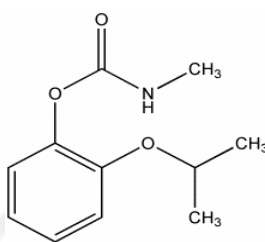
b. Propoksur

Propoksur termasuk insektisida karbamat yang berbahaya bila terserap melalui makan, inhalasi maupun kontak melalui kulit (*Environment Pesticide Agricultural*, 1992). Propoksur berbentuk butiran kristal dengan warna putih sampai krem dengan sedikit berbau fenol, memiliki kelarutan yang tinggi dalam pelarut organik, seperti etanol, aseton dan sedikit larut dalam air. Bahan ini apabila masuk ke dalam tubuh makhluk hidup, memiliki daya serang yang cepat dan strukturnya tidak akan berubah dalam jangka waktu yang lama (Tisch *et al.*, 2005).

Propoksur bersifat menghambat produksi dan aksi kolinesterase, yang merupakan enzim essensial pada sistem syaraf (*Environment Pesticide Agricultural*, 1992). Senyawa ini bereaksi di permukaan sisi aktif enzim,

sehingga enzim mengalami karbamilase, yang dapat berubah strukturnya oleh hidrolisis setelah bereaksi dengan asetilkolin (Ngabekti, 1992).

Senyawa propoksur memiliki struktur umum yang diperlihatkan dalam Gambar 1. Propoksur dikembangkan dari golongan karbamat yang dapat menurunkan jumlah binatang perusak/pengganggu dalam rumah tangga yang telah dikenal sejak 30 tahun yang lalu.



Gambar 1. Struktur kimia propoksur (Eben, 1986)

c. Gas dalam Asap Obat Nyamuk Bakar

Obat nyamuk bakar mengeluarkan asap dan racun pembunuh nyamuk. Asap tersebut mengandung beberapa gas seperti, karbonmonoksida (CO), karbondioksida (CO<sub>2</sub>), NO<sub>2</sub>, NO, NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>, dan partikel insektisida. Adapun gas-gas yang terkandung dalam asap obat nyamuk bakar antara lain :

1) Karbonmonoksida (CO)

Karbonmonoksida (CO) merupakan gas yang tidak berbau, tidak berasa dan tidak berwarna (Katzung, 1997). Gas ini terbentuk dari beberapa proses salah satunya adalah dari pembakaran yang tidak sempurna terhadap karbon atau bahan-bahan yang mengandung karbon. Karbonmonoksida secara praktis dapat diproduksi dari proses-proses artifisial dan 80 persen berasal dari asap kendaraan bermotor. Di udara, gas CO hanya dalam jumlah sedikit, sekitar 0,1 ppm. Di daerah yang

terjadi polusi udara, konsentrasi gas CO antara 10-15 ppm. Konsentrasi gas CO yang tinggi telah lama diketahui dapat menimbulkan gangguan kesehatan, bahkan mengakibatkan kematian (Fardiaz, 1992; Wardhana, 1995).

Pengaruh beracun CO terhadap tubuh terutama disebabkan oleh reaksi antara CO dengan hemoglobin (Hb) di dalam darah (Fardiaz, 1992). Karbonmonoksida apabila terhisap oleh paru-paru akan ikut ke peredaran darah dan akan menghalangi masuknya oksigen yang dibutuhkan oleh tubuh. Hal ini dikarenakan CO bersifat racun metabolis, ikut bereaksi secara metabolis dengan darah. Ternyata ikatan karbonmonoksida dengan darah (karboksihemoglobin) jauh lebih stabil daripada ikatan oksigen dengan darah (oksihemoglobin). Kestabilan karboksihemoglobin kira-kira 140 kali kestabilan oksihemoglobin. Keadaan ini menyebabkan darah menjadi lebih mudah menangkap gas CO dan menyebabkan fungsi vital darah sebagai pengangkut oksigen terganggu (Wardhana, 1995). Afinitas CO terhadap hemoglobin 230-270 kali lebih tinggi daripada afinitas oksigen sehingga darah tidak mampu mengikat oksigen. Karbonmonoksida akan mengikat Hb menjadi HbCO (Soemirat, 1996). Apabila karbonmonoksida dan oksigen terdapat bersama-sama di udara akan terbentuk HbCO yang jauh lebih banyak daripada HbO<sub>2</sub> (Fardiaz, 1992). Konsentrasi karbonmonoksida di dalam darah tergantung konsentrasi karbonmonoksida di udara pernafasan,

lama pemaparan, pergantian udara dalam paru-paru dan aktivitas individu (Goldsmith *and* Friberg, 1976).

Adanya karbonmonoksida dalam darah dapat mengakibatkan denaturasi hemoglobin dan menurunkan persediaan oksigen untuk jaringan seluruh tubuh. Karbonmonoksida menggantikan tempat oksigen di hemoglobin, mengganggu pelepasan oksigen dan mempercepat arterosklerosis (pengapuran/penebalan dinding pembuluh darah). Hal ini mengakibatkan peningkatan viskositas darah sehingga mempermudah penggumpalan darah (Tandra, 2003).

## 2) Karbondioksida (CO<sub>2</sub>)

Setiap proses pembakaran selalu menghasilkan CO<sub>2</sub>. Jumlah CO<sub>2</sub> yang dihasilkan tergantung pada persediaan O<sub>2</sub> di udara. Apabila jumlah O<sub>2</sub> di udara cukup, maka akan terjadi pembakaran sempurna dan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan banyak. Tetapi apabila jumlah O<sub>2</sub> di udara tidak mencukupi, akan menghasilkan CO<sub>2</sub> dan CO yang lebih toksik daripada CO<sub>2</sub>. Adanya peningkatan CO<sub>2</sub> dapat menyebabkan terjadinya afiksasi, yaitu kekurangan oksigen di dalam darah. Gas CO<sub>2</sub> merupakan salah satu gas yang dapat menyebabkan hipoksia dan memiliki toksisitas yang rendah. Pengaruh CO<sub>2</sub> dapat diperkecil oleh adanya oksigen udara yang masuk ke dalam paru-paru (Ngabekti, 1992).

## 3) Metana dan Amoniak

Gas-gas yang terdapat dalam asap obat nyamuk bakar seperti CO, NO, dan NO<sub>2</sub> dapat menyebabkan kelainan morfologi fetus apabila

terinhalasi oleh induk yang bunting. Tetapi ada gas lain yang tidak menyebabkan kelainan morfologi fetus yaitu  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  dan  $\text{NH}_3$  (Ngabekti, 1992). Menurut Marcus *et al.* (1987) dalam Ngabekti (1992) gas  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  dan  $\text{NH}_3$  dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan gangguan mental, gangguan irama denyut nadi, dan muntah-muntah.

#### 4) Oksida Nitrogen ( $\text{NO}$ dan $\text{NO}_2$ )

Nitrogen dioksida adalah gas iritan yang berwarna kecoklatan (Katzung, 1997). Gas ini dapat menaikkan kadar methemoglobin jika dihirup selama 1 jam. Hal ini dikarenakan  $\text{NO}_2$  adalah oksidator yang mengoksidasi fero menjadi feri pada hemoglobin maupun oksihemoglobin. Gas  $\text{NO}_2$  memiliki toksisitas tinggi yaitu empat kali lebih besar daripada nitrogen monoksida ( $\text{NO}$ ). Konsentrasi  $\text{NO}_2$  yang terdapat di atmosfer tidak mengakibatkan iritasi dan tidak berbahaya. Tetapi konsentrasi  $\text{NO}$  yang tinggi dapat menyebabkan gangguan pada sistem syaraf, yaitu mengakibatkan kejang-kejang. Apabila keracunan gas  $\text{NO}$  terus berlanjut, maka dapat menyebabkan kelumpuhan. Gas  $\text{NO}$  akan lebih berbahaya jika teroksidasi oleh oksigen sehingga menjadi gas  $\text{NO}_2$  (Wardhana, 1995; Sastrawijaya, 2000).

#### d. Partikel dalam Asap Obat Nyamuk Bakar

Partikel dapat berada di permukaan kulit dan menyebabkan iritasi lokal atau reaksi alergi atau bahkan jika terhirup dan terabsorpsi di membran mukosa dari saluran pernafasan atas dan menyebabkan toksisitas sistemik (Meyers *et al.*, 1976).

Partikel dalam obat nyamuk berwarna coklat kehitaman dan diduga mengandung karbon serta insektisida yang tidak teroksidasi. Gas panas dengan kecepatan yang tinggi menyebabkan insektisida bereaksi dengan udara dan sebelum mengalami kondensasi akan menghasilkan asap. Suhu yang tinggi dalam waktu yang singkat dapat menyebabkan pemecahan bahan aktif menjadi minimal (Matthew, 1979).

## 2. Embriologi

Mencit merupakan salah satu hewan poliestrus yang mengulang siklusnya sepanjang tahun tanpa banyak variasi. Panjang siklusnya antara 4-6 hari dengan mekanisme ovulasi yang spontan selama 8-11 jam dimulai dari fase estrus (Hafez, 1970).

Perkembangan embrio dimulai dari sel telur yang telah dibuahi yang masih berada di tuba fallopii, kemudian berkembang dan meneruskan perjalanannya ke uterus dan terjadi pembelahan yang berulang-ulang sehingga membentuk bola berongga yang disebut blastosis. Sekitar 1 minggu setelah fertilisasi, blastosis tertanam di dalam dinding mukosa uterus yang menebal, disebut implantasi. Blastosis kemudian membelah dengan cepat dan melakukan migrasi sel dari satu tempat ke tempat lain sehingga terbentuk 2 bagian utama sel atau jaringan yaitu embrio yang sebenarnya akan menjadi fetus dan membran ekstraembrional untuk melindungi embrio/fetus dari benturan (Kimball, 1983). Kemudian embrio mengalami metamorfosis dan perkembangan menjadi fetus sebelum dilahirkan (Lu, 1995).

Menurut Roberts (1971) dan Lu (1995) masa kehamilan terdiri dari 3 tahap, yaitu :

- 1) Periode blastula, dimulai setelah ovulasi dan dilanjutkan perkembangan membran zigot primitif di uterus. Embrio tidak rentan terhadap zat teratogen pada tahap ini, tapi teratogen akan menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian sel embrio atau tidak menimbulkan efek yang nyata. Lamanya tahap ini berkisar 5 sampai 9 hari, tergantung jenis spesiesnya.
- 2) Periode organogenesis merupakan periode pembentukan organ-organ dan sistem tubuh serta terjadi perubahan bentuk tubuh. Pada periode ini sel secara intensif mengalami diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi sehingga embrio sangat rentan terhadap efek teratogen. Periode ini berakhir jika bentuk embrio sudah seperti induknya, yaitu pada hari ke-10 sampai ke-14 pada hewan pengerat dan pada minggu ke-14 pada manusia.
- 3) Periode pertumbuhan fetus, yaitu tahap terjadinya perkembangan dan pematangan fungsi jaringan, organ dan sistem yang tumbuh. Sehingga selama tahap ini, teratogen tidak mungkin menyebabkan cacat morfologi, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi seperti gangguan SSP (Sistem Syaraf Pusat) yang mungkin tidak dapat dideteksi segera setelah kelahiran.

