

## Malformasi Rangka Fetus Tikus Wistar Akibat Efek Teratogenik Insektisida Endosulfan

(*SKELETAL MALFORMATION OF WISTAR RAT FETUSES DUE  
TO THE TERATOGENIC EFFECT OF ENDOSULFAN INSECTICIDE*)

Desak Made Malini, Madihah, Amalia Shalihah

Program Studi Biologi,  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Padjadjaran  
Jl. Raya Bandung Sumedang Km.21, Jatinangor,  
Sumedang, Bandung, Jawa Barat, Indonesia 45363  
Tlp. (022-7796412); Email: [desak.made@unpad.ac.id](mailto:desak.made@unpad.ac.id)

### ABSTRAK

Endosulfan merupakan insektisida golongan organoklorin yang masih digunakan hingga kini meski telah dilarang karena bersifat toksik dan teratogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemajanan endosulfan secara oral terhadap malformasi rangka fetus tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) selama umur kebuntingan 6-15 hari. Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pemajanan endosulfan dosis: 0 (kontrol); 0,083; 0,19; 0,44; dan 1 mg/kg BB/hari dan masing-masing diulang sebanyak lima kali. Induk betina dengan umur kebuntingan 20 hari, dikorbankan nyawanya lalu dibedah dan diamati tampilan reproduksi induk serta malformasi rangka pada fetus dengan metode pewarnaan *Alizarin red S*. Hasil uji sidik ragam satu arah menunjukkan pemajanan endosulfan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap rataan pertambahan bobot badan induk, jumlah fetus terimplantasi, bobot badan dan panjang fetus. Malformasi implantasi fetus, ukuran fetus dan rangka fetus terjadi pada kelompok pemajanan endosulfan. Hasil uji eksak Fisher menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok pemajanan endosulfan terhadap jumlah fetus yang mengalami kelainan jumlah rangka penyusun sternum, cakar depan dan cakar belakang. Simpulan dari penelitian ini adalah pemajanan endosulfan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari pada tikus bunting menimbulkan malformasi rangka pada fetus yaitu berkurangnya jumlah tulang penyusun sternum, cakar depan, dan cakar belakang.

Kata-kata kunci: cakar; fetus; sternum; tampilan reproduksi; teratogenik

### ABSTRACT

Endosulfan an organochlorine insecticide that is commonly used even though it has been banned due to its toxic and teratogenic effect. This study aims to determine the effect of orally endosulfan exposure to pregnant rat (*Rattus norvegicus*) at day 6-15th of gestation period to the foetus skeletal malformation. A Completely Randomized Design (CRD) by endosulfan dosages: 0 (control); 0.083; 0.190; 0.440; 1.000 mg/kg BW/day with 5 replicates was applied. At 20<sup>th</sup> of the gestational period, the rats were sacrificed, their reproductive organs and the fetal skeletal malformation were observed using *Alizarin red S* method. The results of one-way ANOVA test showed that endosulfan exposure did not significantly affect the pregnancy outcomes ie. female rats weight gain, the numbers of implanted foetus, foetal body weight and length, respectively. Malformation of foetus implantation, foetus size and foetus skeletal occurred in the endosulfan exposure groups. Fisher's exact test results showed a significant difference between the control group and the endosulfan exposure group on the number of foetuses that have abnormalities in the number of skeletons of the sternum, fore and hind paws. The exposure of endosulfan at 0.083-1.000 mg / kg BW / day in pregnant rats caused skeletal malformations of the foetus ie. decreased in the number on sternum, fore- and hind paw bones.

Key words: endosulfan; fetus; paws; sternum; reproduction performance; teratogenic

## PENDAHULUAN

Endosulfan merupakan pestisida golongan organoklorin yang tidak mudah terdegradasi dan tetap berada di alam dalam jangka waktu panjang (Fan, 2007). Endosulfan juga bersifat bioakumulatif sehingga dapat terakumulasi di dalam jaringan hewan (Tarumingkeng, 1992). Bahaya utama endosulfan adalah sifatnya yang genotoksik dan teratogenik terhadap embrio. Berdasarkan laporan Deni *et al.* (2012), pemajanan endosulfan dengan konsentrasi 3,4; 18,4; dan 64,5 ppb menyebabkan aberasi kromosom pada sumsum tulang *R. norvegicus* jantan. Sementara itu Ren *et al.* (2011) telah menemukan adanya hubungan antara kandungan beberapa senyawa organoklorin (termasuk endosulfan) dalam plasenta terhadap tingginya kasus kerusakan bumbung neural pada embrio manusia.