Embrio mengalami diferensiasi pada masa implantasi dengan melangsungkan kegiatan segregasi sel-sel embrio yang mengarah ke pembentukan sel-sel khusus yang akan berubah menjadi suatu sistem tubuh beserta organ-organnya. Periode ini dikenal sebagai masa organogenesis, yaitu masa proliferasi, migrasi, asosiasi, diferensiasi dan pembentukan sel bersama-

sama dengan proses pembentukan jaringan dan organ (Jawi, 1999 dalam Rochmiatun, 2003). Masa organogenesis pada rodentia terjadi pada hari ke-6 sampai hari ke-16 kebuntingan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Hafez (1970) dan Schenker *and* Forkheim (1998) membagi waktu perkembangan embrio pada Rodentia yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tahap perkembangan embrio pada Rodentia

Waktu (Hari)	Tingkatan yang terjadi
1	Stadium 1-2 sel, berada di bagian yang teratas dari oviduct
2	Stadium 2-16 sel, migrasi ke uterus
3	Morula, berada di uterus bagian atas
4-5	Blastula bebas di dalam uterus, dilindungi zona pellucida
5	Perpanjangan masa inti sel primitif streak jelas dan terbentuk rongga pro-amnion
6	Implantasi
7	Diferensiasi embrio dan terbentuk bagian ekstra embrionik
8	Diferensiasi tropoblast dengan cepat, primitif streak, <i>primitif knot</i> dan <i>head processus</i> ; awal pembentukan mesoderm dan pemanjangan area embrionik
9	Terbentuk somit, <i>neural plate</i> dan awal <i>neural folds</i>
10-10,5	Terbentuk tabung neural, primordial hati, mata dan telinga, diferensiasi endoderm ke dalam <i>foregut</i> , <i>midgut</i> dan <i>hindgut</i>
11-11,5	Pemanjangan somit toraks, pembentukan <i>tailbud</i> , perkembangan tubulus <i>mesonephridicus</i> (terbentuknya embrio)
12-16	Pembentukan somit belakang, mata terbentuk, osifikasi awal dari skeleton
16-20	Perkembangan fetus
20-21	Kelahiran

### 3. Teratogenesis

Teratologi adalah ilmu yang mempelajari tentang penyebab, mekanisme dan manifestasi dari perkembangan yang menyimpang dari sifat struktural dan fungsional (Loomis, 1978). Selain itu juga bagian embriologi dan patologi yang



mempelajari tentang perkembangan abnormal dari sel telur, fetus yang dapat menyebabkan kematian atau malformasi (Roberts, 1971).

Bahan kimia yang mempengaruhi perkembangan fetus, dapat menyebabkan efek yang berubah-ubah mulai dari letalitas sampai kelainan bentuk (malformasi) dan pertumbuhan yang terhambat disebut teratogen (Goldstein *et al.*, 1974). Secara kolektif respon-respon ini disebut efek embriotoksik (Loomis, 1978). Beberapa teratogen memiliki sifat letal yang menonjol sedang yang lainnya mampu menimbulkan kelainan pada fetus yang diakibatkan oleh satu atau lebih perubahan yaitu mutasi, penyimpangan kromosom, gangguan pembelahan sel, perubahan sintesis asam nukleat dan protein, penurunan jumlah senyawa yang penting dalam biosintesis, penurunan energi untuk perkembangan fetus, gangguan sistem enzim serta gangguan keseimbangan air dan elektrolit. Manifestasi dari teratogenesis antara lain kematian sel, gangguan interaksi sel, penurunan biosintesis, gangguan pembentukan morfologi dan gangguan jaringan. Manifestasi ini akan menghasilkan kematian intrauterine, malformasi, gangguan pertumbuhan, dan disfungsi atau penurunan fungsi (Wilson, 1973; Loomis, 1978; Peters *and* Berkvens, 1996).

Efek teratogenesis selain dapat disebabkan oleh beberapa bahan kimia, juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lainnya, seperti malnutrisi, keseimbangan endokrin, faktor fisika, radiasi, infeksi, logam-logam berat, pestisida, bahan makanan, zat bioaktif yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan atau hewan, kimia industri polusi udara, air, trauma psikis dan gangguan plasenta (Goldstein *et al.*, 1974; Wilson, 1973; Loomis, 1978). Meskipun banyak bahan

kimia yang diketahui akan mampu menimbulkan perubahan teratogenesis dalam diri hewan laboratorium, tetapi hanya beberapa contoh yang telah diketahui sebagai teratogenik (Loomis, 1978).

Teratogenitas dapat bersifat genetik dan non-genetik. Teratogenitas genetik merupakan kelainan bawaan yang disebabkan oleh mutasi gen, kelainan kromosom dan perubahan fungsi asam nukleat. Sedangkan teratogenitas non-genetik disebabkan oleh kekurangan energi, gangguan pada enzim, perubahan permeabilitas membran dan ketidakseimbangan osmotik membran sel (Roberts, 1971; Wilson, 1973).

Pengaruh langsung maupun tak langsung oleh masuknya bahan kimia terhadap perkembangan organ fetus dapat mengakibatkan kematian fetus, pertumbuhan terhambat dan kelainan pembentukan tulang (Thraser and Kilburn, 2005). Pengaruh-pengaruh yang ditimbulkan oleh teratogen antara lain :

- a) Aberasi, yaitu kelainan morfologi meliputi struktur luar dan dalam serta kelainan fungsional. Misalnya :
  - (1) Anomali minor : kelainan penulangan pada sternum, ekor keriting, kaki lurus, adanya tulang rusuk tambahan, malrotasi anggota badan atau cakar, lidah menonjol, kelainan pembentukan pelvis ginjal dan kulit transparan.
  - (2) Anomali mayor : *spina bifida* dan hidrosepali yang akan mengganggu kelangsungan hidup pertumbuhan dan perkembangan, kesuburan dan panjang usia hewan.
- b) Resorpsi, merupakan manifestasi kematian hasil konsepsi.

- c) Toksisitas pada fetus, tampak dari berkurangnya berat badan fetus yang tidak dapat bertahan hidup (Lu, 1995). Penjelasan toksisitas tersebut adalah sebagai berikut :

(1) Toksisitas pada masa perkembangan dan pertumbuhan

Perkembangan embrio meliputi proliferasi, diferensiasi, migrasi sel dan organogenesis. Selama berlangsungnya proses embriogenesis, proses-proses tersebut secara berurutan, beraturan dan saling berhubungan satu sama lain dan dikendalikan oleh isyarat yang berisi informasi yang dicetak oleh DNA (Ngatijan, 1990).

Malformasi fetus karena teratogen jarang terjadi apabila masuknya teratogen tersebut sebelum implantasi sel telur yang telah dibuahi. Pada awal pembiakan sel yang tak terdiferensiasi, sel-sel dari fetus ternyata tidak rentan terhadap teratogen. Tingkat perkembangan fetus dan tempat zat teratogenik bekerja menentukan kerentanan terhadap zat teratogenik dan kerusakan spesifik terjadi dengan mudah selama masa organogenesis (Ariens dkk., 1986; Loomis, 1978).

Pengaruh buruk teratogen terhadap fetus, terjadi beragam sesuai dengan masing-masing fase, yaitu :

a) Fase Implantasi

Fase ini terjadi pada umur kehamilan kurang dari 3 minggu (manusia) dan 1 sampai 6 hari pada rodentia. Adanya pengaruh buruk menganut pola *all or none*, yaitu tidak terjadi sama sekali atau jika timbul

pengaruh buruk dapat menimbulkan kematian fetus sehingga terjadi abortus pada manusia dan resorpsi pada rodentia.

b) Fase Organogenesis

Terjadi pada umur kehamilan 3-8 minggu pada manusia dan 6-16 hari pada mencit. Tahap ini merupakan tahap paling aktif karena sel mengalami diferensiasi untuk membentuk organ tubuh. Sehingga pada tahap ini paling rentan terhadap teratogen yang dapat mengakibatkan kelainan bentuk (malformasi). Kemungkinan pengaruh buruk yang terjadi adalah :

- i. Pengaruh letal yaitu kematian fetus atau resorpsi (rodentia) dan abortus (manusia),
- ii. Pengaruh subletal yaitu tidak terjadi kematian fetus tetapi terjadi kelainan bentuk (malformasi) organ,
- iii. Gangguan yang permanen yang baru terlihat kemudian, tidak timbul pada saat kelahiran.

c) Fase Fetogenesis

Fase ini dimulai pada akhir minggu ke-8 pada manusia, dimana terjadi penyempurnaan organ, pembentukan organ genitalia eksterna dan histogenesis susunan syaraf pusat. Adanya teratogen akan menyebabkan gangguan mental pasca natal. Sejak fase organogenesis pemberian teratogen akan merusak sel saat diferensiasi yang menyebabkan gangguan pertumbuhan dan akan menghasilkan abnormalitas, dalam proses pembentukan organ itu terjadi molekul

baru, perpindahan sel, pertumbuhan dan koordinasi dari sistem tubuh sehingga zat ini akan mudah berpengaruh (Sagi, 1999).

## (2) Penghambatan perkembangan embrio

Pemaparan zat teratogen selama kehamilan dapat mempengaruhi struktur tubuh fetus yang tumbuh pesat pada waktu tersebut (Katzung, 1997). Wilson (1973) menyatakan bahwa fetus sangat rentan terhadap zat teratogen sehingga setiap gangguan dalam diferensiasi sel selalu mengakibatkan kelainan bawaan (cacat). Kelainan ini bervariasi baik kelainan bentuk, hambatan pertumbuhan, penurunan fungsi sampai kematian. Pada manusia dapat juga menimbulkan keguguran atau pada rodentia menimbulkan resorpsi. Ada beberapa bentuk perkembangan abnormal yaitu gerakan morfogenesis terhalang, hambatan proliferasi sel, penurunan biosintesis, kegagalan interaksi sel dan kematian sel yang berlebihan (Ritter, 1977).

Menurut Wilson (1973) embriogenesis yang normal berakhir dengan terbentuknya individu baru yang bentuk dan strukturnya sama seperti induknya, tapi embriogenesis yang abnormal berakhir dengan terbentuknya individu yang bervariasi. Dasar dari perkembangan abnormal adalah sebagai berikut :

### a) Kelainan bentuk (malformasi)

Manifestasi dari teratogen dapat berupa kelainan bentuk (malformasi) seperti kelainan anatomik, histologi dan berkurang atau bertambahnya jumlah komponen penyusun tubuh fetus.

### b) Pertumbuhan terhambat

Pertumbuhan yang terhambat akan menyebabkan fetus berukuran lebih kecil daripada fetus yang normal. Ada beberapa faktor yang menyebabkan pertumbuhan fetus terhambat, antara lain gangguan sintesis pada tingkat molekuler dari DNA, RNA, protein, karbohidrat dan lemak.

c) Penurunan fungsi

Penurunan fungsi suatu organ atau sebagian organ pada fetus akan menyebabkan vitalitas atau daya tahan hidup menjadi lebih rendah, sehingga fetus berumur pendek.

d) Kematian

Kelainan fetus yang sangat parah akan menyebabkan kematian sebelum lahir. Hal ini disebabkan kelainan struktural maupun fungsional yang sangat besar, sehingga tidak mampu beradaptasi untuk bertahan hidup.

Kelainan kongenital merupakan suatu kelainan struktur anatomi dari suatu organ atau sistem organ yang normal yang dibawa sejak lahir (Wijayanegara dan Wirakusumah 1997). Teratogen yang mekanisme kerjanya bersifat menekan sintesis DNA jaringan embrional, biasanya menyebabkan kematian sel dan apabila terjadi kematian sel dalam jumlah yang banyak maka akan terjadi malformasi (Scott, 1977).

#### 4. Skeleton

Tulang adalah jaringan ikat yang terdiri dari materi intersel yang mengapur (matriks tulang), dan 3 jenis sel tulang yaitu osteosit (terdapat di rongga / lakuna di dalam matriks), osteoblas (yang membentuk komponen organik dari matriks), dan osteoklas (sel raksasa yang berinti banyak yang berperan pada resorpsi dan pembentukan kembali jaringan tulang).

Umumnya struktur tulang adalah kaku dan merupakan penyusun utama sistem skeleton (Greep, 1966; Junqueira dkk., 1998).

Sebagai unsur utama dari sistem skeleton, jaringan tulang menunjang struktur berdaging, melindungi organ-organ vital, dan tempat pembentukan sel-sel darah (Junqueira dkk., 1998). Menurut Bloom *and* Faweett (1978), tulang juga berfungsi sebagai cadangan kalsium, fosfat, dan ion lain yang dapat dilepaskan atau disimpan secara terkendali untuk mempertahankan konsentrasi tetap ion-ion ini dalam cairan tubuh.

Menurut Greep (1966), semua tulang dibentuk oleh osteoblas fungsional. Osteogenesis terdiri dari 2 proses yaitu kalsifikasi matrik organik (termasuk serat kolagen) dan kalsifikasi substansi dasar. Tulang mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang disebut dengan istilah osifikasi. Awal dari proses osifikasi ini adalah terjadinya perubahan jaringan mesenkim pada fetus menjadi jaringan tulang atau menjadi jaringan kartilago yang selanjutnya akan menjadi jaringan tulang (Junqueira dkk., 1998).

Junqueira dkk. (1998) menyatakan bahwa osifikasi dibedakan menjadi 2 cara yaitu osifikasi desmali (intramembranosa) dan osifikasi endokondral. Osifikasi intramembranosa terjadi di dalam daerah-daerah pepadatan jaringan mesenkim. Pada osifikasi intramembranosa ini, tulang dibentuk melalui mineralisasi langsung pada matriks yang disekresi oleh osteoblas. Osifikasi ini merupakan sumber sebagian besar tulang pipih *cranium* yaitu *os-frontal*, *os-parietal*, *os-temporal*, dan *os-occipital*. Selain itu osifikasi ini juga mengatur pertumbuhan tulang-tulang pendek dan penebalan tulang panjang. Sedangkan

osifikasi endokondralis terjadi di dalam tulang rawan hialin. Pertumbuhan tulang pada osifikasi ini melalui penimbunan matriks tulang pada matriks tulang rawan sebelumnya.

a. Osifikasi endokondralis

Ham *and* Cormack (1979) menyatakan bahwa osifikasi endokondralis terbagi dalam 2 tahap. Tahap pertama mencakup hipertropi dan destruksi kondrosit. Pada tahap ini ditandai dengan adanya pusat penulangan primer yang berupa pembesaran (hipertropi) dari kondrosit di tengah-tengah diafisis. Kondrosit mensekresikan bahan matriks kartilago ke ruang antar sel. Adanya hipertropi kondrosit menyebabkan matriks kartilago terdesak membentuk sekat-sekat tipis. Di dalam matriks kartilago terjadi pengendapan garam-garam kalsium, sehingga kondrosit akan terperangkap dalam matriks tersebut. Karena penyediaan nutrisi terhambat, maka kondrosit mengalami destruksi dan akhirnya mati, sehingga menghasilkan rongga-rongga bekas kondrosit yang saling berhubungan yang disebut lakuna.

Destruksi kondrosit menyebabkan berkurangnya kekuatan rangka. Oleh sebab itu, harus diperkuat dengan pembentukan tulang di sekelilingnya. Pada waktu yang bersamaan, perikondrium di sekitar pusat penulangan yang memiliki potensi osteogenik berkembang menjadi tulang yang disebut pipa periosteal. Tulang ini mengelilingi pusat penulangan primer yang masih berongga-rongga dan berfungsi sebagai penopang (Greep, 1966; Junqueira dkk., 1998).



Tahap kedua, tunas osteogenik yang terdiri dari kapiler-kapiler darah masuk dari periosteum, kemudian membawa sel-sel osteoprogenitor menembus ke dalam pusat penulangan primer. Masuknya kapiler-kapiler darah ini menyebabkan perubahan lingkungan, terutama kadar oksigen. Di dalam lingkungan baru ini, pola diferensiasi sel-sel kondrogenik berubah, tidak menghasilkan kondrosit lagi tetapi menghasilkan osteoblas yang akan menjadi osteosit (Ham *and* Cormack, 1979).

Menurut Ham *and* Cormack (1979), pada saat kapiler-kapiler darah menembus pusat penulangan primer, selain membawa sel osteoprogenitor juga membawa kalsium yang digunakan untuk kalsifikasi kartilago. Pada saat kalsifikasi ini, kartilago dilapisi oleh matriks osteoid yang disekresi oleh osteoblas sehingga terbentuk trabekula. Kemudian osteoid akan menjadi jaringan tulang yang masih mengandung kartilago dan terus mengalami kalsifikasi.

Sejak awal pembentukan pusat osifikasi, osteoklas bekerja aktif dan penyerapan tulang berlangsung di pusat, yang mengakibatkan terbentuknya rongga sumsum yang meluas ke arah ujung-ujung yang pada akhirnya seluruhnya menjadi tulang. Pada tahap lanjut perkembangan embrio, timbul pusat penulangan sekunder pada masing-masing epifisis. Fungsi pusat ini sama dengan pusat penulangan primer, tetapi arah pertumbuhannya radial bukan memanjang (Junqueira dkk., 1998).

Osifikasi pada setiap spesies hewan tidak sama. Pada tikus osifikasi dimulai pada hari ke-8 kebuntingan, dengan masa kritis pada hari ke-13

sampai 15 kebuntingan (Taylor, 1986). Menurut Rugh (1968), osifikasi pada mencit dimulai pada hari ke-11 sampai 17 kebuntingan.

b. Pertumbuhan Memanjang Tulang Panjang

Setelah penulangan sekunder berakhir, maka terdapat sisa-sisa kondrosit di antara epifisis dan diafisis yang tersusun berderet-deret. Deretan sel-sel ini dipisahkan oleh matriks tipis. Jaringan kartilago yang berada di antara epifisis dan diafisis disebut kartilago epifisialis (Junqueira dkk., 1998). Kartilago ini berkaitan erat dengan pertumbuhan tulang memanjang. Kartilago ini dibagi menjadi 5 zona yaitu zona rehat, zona proliferasi, zona hipertropi, zona kalsifikasi dan zona osifikasi. Zona rehat terdiri dari kartilago hialin tanpa perubahan morfologi dalam sel. Zona hipertropi mengandung kondrosit dan lakuna yang membesar (Ham *and* Cormack, 1979).

Proliferasi dan hipertropi kondrosit berlangsung terus-menerus secara berturut-turut ke arah distal zona rehat sehingga sel-sel tersebut membutuhkan tempat yang luas. Oleh karena itu dengan sendirinya, terjadi pergeseran dan perluasan kartilago epifisialis secara longitudinal. Sehingga pertumbuhan kartilago lebih banyak memanjang daripada melebar (Ham *and* Cormack, 1979).

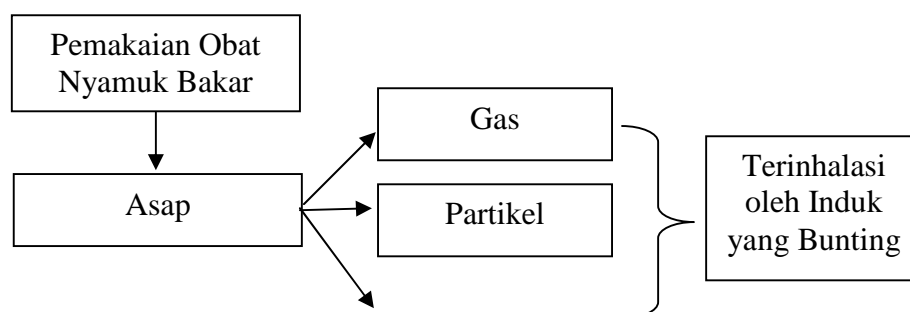
## **B. Kerangka Pemikiran**

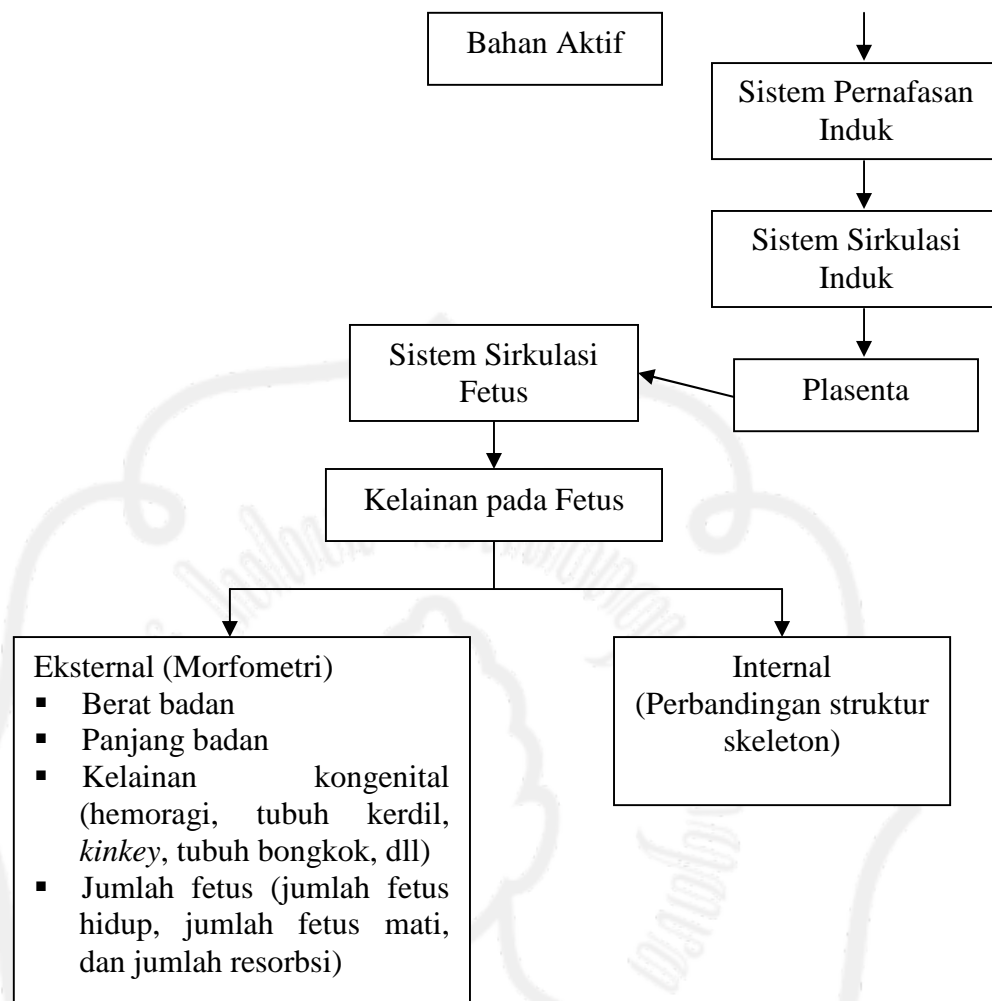
Kandungan bahan kimia yang terdapat dalam asap obat nyamuk bakar yang dipakai dalam penelitian ini adalah adalah propoksur, transflutrin, gas, dan partikel yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Efek toksik dalam obat

nyamuk bakar ini terutama disebabkan oleh propoksur yang memiliki toksisitas lebih tinggi daripada transflutrin dan gas CO.

Sel telur yang sudah dibuahi oleh spermatozoon pada mencit ditandai dengan adanya *vaginal plug*, maka pada hari tersebut ditetapkan sebagai hari pertama kehamilan. Periode kehamilan meliputi periode blastula, organogenesis, dan fetogenesis. Periode organogenesis merupakan tahap pembentukan organ-organ dari fetus yang terjadi pada hari ke-6 sampai hari ke-16 kehamilan.

Efek teratogenik kemungkinan dapat disebabkan oleh asap obat nyamuk bakar yang mengandung bahan kimia dan gas yang berbahaya apabila terinhalasi oleh wanita hamil pada masa organogenesis. Pengaruh buruk tersebut dapat digambarkan dalam bagan kerangka pemikiran sebagai berikut :





Gambar 2. Bagan Kerangka Pemikiran

### C. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dikemukakan sebelumnya, dapat diajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Pemaparan asap obat nyamuk bakar pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis dapat menurunkan persentase fetus hidup.
2. Pemaparan asap obat nyamuk bakar pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis dapat meningkatkan kematian *intrauterine* (resorpsi).
3. Pemaparan asap obat nyamuk bakar pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis dapat menurunkan berat badan dan panjang badan.
4. Pemaparan asap obat nyamuk bakar pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis dapat menimbulkan cacat kongenital pada fetus.
5. Pemaparan asap obat nyamuk bakar pada mencit (*Mus musculus* L.) selama masa organogenesis dapat menyebabkan kelainan struktur skeleton pada fetus.

### **BAB III**

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – September 2006 di Laboratorium Pusat Sub Laboratorium Biologi MIPA UNS Surakarta sebagai tempat untuk pemeliharaan, perlakuan, pembuatan, pengamatan dan pemotretan preparat *wholemout* fetus mencit.

### **B. Bahan dan Alat**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Kandang pemeliharaan dan kandang perlakuan, kandang pemeliharaan berukuran 60 cm x 40 cm x 20 cm (Lampiran 3), sebanyak 4 buah; dan

kandang perlakuan berukuran 30 cm x 30 cm x 50 cm (Lampiran 3), sebanyak 4 buah, yang terdiri dari dua ruangan, ruangan atas dan ruangan bawah untuk meletakkan obat nyamuk yang akan dibakar, semua sisi kandang tertutup rapat kecuali bagian atas kandang terdapat lubang yang ditutup kain kasa untuk keluar masuknya udara.

- b. Peralatan untuk pembedahan : *disecting kit*, cawan petri dan kertas buram.
- c. Peralatan untuk pengamatan morfometri : botol jam, timbangan elektrik AND *capacity* 1200 gr X 0,1 gr, kertas milimeter blok, *loupe*, dan pinset.
- d. Peralatan untuk pembuatan preparat *wholemout* fetus mencit : pinset, botol jam, botol flakon, toples kecil, cawan petri, pipet tetes, gelas ukur, dan gelas beker.
- e. Alat untuk dokumentasi : kamera digital dan mikroskop.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi :

- a. Hewan uji mencit (*Mus musculus* L.) betina galur Balb-C dengan umur 3 bulan dengan berat rata-rata 25-30 gram yang diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta. Makanan yang digunakan adalah *BR II* (Lampiran 2) dan minuman yang diberikan adalah air ledeng.
- b. Obat nyamuk bakar Baygon yang mengandung bahan aktif transflutrin dan propoksur (Herawaty, 2005).
- c. Bahan untuk pembuatan preparat *wholemout* fetus : alkohol 96 %, aseton, gliserin 100 %, KOH 1%, aquades, etanol, asam asetat glasial, zat warna - *Allizarin Red S-Alcian Blue*.

## C. Cara Kerja

### 1. Pra-perlakuan

Dua puluh delapan mencit betina dewasa pada fase siklus estrus dikelompokkan menjadi 4 kelompok terdiri dari 6 mencit dan dicampur dengan empat mencit jantan. Pada hari berikutnya mencit-mencit betina tersebut diperiksa *vaginal plug* (sumbat vagina), apabila terdapat *vaginal plug* maka hari tersebut ditetapkan sebagai hari pertama kebuntingan. Selanjutnya mencit betina dipisahkan dari mencit jantan.

### 2. Perlakuan

Dua puluh empat mencit betina yang telah kawin dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 mencit sebagai ulangan. Tiap kelompok perlakuan mendapat perbedaan lama waktu paparan asap obat nyamuk bakar. Perincian pembagian kelompok dan perlakuan adalah sebagai berikut :

Kelompok I : Mencit tanpa perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar.

Kelompok II : Mencit dengan perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar selama 6 jam per hari selama masa organogenesis (hari ke-6 – 16 kebuntingan).

Kelompok III : Mencit dengan perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar selama 8 jam per hari selama masa organogenesis (hari ke-6 – 16 kebuntingan).

Kelompok IV : Mencit dengan perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar selama

10 jam per hari selama masa organogenesis (hari ke-6 – 16 kebuntingan).

a. Pemaparan Asap Obat Nyamuk Bakar

Sebelum pemaparan, semua mencit ditimbang satu persatu. Kemudian obat nyamuk bakar dibakar ujungnya dan diletakkan pada kandang perlakuan. Setelah waktu perlakuan selesai, mencit-mencit betina tersebut dikeluarkan dari kandang perlakuan. Mencit betina bunting dipapar asap obat nyamuk bakar dengan cara inhalasi *wholebody* pada masa organogenesis yang dimulai pada hari ke-6 sampai hari ke-16 kebuntingan. Mencit betina hamil dipelihara sampai hari ke-19 kehamilan dengan diberi pakan *BR II* (Lampiran 2) dan minum air ledeng secara *ad libitum*.

b. Pembedahan Mencit

Pada hari ke-19 kehamilan mencit dibunuh dengan cara dislokasi servik dan dilakukan bedah *caesar* untuk mengambil fetus dari uterus. Fetus-fetus tersebut kemudian dibersihkan dari selaput plasenta dan lendir yang menyelimutinya.

c. Pemeriksaan Fetus

Fetus yang hidup dan mati dihitung, kemudian ditimbang satu persatu. Setelah itu dihitung jumlah fetus yang mengalami resorpsi.

d. Pemeriksaan Morfologi

Semua fetus dimasukkan ke dalam larutan alkohol 95%. Fetus dibiarkan selama 3 hari. Pemeriksaan meliputi mata, telinga, ruas jari, tengkorak, ekor, dan lain-lain yang dianggap abnormal.



e. Pemeriksaan Skeleton

Fetus dibuat preparat *wholemout* dengan pewarna ganda *Allizarin Red S* dan *Alcian Blue* menggunakan metode Inouye (1976) (Lampiran 4). Pengamatan hasil osifikasi didasarkan pada penyerapan zat warna pada kerangka. Tulang sejati yang normal akan berwarna merah dan tulang yang pertumbuhannya terhambat akan berwarna biru atau tidak terwarnai oleh *Allizarin Red S*.

3. Pemotretan Fetus

Abnormalitas interna fetus diamati dengan mikroskop dan *loupe*, kemudian dilakukan pemotretan terhadap abnormalitas eksterna (kelainan morfologi, hemoragi, dan resorpsi) dan kelainan interna (kelainan hasil osifikasi) dengan menggunakan kamera digital.

**D. Analisis Data**

Data kuantitatif meliputi jumlah fetus hidup, jumlah kematian intrauterus (resorpsi dan fetus mati), berat badan fetus, dan panjang badan fetus yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANAVA), dan apabila terdapat beda nyata yang signifikan di antara perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5%. Pengamatan abnormalitas morfologi, hemoragi, dan resorpsi) dan abnormalitas i (kelainan hasil osifikasi) dianalisis secara diskriptif.

**BAB IV  
HASIL DAN PEMBAHASAN**

Asap obat nyamuk bakar yang diinhalasikan pada mencit bunting (*Mus musculus* L.) selama periode organogenesis, yaitu pada hari ke-6 sampai hari ke-16 kebuntingan kemungkinan dapat menyebabkan bermacam-macam abnormalitas eksterna dan interna. Abnormalitas eksterna pada penelitian ini diamati secara morfometri dengan melihat penampakan reproduksi induk mencit dengan menghitung jumlah fetus hidup, jumlah kematian intrauterus (fetus mati dan resorpsi), mengukur berat badan dan panjang badan fetus dan mengamati abnormalitas berupa hemoragi dan kelainan bentuk pada beberapa bagian tubuh. Sedangkan kelainan interna yang diamati meliputi struktur tulang dan hasil osifikasinya.

#### **A. Pengaruh Inhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar terhadap Reproduksi Induk Mencit Bunting**

Pemeriksaan fetus dilakukan pada hari ke-19 dengan cara bedah caesar. Hal ini dilakukan karena mencit bersifat kanibalisme, apabila melahirkan spontan cenderung memakan keturunannya sendiri yang cacat, mati atau hampir mati sehingga dapat berpengaruh terhadap perhitungan data. Berdasarkan pengamatan, diperoleh data tentang reproduksi induk mencit pada tiap-tiap perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Parameter Reproduksi Induk Mencit yang Diinhalasi dengan Asap Obat Nyamuk Bakar pada Periode Organogenesis.

No	Parameter	Lama Inhalasi (Jam)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
1	Jumlah induk bunting	6	-	6	-	6	-	6	-
2	Jumlah fetus total	73	-	70	-	75	-	84	-

3	Jumlah fetus tiap induk rata-rata	12,17	-	11,67	-	12,5	-	12	-
4	Jumlah dan persentase fetus hidup	72	98,63%	65	92,68%	66	88%	65	77,38%
5	Jumlah dan persentase kematian intrauterus								
	a. Resorbsi	1	1,37%	5	7,14%	7	9,33%	13	15,48%
	b. Fetus mati	0	0%	0	0%	2	2,67%	6	7,14%
6	Berat fetus rata-rata (gr)	0,998	-	0,805	-	0,744	-	0,685	-
7	Panjang fetus rata-rata (cm)	2,24	-	2,04	-	1,88	-	1,71	-
8	Jumlah dan persentase fetus hemoragi	0	0%	3	4,29%	7	9,33%	13	15,48%

### 1. Kematian Intrauterus (Resorbsi dan Fetus Mati)

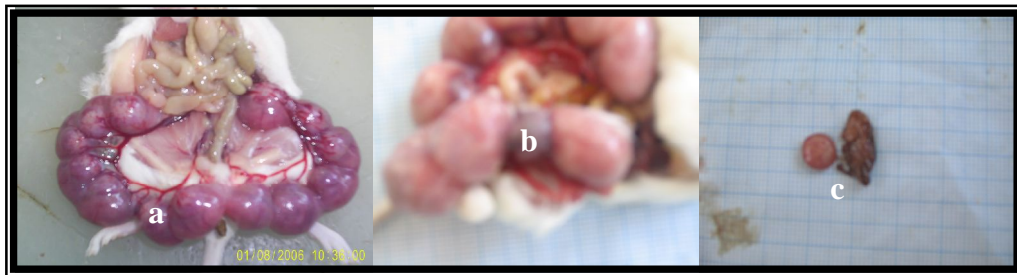
Kecenderungan penurunan persentase jumlah fetus hidup dan peningkatan kematian intrauterus sejalan dengan peningkatan lamanya pemaparan asap obat nyamuk bakar yang diterima oleh induk mencit selama masa organogenesis ditunjukkan oleh tabel 2.

Berdasarkan atas hasil analisis varian, penurunan persentase fetus hidup akibat pemaparan asap obat nyamuk selama periode organogenesis adalah berbeda nyata ( $F_{hit} > 0,05$ ) (Lampiran 6). Semakin lama waktu pemaparan, maka persentase fetus hidup semakin menurun. Uji DMRT dengan taraf signifikansi 5% terdapat beda nyata antara kelompok kontrol dan kelompok pemaparan 6 jam, antara kelompok pemaparan 6 jam dan 8 jam, sedangkan antara kelompok pemaparan 8 jam dan 10 jam tidak terdapat beda nyata (Lampiran 6).

Pengamatan kematian intrauterus meliputi adanya resorbsi dan fetus mati. Resorbsi ditandai oleh adanya gumpalan merah pada uterus yang tidak memberi respon jika disentuh. Resorbsi merupakan fetus yang tidak berkembang menjadi fetus normal di tempat implantasi, yang disebabkan oleh kesalahan morfologi dengan berbagai cacat tubuh yang berakhir dengan kematian (Peters *and*

Berkvens, 1996). Apabila sel yang belum mengalami diferensiasi terkena zat teratogen dalam dosis tertentu, sel dapat mengalami kerusakan yang mengakibatkan kematian sel-sel dan dapat dipastikan hal ini akan mengganggu perkembangan embrio selanjutnya. Pada penelitian ini kematian intrauterus yang dijumpai berupa resorpsi dan fetus mati. Persentase resorpsi yang tertinggi adalah kelompok pemaparan 10 jam. Semakin lama waktu pemaparan maka persentase kematian intrauterus akan semakin meningkat. Analisis DMRT dengan taraf signifikansi 5% didapatkan beda nyata antara kelompok pemaparan 6 jam dan 8 jam, begitu pula antara kelompok pemaparan 6 jam dengan 10 jam, sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok pemaparan 6 jam tidak terdapat beda nyata, begitu pula antara kelompok pemaparan 8 jam dan 10 jam (Lampiran 6).

Terganggunya perkembangan embrio didukung juga oleh adanya fungsi organ-organ yang berperan dalam proses metabolisme dan ekskresi pada embrio yang belum sempurna menjalankan fungsinya sehingga zat-zat kimia dalam peredaran darah embrio akan bertahan lebih lama dan kadarnya lebih tinggi (Rugh, 1968). Apabila terdapat teratogen yang mengenai embrio pada fase pra-diferensiasi, pada semua atau sebagian besar sel-sel embrio menjadi rusak dan berakhir dengan kematian embrio (Ramelan dan Syahrin, 1994). Zat teratogen pada dosis yang tinggi yang diberikan pada awal perkembangan embrio akan menyebabkan kematian yang diikuti aborsi (Goldstein, *et al.*, 1974) atau pada rodentia menyebabkan resorpsi. Morfologi fetus yang mengalami resorpsi ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi Fetus dalam Tubuh Induk Kontrol dan Induk yang Diinhalasi dengan Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis  
(a) Uterus yang berisi fetus normal, (b) Uterus yang berisi fetus resorpsi, (c) Resorpsi

Sebagaimana dijelaskan oleh Delatour (1983) dan Harbison (1980), tingkat kepekaan setiap embrio/fetus tergantung pada tahap perkembangannya. Pada tahap awal proliferasi, embrio akan memberikan respon mati atau tumbuh normal karena pada tahap ini belum terjadi diferensiasi sel sehingga tidak ada pengaruh selektif. Selain itu pada tahap proliferasi ini jika terjadi kerusakan sel masih dapat diganti dengan sel yang baru.

Meskipun terpapar oleh asap obat nyamuk bakar, adanya fetus yang hidup disebabkan adanya proses perbaikan kembali (*recovery*) sel yang rusak dengan sel baru, sehingga memungkinkan fetus dapat bertahan hidup. Terjadinya resorpsi/fetus mati dikarenakan embrio tidak dapat mengadakan perbaikan kembali dengan sel-sel baru sehingga menyebabkan kematian embrio/fetus dan kemudian direspon tubuh induk dengan menyerapnya kembali. Persentase kematian intrauterus yang tinggi dari pemaparan asap obat nyamuk bakar ini menunjukkan bahwa ada kandungan dari obat nyamuk bakar ini yang bersifat embriotoksik/fetotoksik.

Fetus yang mengalami resorpsi kemungkinan memiliki daya tahan tubuh terhadap zat asing paling rendah daripada fetus lainnya. Adanya fetus mati

kemungkinan disebabkan kematian sel-sel pada tahap akhir proliferasi sehingga hanya sedikit sel yang dapat diperbaiki dan saat tubuh induk dibedah, proses resorpsi belum sempurna sehingga biasanya fetus ini ditemukan dalam keadaan cacat. Untuk fetus yang hidup memiliki daya tahan tubuh paling tinggi terhadap zat asing yang masuk ke dalam tubuh, sehingga fetus ini dapat memperbaiki sel-sel yang rusak dan dapat bertahan hidup.

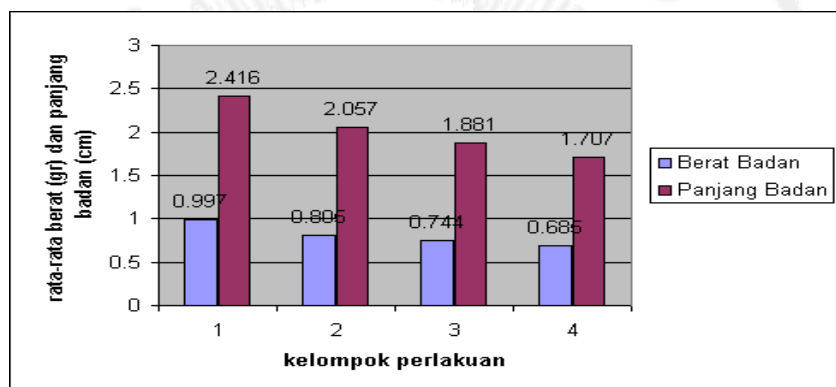
## 2. Berat dan Panjang Badan Fetus

Berat dan panjang badan merupakan salah satu parameter yang penting untuk mengetahui pengaruh suatu zat terhadap pertumbuhan embrio/fetus, karena pada umumnya bila ada pengaruh terhadap perkembangan embrio/fetus dalam uterus yang berasal dari induk yang diperlakukan akan berbeda dengan embrio/fetus induk kontrol. Kelainan fetus dapat ditunjukkan dengan ukuran organ tubuh yang relatif kecil dibandingkan kontrol.

Menurut Ryan *et al.* (1991) dan Wilson (1973) penurunan berat dan badan fetus ini merupakan bentuk paling ringan dari pengaruh senyawa yang bersifat teratogen dan merupakan parameter yang sensitif daripada malformasi dan kematian fetus.

Penurunan berat dan panjang badan rata-rata fetus sebanding dengan peningkatan lama waktu pemaparan asap obat nyamuk bakar yang ditunjukkan oleh tabel 2. Berat rata-rata kelompok kontrol, kelompok pemaparan 6 jam, 8 jam, dan 10 jam berturut-turut adalah 0,998 gr, 0,805 gr, 0,744 gr, dan 0,685 gr (Lampiran 5). Panjang badan rata-rata kelompok kontrol, kelompok pemaparan 6 jam, 8 jam, dan 10 jam berturut-turut adalah 2,24 cm, 2,06 cm, 1,88 cm, dan

1,71 cm (Lampiran 5). Berdasarkan atas hasil analisis varian yang dilakukan, penurunan berat dan panjang badan rata-rata fetus adalah sangat signifikan ( $F_{hit} > 0,05$ ). Semakin lama waktu pemaparan asap obat nyamuk bakar yang diinhalasikan, berat dan panjang badan fetus semakin menurun. Uji DMRT dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan beda nyata antar kelompok perlakuan (Lampiran 6). Hal ini berarti pemaparan asap obat nyamuk bakar selama periode organogenesis cenderung menurunkan berat dan panjang badan fetus yang signifikan dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4).



Gambar 4. Rata-rata Berat Badan dan Panjang Badan Fetus Mencit setelah Induknya Diinhalasi dengan Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis. (1) Kelompok kontrol (tanpa perlakuan), (2) Kelompok pemaparan 6 jam, (3) Kelompok pemaparan 8 jam, (4) Kelompok pemaparan 10 jam



Gambar 5. Perbandingan Fetus Normal dari Kelompok Kontrol dengan Fetus yang Mengalami Hambatan Pertambahan Panjang Badan setelah Induk Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis. (A) Kelompok kontrol, (B) Kelompok pemaparan 6 jam, (C) Kelompok pemaparan 8 jam, (D) Kelompok pemaparan 10 jam.

Waktu pemaparan yang terkecil sekalipun terbukti telah memberikan pengaruh penurunan terhadap berat dan panjang badan fetus (Tabel 2). Penurunan

berat dan panjang badan fetus dikarenakan ada komponen dari asap obat nyamuk bakar yang masuk dalam tubuh sehingga mengakibatkan pembelahan sel terhambat. Periode organogenesis terjadi proses pembentukan jaringan dan organ, melalui tahap proliferasi, migrasi, asosiasi, dan diferensiasi sel yang tinggi, sehingga apabila ada zat asing yang bersifat menghambat pembelahan sel masuk tubuh induk pada saat itu maka proses tersebut akan terganggu dan menghambat perkembangan fetus. Salah satu penyebab timbulnya hambatan perkembangan fetus adalah kandungan propoksur dalam asap obat nyamuk bakar yang dinyatakan oleh Ahdaya *et al.* (1981). Senyawa propoksur merupakan antimitotik yang bersifat mengganggu pembelahan sel dan menghambat aktivitas proliferasi sel. Diduga Induksi propoksur dari asap obat nyamuk bakar akan menyebabkan gangguan replikasi sel, yang berpengaruh pada mitosis tahap metafase dengan menghambat pembentukan spindel mitotik, sehingga menyebabkan sel mati dan pertumbuhan akan terhenti. Sedangkan transflutrin hanya memiliki efek ringan seperti menyebabkan iritasi mata dan kulit.

### **B. Abnormalitas Eksterna**

Kelainan perkembangan fetus dapat disebabkan masuknya zat teratogen ke dalam tubuh induk hamil yang bertepatan dengan periode organogenesis. Penelitian ini membuktikan bahwa asap obat nyamuk bakar bersifat teratogenik karena dapat menyebabkan abnormalitas fetus. Menurut Ryan *et al.* (1991) penurunan berat badan akibat pengaruh teratogen selalu diikuti malformasi. Abnormalitas yang ditemukan dari penelitian ini berupa hemoragi, tubuh bongkok



(flekksi), *kinkey* dan tubuh kerdil. Persentase terjadinya abnormalitas eksterna pada fetus setelah pemaparan asap obat nyamuk bakar dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Abnormalitas Eksterna pada Fetus setelah Induk Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis

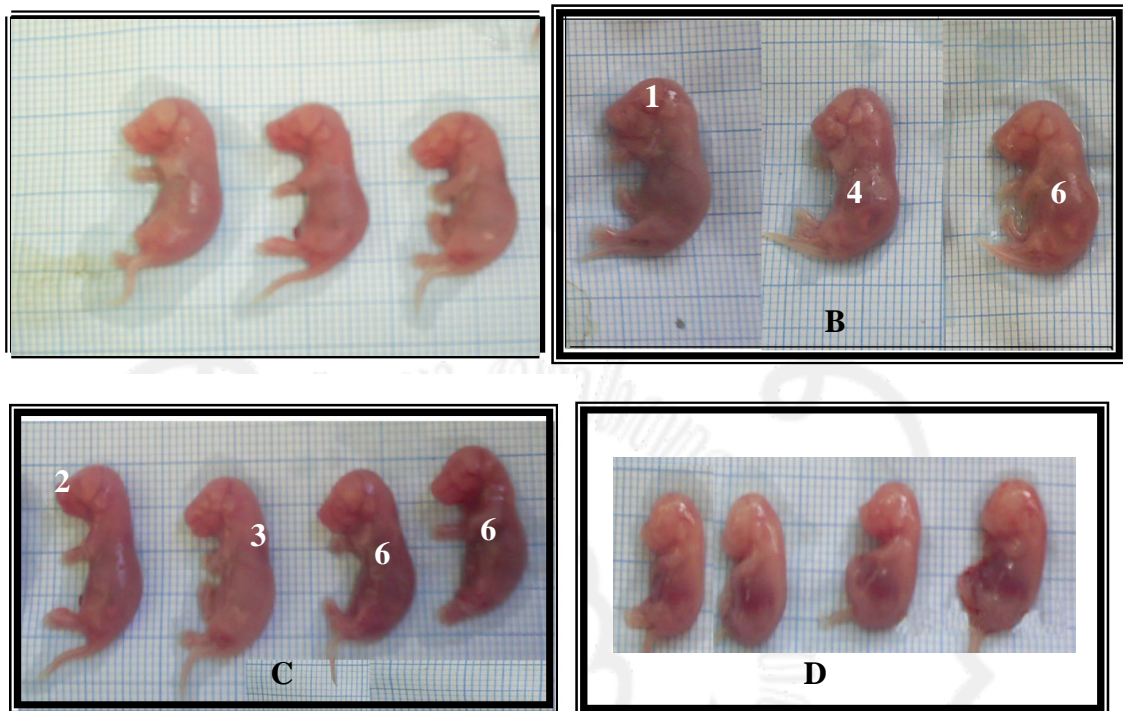
Jenis Abnormalitas Eksterna	Lama Inhalasi (Jam)							
	0	%	6	%	8	%	10	%
Jumlah fetus	73	-	70	-	75	-	84	-
Hemoragi	0	0	3	4,29	10	13,33	15	17,86
Tubuh bongkok	0	0	4	5,71	8	10,67	10	11,90
Tubuh kerdil	0	0	2	2,86	5	6,67	6	7,14
<i>Kinkey</i>	0	0	0	0	3	4,00	5	5,95
Jumlah	0	0	9	12,86	23	30,67	31	36,91

### 1. Hemoragi

Hemoragi merupakan suatu peristiwa keluarnya darah dari sistem kardiovaskuler yang disertai dengan penimbunan di dalam jaringan tubuh (Price and Wilson, 1984 dalam Widiyani dan Sagi, 2001). Hemoragi merupakan bentuk abnormalitas eksterna yang sering terjadi sebagai efek suatu teratogen. Hemoragi pada semua kelompok perlakuan terjadi baik di kepala, leher, punggung, perut, kaki, dan seluruh badan.

Gambar 6 menunjukkan perbandingan morfologi fetus normal dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang mengalami hemoragi. Kelainan ini berupa bercak-bercak darah yang terdapat di bawah kulit. Beberapa mekanisme yang memungkinkan terjadinya pendarahan yaitu salah satunya akibat ketidakseimbangan osmotik, adanya gangguan berupa tekanan dan viskositas cairan pada tubuh fetus yang berbeda yaitu antara plasma darah dan ruang ekstra kapiler atau antara cairan ekstraembrionik dan intraembrionik. Pada kondisi normal, embrio berkembang dalam cairan amnion yang isotonis terhadap cairan

tubuh. Adanya senyawa-senyawa asing kemungkinan dapat mengganggu keseimbangan osmotik tersebut.



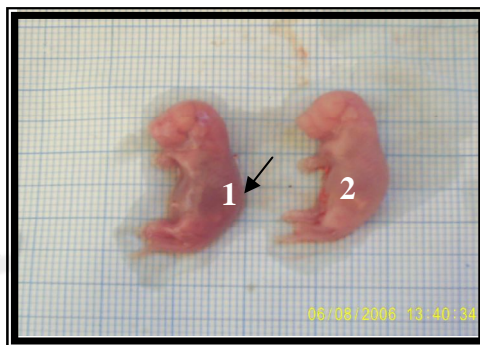
Gambar 6. Perbandingan Morfologi Fetus Normal dengan Fetus yang Mengalami Hemoragi setelah Induk Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis

(A) Kelompok kontrol, (B) Kelompok paparan 6 jam, (C) Kelompok paparan 8 jam, (D) Kelompok paparan 10 jam (1) Hemoragi di kepala, (2) Hemoragi di muka, (3) Hemoragi di punggung, (4) Hemoragi di perut, (5) Hemoragi di kepala dan punggung, (6) Hemoragi di seluruh badan.

## 2. Tubuh Bongkok (Fleksi)

Tubuh bongkok (fleksi) ditemukan pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol yang ditunjukkan pada Gambar 7. Secara berturut-turut dimulai dari persentase yang tertinggi ke yang terendah dari kelainan ini terdapat pada kelompok paparan 10 jam, 8 jam, dan 6 jam (Tabel 3). Bentuk kelainan ini kemungkinan disebabkan oleh kelainan bentuk tulang belakang atau *vertebrae*. Senyawa propoksir yang terkandung di dalam asap obat nyamuk bakar bersifat menghambat pembelahan sel sehingga dapat menyebabkan kematian beberapa sel

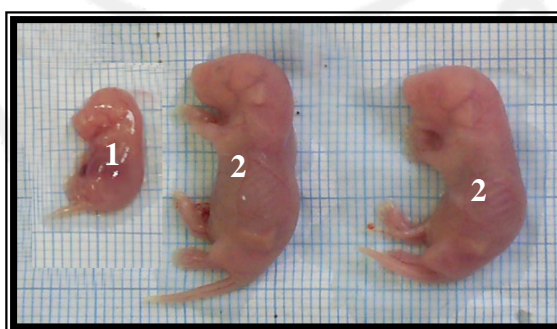
tulang penyusun *vertebrae*, akibatnya kecepatan pertumbuhan tulang satu dengan yang lainnya tidak sama sehingga tulang membengkok.



Gambar 7. Perbandingan Fetus Normal dengan Fetus Tubuh Bongkok dari Induk yang Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis (1) Fetus tubuh bongkok dari kelompok paparan 10 jam, (2) Fetus normal dari kelompok kontrol

### 3. Tubuh Kerdil

Kelainan tubuh kerdil ini ditemukan pada semua kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak ditemukan. Kelainan ini paling banyak ditemukan pada kelompok paparan 10 jam diikuti kelompok paparan 8 jam dan 6 jam (Tabel 3). Perbandingan morfologi fetus normal dan tubuh kerdil ini ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Perbandingan Morfologi Tubuh Fetus Normal dengan Tubuh Fetus Kerdil dari Induk yang Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis (1) Fetus tubuh kerdil dari kelompok paparan 10 jam, (2) Fetus normal dari kelompok kontrol.

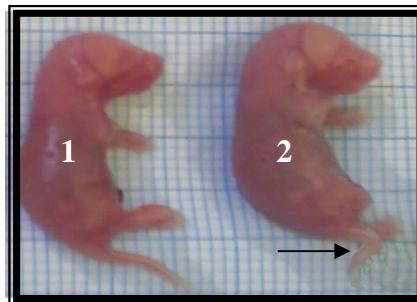
Menurut Herbold (1985) adanya kelainan ini mungkin disebabkan pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tubuh yang terhambat karena pembelahan

sel terganggu, sehingga sintesis asam nukleat dan protein terganggu serta sel yang tidak mampu memperbaiki sel-sel yang rusak. Terhambatnya pembelahan sel menyebabkan ukuran tubuh fetus menjadi lebih kecil daripada fetus normal. Wilson (1973) menyatakan bahwa suatu agen dapat mempengaruhi proliferasi sel, interaksi sel atau biosintesis yang berhubungan dengan penghambatan sintesis asam nukleat, protein dan mukopolisakarida sehingga terjadi keterlambatan pertumbuhan. Selain itu, tubuh kerdil ini mungkin juga disebabkan adanya ekskresi hormon pertumbuhan yang terhambat yang menyebabkan pertumbuhan tulang terhambat sehingga tubuh menjadi cebol atau kerdil.

Suatu agen teratogen apabila merusak seluruh sel embrio akan dapat menyebabkan kematian embrio, sedangkan apabila sebagian kecil saja sel yang dirusak, maka akan diatasi oleh tubuh embrio agar tidak terjadi kelainan.

#### 4. Kelainan Kinkey

*Kinkey* merupakan bentuk kelainan berupa ekor yang melingkar (*curling*). Kelainan ini paling banyak ditemukan pada kelompok pemaparan 10 jam diikuti kelompok pemaparan 8 jam, seperti dalam Gambar 9, sedangkan pada kelompok pemaparan 6 jam dan kontrol tidak ditemukan (Tabel 3). Kelainan ini mungkin disebabkan struktur tulang *vertebrae caudalis* yang melingkar karena terjadi kematian sejumlah sel akibat adanya senyawa karbamat seperti propoksur dalam asap obat nyamuk bakar sehingga menyebabkan kecepatan pertumbuhan yang tidak sama pada tulang ekor dan menjadi melingkar (*curling*).



Gambar 9. Perbandingan Fetus Normal dari Kelompok Kontrol dengan Fetus *Kinkey* (Ekor *Curling*) dari Induk yang Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis  
(1) Fetus normal, (2) Fetus *kinkey* (ekor *curling*) dari kelompok paparan 10 jam

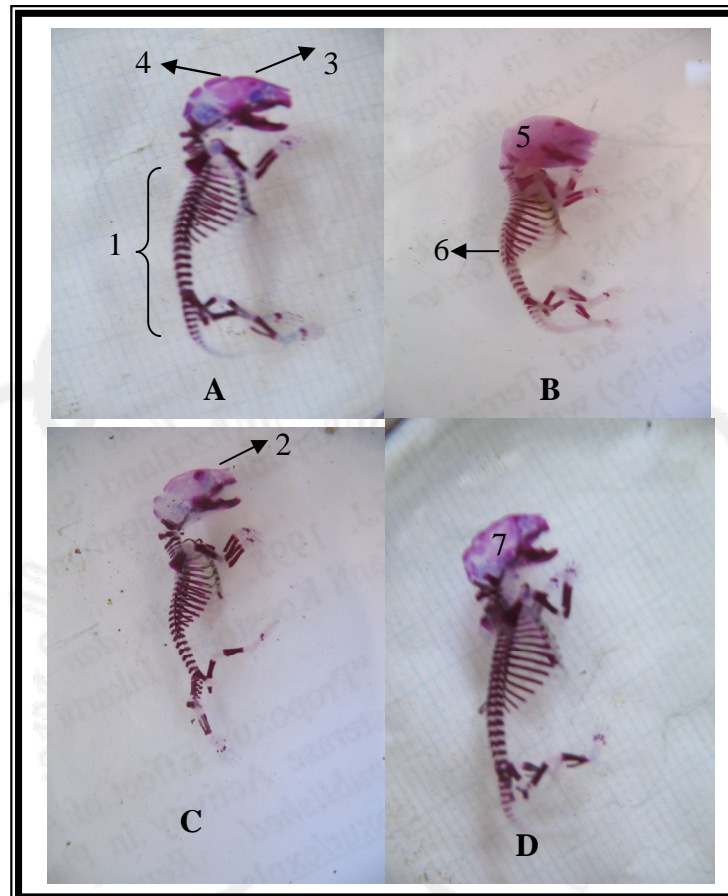
### C. Abnormalitas Interna

Abnormalitas interna yang diamati adalah kelainan perkembangan skeleton meliputi jumlah komponen rangka aksial dan appendikular serta bentuk rangkanya. Pengamatan rangka aksial meliputi *cranium*, *vertebrae*, dan *sternabrae*. Sedangkan skeleton appendikular meliputi *cingulum pectorales*, *cingulum pelvicales*, dan ekstremitas. Untuk mempermudah pengamatan skeleton ini, dibuat preparat *wholemout* dengan menggunakan metode pewarnaan ganda (*Alcian blue* dan *Allizarin Red S*) menurut Inouye (1976). Menurut Anderson and Conning (1988) dalam Widiyani dan Sagi (2001) ada 3 tolok ukur untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan skeleton, yaitu :

1. Jumlah komponen skeleton dan tingkat osifikasinya
2. Ada tidaknya atau sempurna tidaknya osifikasi
3. Ada tidaknya kelainan dalam pembentukan skeleton

Pengamatan menunjukkan terdapat keterlambatan penulangan pada *cranium* dan *vertebrae* pada semua kelompok paparan. Komponen tulang yang

mengalami keterlambatan penulangan antara lain *os-parietal*, *os-interparietal*, dan *os-nasal*.

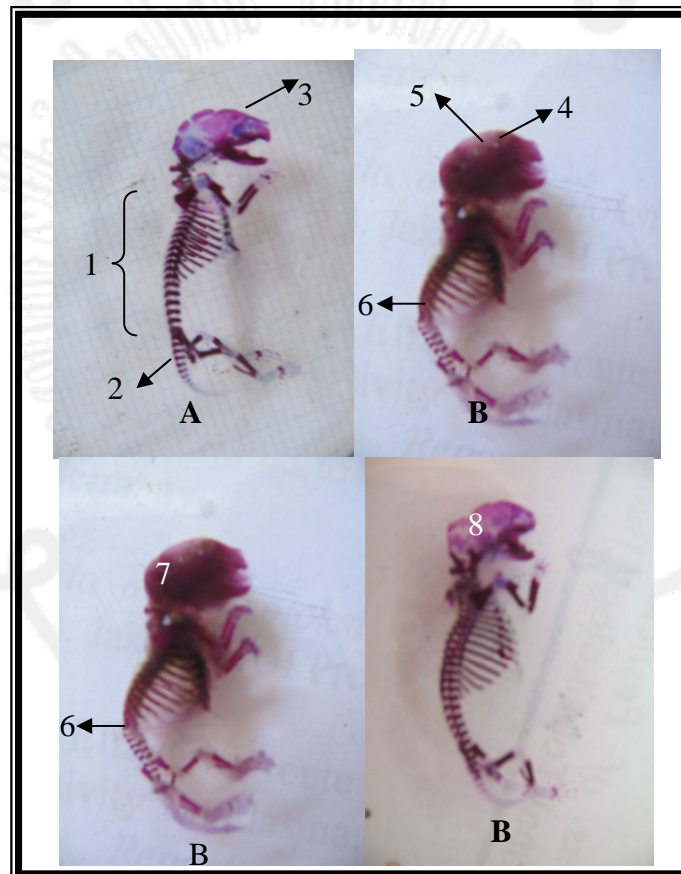


Gambar 10. Perbandingan Kerangka Fetus Kelompok Kontrol dengan Fetus dari Induk yang Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama Masa Organogenesis (A) Kerangka fetus kelompok kontrol, (B) Kerangka fetus kelompok pemaparan 6 jam, (C) Kerangka fetus kelompok pemaparan 8 jam, (D) Kerangka fetus kelompok pemaparan 10 jam (1) *Vertebrae caudalis* normal, (2) *Os-nasal*, (3) *Os-frontal*, (4) *Os-parietal* (5) *Os-parietal*, *Os-interparietal*, dan *Os-supraoccipital* belum mengalami osifikasi (6) *Vertebrae caudalis* bengkok (7) *Os-nasal*, *Os-frontal*, *Os-parietal*, *Os-interparietal* dan *Os-supraoccipital* mengalami keterlambatan osifikasi.

Gambar 10 menunjukkan *columna vertebralis* normal pada fetus kontrol (tanpa pemaparan asap obat nyamuk bakar). Pada gambar terlihat hasil osifikasi pada *cranium* dan *vertebrae lumbalis* telah sempurna, yang ditunjukkan warna merah adalah tulang sejati dan warna biru adalah tulang rawan. Osifikasi pada kelompok perlakuan terutama pada tulang *cranium* mengalami keterlambatan.

Tulang-tulang *cranium* ini tampak tidak terwarnai oleh *Alizarin Red S* yang berarti tulang-tulang tersebut masih bersifat tulang rawan.

Kelompok pemaparan 6 jam, abnormalitas yang terjadi berupa *vertebrae* bengkok (fleksi kifosis), keterlambatan osifikasi pada *os-frontal*, *os-nasal*, dan *os-parietal* yang tampak pada Gambar 11. Pada fetus tersebut tulang *cranium* yang mengalami keterlambatan osifikasi tidak terwarnai oleh *Allizarin Red S* yang berarti tulang-tulang tersebut masih bersifat tulang rawan.



Gambar 11. Perbandingan Kerangka Fetus Kelompok Kontrol dengan Kerangka Fetus dari Induk yang Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama 6 Jam (A) Kerangka fetus dari kelompok kontrol, (B) Kerangka fetus kelompok pemaparan 6 jam, (1) *Vertebrae* normal, (2) *Vertebrae caudalis*, (3) *Os-nasal*, (4) *Os-frontal*, (5) *Os-parietal* (6) *Vertebrae* bengkok (7) *Cranium* yang mengalami keterlambatan osifikasi (8) *Os-parietal*, *Os-interparietal*, dan *Os-supraoccipital* tidak terbentuk

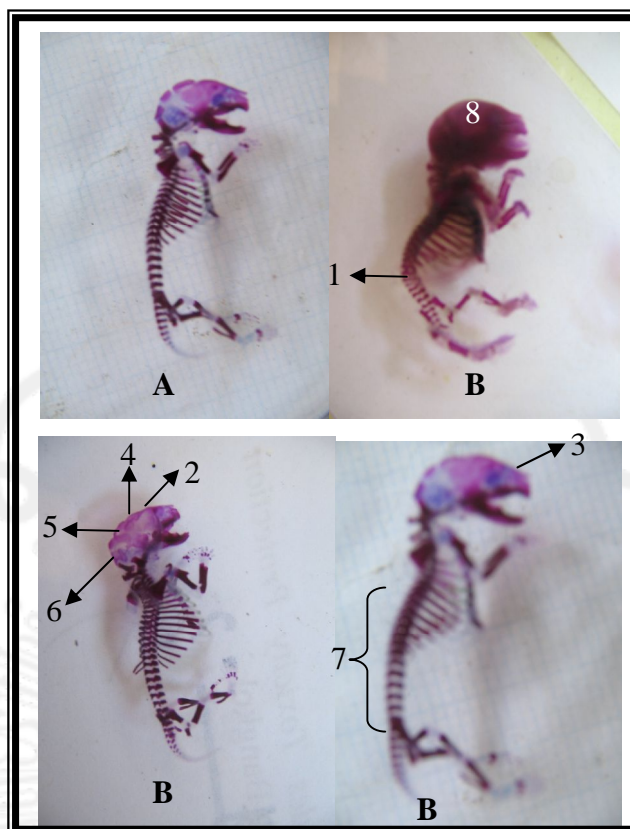
Kelainan perkembangan rangka yang terjadi akibat asap obat nyamuk bakar berupa *vertebrae* bengkok tampak pada Gambar 11. Mungkin berkaitan dengan abnormalitas berupa tubuh bongkok (*fleksi*). Kelainan ini mungkin disebabkan oleh kematian sel pada tempat tertentu sehingga terjadi perbedaan kecepatan pertumbuhan antar ruas pada *vertebrae*. Guyton (1976) menyatakan bahwa adanya tekanan pada tulang dalam keadaan tertentu akan menentukan bentuk tulang. Tekanan mekanik seperti kontraksi otot uterus akibat pemaparan asap obat nyamuk bakar dapat mengubah arah pertumbuhan tulang.



Gambar 12. Perbandingan Kerangka Fetus Kelompok Kontrol dengan Kerangka Fetus yang Induknya Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama 8 Jam  
 (A) Kerangka fetus kelompok kontrol, (B) Kerangka fetus kelompok pemaparan 8 jam (1) *Vertebrae*, (2) *Os-frontal*, (3) *Os-nasal*, (4) *Os-parietal*, (5) *Os-interparietal*, (6) *Os-supraoccipital*, (7) *Maksila* (8) *Metatarsal*

Gambar 12 menunjukkan kelompok pemaparan 8 jam mengalami keterlambatan osifikasi pada *os-frontal*, *os-nasal*, *os-parietal*, *os-interparietal*, *os-supraoccipital*, dan *metatarsal* dan kifosis (*vertebrae* bengkok). Keterlambatan osifikasi ini tampak bahwa pada fetus kelompok perlakuan tulang-tulang *cranium* tidak terwarnai oleh *Allizarin Red S*, yang menunjukkan tulang-tulangnnya masih bersifat tulang rawan. Fetus dari kelompok kontrol, proses osifikasi skeleton pada *cranium* telah sempurna ditandai oleh warna merah dari *Allizarin Red S*.





Gambar 13. Perbandingan Kerangka Fetus Kelompok Kontrol dengan Kerangka Fetus yang Induknya Diinhalasi Asap Obat Nyamuk Bakar selama 10 Jam  
 (A) Kerangka fetus kontrol, (B) Kerangka fetus kelompok paparan 10 jam, (1) *Vertebrae* bengkok, (2). *Os-frontal*, (3) *Os-nasal*, (4) *Os-parietal*, (5) *Os-interparietal*, (6) *Os-supraoccipital*, (7) *Vertebrae* lurus, (8) *Os-nasal*, *Os-parietal*, *Os-interparietal* yang mengalami keterlambatan osifikasi.

Gambar 13 menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus pada kelompok paparan 10 jam mengalami kelainan berupa *vertebrae* lurus, *vertebrae* bengkok, dan keterlambatan penulangan pada *cranium* (*os-parietal*, *os-interparietal*, dan *os-supraoccipital*) *os-nasal*, dan *os-frontal*. Tulang-tulang ini tidak terwarnai oleh *Alizarin Red S* yang berarti tulang-tulangnya masih bersifat tulang rawan.

Adanya keterlambatan tulang penyusun *cranium* dapat membahayakan kehidupan fetus selanjutnya, karena *cranium* berfungsi sebagai pelindung sistem

saraf pusat (otak). Apabila pertumbuhan *cranium* tidak sempurna ada kemungkinan terjadi cacat seperti *exencephaly* (otak keluar). Keterlambatan osifikasi ditunjukkan dengan warna merah terang pada kelompok perlakuan yang menunjukkan tulang masih bersifat tulang rawan dan merah tua pada kelompok control yang menunjukkan tulang sejati.

Tubuh bengkok disebabkan fleksi lordosis dan kifosis pada *vertebrae cervicales* dan *vertebrae thoracales*. Kelainan ini dikarenakan 3 kemungkinan yaitu terjadi gangguan pada somit, *chorda dorsalis*, atau pada *sklerotom*. Menurut Loegito dkk. (1995) dalam Ekawati (2002) selain itu, adanya gangguan terhadap migrasi sel-sel mesenkim saat pembentukan *vertebrae* dapat menyebabkan kelainan pada bentuk *centrum vertebrae*, sedangkan ekor melingkar (*kinkey*) disebabkan oleh bentuk *vertebrae caudalis* yang melingkar karena terjadi perbedaan kecepatan pertumbuhan pembentukan ruas tulang penyusunnya sehingga tulang membelok.

Tulang terdiri atas sel, serabut dan substansi dasar. Serat dan substansi dasar akan membentuk matriks organik yang diperkuat oleh endapan garam-garam kalsium (Ganong, 1989). Tulang kompak mengandung matriks 30% dan 70% garam-garam. Tulang yang baru terbentuk memiliki matriks yang lebih banyak daripada garam-garamnya. Matriks organik terdiri dari 95% serabut kolagen dan 5% zat dasar. Zat dasar ini terdiri dari cairan ekstra sel dan mukoprotein yang mengandung kondriotin sulfat dan hialuronat (Guyton, 1976).

Ada kemungkinan kandungan dalam asap obat nyamuk bakar mengganggu ekspresi gen yang mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan skeleton.

Komponen asap obat nyamuk bakar yang terinhalasi diduga menghambat pembelahan sel *osteoprogenitor* (sel induk yang pertumbuhannya tinggi dan membentuk *osteoblas*) sehingga pembentukan osteoblas terhambat yang mengakibatkan gangguan penyerapan kalsium oleh sel ini. Terhambatnya pertumbuhan sel *osteoprogenitor* ini berkaitan dengan sifat propoksur yaitu antimitotik. Ahdaya *et al.* (1981) menyatakan bahwa induksi propoksur dapat menyebabkan mitosis berhenti dengan menghambat spindle mitotik dan merusak kromosom sehingga sel menjadi mati. Pembelahan sel *osteoprogenitor* yang terhambat menyebabkan pembentukan osteoblas terganggu sehingga proses osifikasi terhambat ini diduga karena adanya propoksur dalam asap obat nyamuk bakar karena transflutrin hanya menimbulkan efek ringan seperti iritasi pada mata dan kulit.

Ganong (1989) menyatakan bahwa hormon pertumbuhan dapat mempercepat kondrogenesis yang merangsang pengendapan matriks pada ujung-ujung tulang panjang dan merangsang penggabungan sulfat ke dalam kartilago. Menurut Ahdaya *et al.* (1981) senyawa golongan karbamat dan organofosfat seperti propoksur dapat mengganggu kerja hormon yang berperan dalam homeostasis mineral tulang, sehingga akan menghambat proses osifikasi tulang. Hormon-hormon ini antara lain paratiroid (PTH), kalsitonin (CH), dan 1,25 dihidroksikolekalsiferol. Setelah hormon paratiroid berikatan dengan kromatin, RNA baru disintesis. Adanya propoksur menghambat sintesis RNA sehingga kondrogenesis terhambat yang menyebabkan pengendapan matriks pada ujung-ujung tulang panjang terganggu.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap keadaan morfometri dan abnormalitas interna dan eksterna fetus yang induknya diinhalasi oleh asap obat nyamuk bakar selama masa organogenesis, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Inhalasi asap obat nyamuk bakar pada mencit bunting selama masa organogenesis pada lama pemaparan 8 jam dan 10 jam secara nyata menurunkan persentase fetus hidup dan meningkatkan persentase kematian intrauterus dan pada lama pemaparan 6 jam tidak berpengaruh nyata terhadap kematian intrauterus. Pada semua perlakuan secara nyata menurunkan berat dan panjang badan fetus, serta menyebabkan kelainan morfologi. Abnormalitas yang terjadi pada kelompok perlakuan berupa hemoragi, *kinkey*, tubuh kerdil, dan fleksi.
2. Inhalasi asap obat nyamuk bakar pada mencit bunting selama masa organogenesis pada semua perlakuan dapat menyebabkan kelainan struktur skeleton berupa kelainan pada *vertebrae* yang lurus, *vertebrae* bengkok (*kifosis*), *vertebrae caudalis* melingkar, serta terjadi keterlambatan osifikasi pada *cranium* (*os-parietal*, *os-interparietal*, *os-supraoccipital*), *os-frontal*, *os-nasal*, *maksila*, dan *metatarsal*.

## B. Saran

1. Masyarakat khususnya wanita hamil agar lebih berhati-hati dalam menggunakan obat anti nyamuk khususnya obat nyamuk bakar pada masa kehamilan supaya bayi yang dikandungnya terhindar dari kematian dan cacat kongenital.
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang potensi teratogen dari obat nyamuk jenis lainnya dan juga dilakukan pada spesies lain sehingga dapat diketahui toksisitasnya secara lengkap serta penelitian tentang lama paparan asap obat nyamuk bakar yang aman bagi wanita hamil.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elraof, T.K., Dauterman, W.C. and Mailman, R.B. (1981) “*In vivo* Metabolism and Excretion of Propoxur and Malathion in the Rat:Effect of Lead Treatment”. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 59: 324-330. <http://www.inchem.org> [31 Maret 2006].
- Adiwiastara. 1992. *Keracunan, Sumber, Bahaya, serta Penanggulangannya*. Bandung : Penerbit Angkasa.
- Ahdaya, S.M., Monroe, R.J. and Guthrie, F.E. 1981. “Absorption and Distribution of Intubated Insecticides in Fasted Mice”. *Biochem. and Physiol.* 16: 38-46. <http://www.inchem.org> [5 April 2006].
- Anonim. 2003. *Memilih Racun Nyamuk*. <http://www.forum.edu/viewtopic.php?id>. [14 Maret 2006].
- Ariens, E.J., Mutschler, E. dan Simonis, A.M. 1986. *Toksikologi Umum*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.

- Asmatullah, Andleeb, S. and Akhtar, N. 2004. "Developmental Defects Induced by Dichlorvos in Mice". *Journal of Research (Science)* 15 (3). <http://www.bzu.pdu.pk/jrscience/dichlorvos/htm>. [5 April 2006].
- Becker, H., Mladenovic, P. and Terrier, Ch. 1989. "Embryotoxicity study (including teratogenicity) with BOQ 5812315 (c.n. propoxur) in the rat". *Unpublished Report* No. 4686 from RCC-Research & Consulting Company AG, Itingen, Switzerland. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. <http://www.inchem.org> [31 Maret 2006].
- Bloom, W. and Fawcett, D.W. 1978. *Histology*. Philadelphia : W.B. Saunders Company.
- Delatour, P. 1983. *Chemical Induced Teratogenesis in Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Landcasten : MTP Press Limited Boston.
- Eben, A. and Kimmerle, G. 1978. "Propoxur, Effect of Acute and Subacute Oral Doses on Acetyl Cholinesterase Activity in Plasma, Erythrocytes and Brain of Rats". *Unpublished Report* oleh Bayer AG. <http://www.inchem.org/propoxur/explanation/htm>. [4 April 2006].
- Eben, A. 1986. "Investigation on The Biotransformation of Propoxur in Mice".. *Unpublished Report* No. 15697. <http://www.pesticideinfo.org/chemgifts/PC35679.gif/htm> [4 April 2006].
- Eben, A., Karl, W. and Macheimer, L. 1984. "Studies on the Biotransformation of Propoxur in the Rat". *Unpublished Report* No.12866. <http://www.inchem.org/propoxur/toxicology/htm>. [ 4 April 2006].
- Ecobichon, D.J. 1989. *Mechanisms of Pesticides Toxicity Protection and Treatment* dalam *International Toxicology*. Bangkok.
- Ekawati, R. 2002. *Pengaruh Radiasi Sinar- $\beta$  terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)*. Skripsi. Surakarta : FMIPA UNS.
- EPA (Environment Pesticide Agricultural). 2002. "Baygon Agents". Pesticide Active Ingredient Information. [http://www.baygon.com/incontent/cfm?a\\_id](http://www.baygon.com/incontent/cfm?a_id). [9 Maret 2006].
- EPA (Environment Pesticide Agricultural). 1992. "Propoxur". EXTUNET (Extention Toxicology Network). <http://pmep.cce.edu/profiles/extonet/metiran-propoxur/propoxur-ext.html>. [9 Maret 2006].

- Fardiaz, S. 1992. *Polusi Air dan Udara*. Yogyakarta : Penerbit Kanisus.
- Fishel, F.M. 2005. "Pesticide Toxicology Profiles : "Carbamate Pesticides". Laporan Publikasi Asli. <http://extoxnet.orst.edu/index.html>. [31Maret 2006].
- Ganong, W.F. 1989. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 17. Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Gibson, G.G. dan Skett, P.1991. *Pengantar Metabolisme Obat*. Jakarta : UI Press.
- Goldsmith, J.S. and Friberg, L.T. 1976. *Air Pollution*. 3<sup>rd</sup> edition. New York : Academic Press.
- Goldstein, A.L. Aronow and Kalman, S.M. 1974. *Principle of Drug Action : The Basic of Pharmacology*. New York : John Wiley & Sons.
- Greep, R.O. 1966. *Histology*. 2<sup>nd</sup> edition. New York : Mc. Graw Hill Company.
- Guyton, A.C. 1976. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* Edisi 5 (diterjemahkan oleh Adji Dharma dan P. Lukman). Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Hafez, E.S.E. 1970. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Philadelphia : Lea & Febinger.
- Ham, A.W. and Cormack, D.H. 1979. *Histology*. Philadelphia : J.B. Lippincott Company.
- Harbison, R.D. 1980. *Teratogen in Toxicology The Basic Science of Poisons*. New York : Mac Millan Publishing Co Inc.
- Herawaty. 2005. "Obat Nyamuk". Mailing List Dokter Indonesia (MLDI). <http://www.mail.archive.com/dokter.ac.id> [15 Juni 2006].
- Herbold, B. 1985. "Propoxur , Sister Chromatid Exchange in The Bone Marrow of the Chinese Hamster in Vivo to Evaluate for Harmful Effect on DNA". *Unpublished Report* No. 13501. Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Federal Republic of Germany. <http://www.inchem.org/propoksur.ac.id> [14 Maret 2006].
- Inouye, M. 1976. "Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Allizarin Red S". *Congenital Anomalies* 16 (3) : 171-173.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J dan Kelley, R.O. 1998. *Histologi Dasar*. Terjemahan oleh J. Tembayong. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Katzung, B.G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik* (Diterjemahkan oleh Staf Dosen Farmakologi F.K UNSRI). Jakarta : EGC-Penerbit Buku Kedokteran.
- Kimball, J.W. 1983. *Biologi Jilid 2*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Kimmerle, G. and Iyatomi, A. 1976. "Toxicity of Propoxur to Rats by Subacute Inhalation". *Jap. J. Ind. Health* 18: 375-382. <http://www.inchem.org/propoxur/toxicology/htm>. [31 Maret 2006].
- Liu, W., Zhang, J., Hashim, J.H., Jalaludin, J., Hashim, Z., and Goldstein, B.D. 2003. "Mosquito Coil Emissions and Health Implications". *Environment Health Perspective* 111 (12) : 1454-1460. <http://dx.doi.org>. [6 April 2006].
- Loomis, T.A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Semarang : IKIP Semarang Press.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ, Sasaran dan Penilaian Resiko* (Terjemahan Edi Nugroho). Jakarta : UI-Press.
- Matthew, G.A. 1979. *Pesticide Application Method*. England : Long Man Group Limited.
- Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan. 1990. *Kualitas Lingkungan Hidup di Indonesia*. Kantor Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup. Jakarta : PT. Intermedia.
- Meyers, F., Jawetz, E. and Goldfien, A. 1976. *Reviews of Medical Pharmacology*. 6<sup>th</sup> Edition. Los Altos : Lange Medical Publications.
- Nashibah, 2003. *Jangan Asal Semprot*. <http://www.kompas.com/kesehatan/news/htm>. [14 Maret 2006].
- Ngabekti, S. 1992. *Penentuan Dosis Efektif Median (ED<sub>50</sub>) Obat Nyamuk Bakar dan Pengaruh Kronisnya terhadap Struktur dan Fungsi Sistem Pernafasan Mencit (*Mus musculus* L.)*. Tesis. Yogyakarta : Fakultas Pasca Sarjana UGM.
- Ngatijan. 1990. *Petunjuk Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta : PAU Bioteknologi UGM.
- Peters, P.W.J. and Berkvens, J.M. 1996. *General Reproduction Toxicology in Niensink, R.J.M., J.D Vries and M.A Hollinger. Toxicology : Principle and Application*. New York : CRC-Press.



- Ramelan, W., dan Syahrin, H.M. 1994. *Kelainan pada Proses Perkembangan Embrio (Teratologi), Reproduksi dan Embriologi dari Satu Sel Menjadi Organisme*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Ritter, E.J. 1977. Altered Biosynthesis In : *Hand Book of Teratology* Vol 2 Edited by J.G. Wilson and FC Fraster. New York : Plenum Press.
- Roberts. 1971. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. New York : Ithaca.
- Rochmiatun, U. S. 2003. *Efek Teratogenik Ekstrak Herba Tapak Dara Putih (*Vinca rosea* L.) pada periode Organogenesis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)*. Skripsi. Surakarta : FMIPA UNS.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse : Its Reproduction and Development*. New York : Burger Publishing Company.
- Ryan, L.M., Catalano, P.J., Kimmel, C.A., and Kimmel, G.L. 1991. "Relationship between Fetal Weight and Malformation in Developmental Toxicity Studies". *Teratology* 44 : 215-223.
- Sagi, M. 1999. *Teratologi : Panduan Kuliah S2 Program Studi Biologi*. Yogyakarta : Laboratorium Histologi – Embriologi Fakultas Biologi UGM.
- Sastrawijaya. 2000. *Pencemaran Lingkungan*. Jakarta : Penerbit Rineka Cipta.
- Schenker, E.B and Forkheim, K.E. 1998. "Early Development of Mice Embryo in Microgravity Environment on sts-80 Space Flight". *Annual Meeting Abstract*. <http://www.asgsb.org/embryo/htm>. [14 Maret 2006].
- Scott, W.J. 1977. *Development Biology*. New York : Sinauer Associated Published.
- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : Penerbit UI-Press.
- Soemirat, S.J. 1996. *Kesehatan Lingkungan*. Jakarta : Penerbit Rineka Cipta.
- Sunarto. 2002. "Pengaruh Karbonmonoksida (CO) Udara terhadap Status Kesehatan Polisi yang Bertugas di Jalan Raya Yogyakarta". *BioSmart* 4 (1) : 40-45.
- Tandra, H. 2003. *Hubungan Merokok dan Kesehatan*. [http://www.antirokok.or.id/product\\_indect.htm](http://www.antirokok.or.id/product_indect.htm). [6 April 2006].

- Thrasher, J.D and Kilburn, K.H. 2005. "Embryo Toxicity and Teratogenicity of Formaldehyde (FA)". *Toxicology Journal*. [http://www.drthrasher.org/formaldehyde\\_embryo\\_toxicity.html](http://www.drthrasher.org/formaldehyde_embryo_toxicity.html). [5 April 2006].
- Tisch, M., Faulde, M.K, Maier, H., and Rhinol, A.J. 2005. "Genotoxic Effects of Pentachlorophenol, Lindane, Transflutrin, Cyflutrin, Pyretrum, and Propoxur on Human Mucosal Cells of the Inferior and Middle Nasal Conchae". *Pesticide Science* 19 (2) : 141-151. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/pesticides.htm>. [31 Maret 2006].
- Taylor, P. 1986. *Practical Teratology*. New York : Academic Press.
- Wahyuni, T. 2005. "Waspada! Efek Negatif Anti-Nyamuk". <http://www.k-online.com/intisari/baygon.htm>. [9 Maret 2006].
- Wardhana, W.A. 1995. *Dampak Pencemaran Lingkungan*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Widiyani, T. dan Sagi, M. 2001. "Pengaruh Aflatoksin B1 terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio dan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus L.*)". *Teknosains* 14 (3): 409-427.
- Wijayanegara, H. dan Wirakusumah, F.F. 1997. *Pemantauan Biofisik Janin*. Bandung : F.K Universitas Padjajaran.
- Widjayanto, H. 1997. *Pengaruh Asap 3 Macam Obat Nyamuk Bakar terhadap Struktur Mikroanatomi Trakea, Pulmo, dan Hepar Mencit (*Mus musculus L.*)*. Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM.
- Wilson, J.G. 1973. *Environment and Birth Defect*. London : Academy Press.Inc.