Peredaran pestisida jenis organoklorin telah dilarang oleh pemerintah berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian No. 45/Permentan/SR.140/10/2009. Namun demikian, di Indonesia sampai saat ini pestisida dengan zat aktif berupa endosulfan masih tetap beredar (dengan merek dagang Akodan<sup>®</sup>) sehingga masih banyak digunakan oleh petani karena harganya yang murah, efektif, dan mudah digunakan (Sudaryanto *et al.*, 2007). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa endosulfan ditemukan pada beberapa jenis bahan makanan di Indonesia, di antaranya pada produk nabati seperti wortel dengan kisaran konsentrasi sebesar 10,6-23,6 ppb (Sinulingga, 2006) dan kubis sebesar 7,4 ppb (Munarso *et al.*, 2009), serta pada produk hewani seperti daging, lemak dan hati sapi potong sebesar 0,03-7,80 ppb (Indraningsih dan Rahmat, 2006). Penggunaan endosulfan juga telah mencemari organisme perairan, seperti pada ikan yang ditangkap di daerah aliran Sungai Citarum dengan konsentrasi endosulfan tertinggi ditemukan sebesar 82,8 ppb (Paramita, 2010). Jika endosulfan dikonsumsi oleh seorang ibu yang sedang hamil, maka diasumsikan dapat menimbulkan kelainan teratogenik, salah satunya pada pembentukan rangka janin yang dikandungnya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemajanan endosulfan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari terhadap tampilan reproduksi induk dan malformasi rangka fetus *R. norvegicus* pada umur kebuntingan 20 hari. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah

mengenai akibat teratogenik penggunaan endosulfan sebagai bahan dasar pestisida terhadap pembentukan rangka fetus.

## METODE PENELITIAN

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah pestisida (Akodan<sup>®</sup>; endosulfan 250 g/l). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) albino Wistar betina sebanyak 25 ekor dengan umur 8-10 minggu dan bobot badan 150-200 g, serta tikus albino Wistar jantan sebanyak 10 ekor dengan umur 10-12 minggu dan bobot badan 200-250 g yang berasal dari Laboratorium Biosistem, Departemen Biologi, FMIPA Unpad, Bandung.

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan lima perlakuan yaitu pemajanan endosulfan yang dilarutkan dalam akuades dengan dosis: 0 (kontrol); 0,083; 0,19; 0,44; dan 1 mg/kg BB/hari dengan pengulangan sebanyak lima kali. Penentuan dosis terendah pemajanan endosulfan pada penelitian ini didasarkan pada penelitian Paramita (2010), sedangkan dosis tertinggi didasarkan pada penelitian Singh *et al.* (2007). Pemajanan dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung selama 10 hari berturut-turut pada periode organogenesis yaitu umur kebuntingan 6-15 hari (Effting *et al.*, 2004). Pada umur kebuntingan 20 hari, hewan uji dikorbankan nyawanya dengan cara dislokasio leher, lalu dibedah untuk diamati tampilan reproduksi dan malformasi rangka pada fetus.

### Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji dipelihara dalam kandang hewan Laboratorium Biosistem FMIPA Unpad dengan temperatur antara 23-25°C, pencahayaan 12 jam gelap dan 12 jam terang. Penggantian sekam alas kandang dilakukan secara berkala setiap minggu. Selama perlakuan hewan uji diberi pakan komersial (CP-551<sup>®</sup> PT. Charoen Pokhpand, Indonesia) dan minum berupa air kran secara *ad libitum*.

### Pengawinan dan Penetapan Umur Kebuntingan

Sebelum induk betina dikawinkan, dilakukan pemeriksaan siklus estrus terlebih

dahulu dengan cara mengamati ulas vagina. Tikus betina yang menunjukkan fase estrus ditempatkan dalam satu kandang dengan tikus jantan pada sore hari. Terjadinya kopulasi ditentukan berdasarkan adanya sumbat vagina pada tikus betina pada keesokan harinya. Tikus dinyatakan kawin apabila ditemukan spermatozoa pada ulas vagina dan dihitung sebagai umur kebuntingan 0 hari (Kumolosasi *et al.*, 2004).

### **Pemajanan Endosulfan Secara Oral**

Pemajanan endosulfan dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde selama 10 hari berturut-turut yaitu pada umur kebuntingan 6-15 hari. Selama masa pemajanan, kondisi kesehatan induk betina diamati dan bobot tubuh ditimbang setiap hari.

### **Pengamatan Tampilan Reproduksi Induk Betina**

Pada umur kebuntingan 20 hari, induk betina dikorbankan nyawanya dengan cara dislokasio leher, lalu dilakukan pembedahan. Uterus diisolasi dan ditempatkan di dalam larutan garam fisiologis, kemudian uterus dibedah dan fetus dipisahkan dari uterus untuk diamati tampilan reproduksi pada induk berupa: (i) status implantasi yaitu dengan menghitung fetus hidup (fetus yang berkembang penuh dan merespons sentuhan) dan fetus mati (fetus yang berkembang penuh dan tidak ada tanda-tanda autolisis tetapi tidak merespons sentuhan); (ii) bobot badan fetus dan panjang fetus yang diukur dengan menggunakan kertas milimeter blok (Hood, 2006); serta (iii) jumlah induk dengan kelainan implantasi, rataan jumlah fetus yang terimplantasi, jumlah induk dengan fetus berukuran kecil, dan jumlah fetus berukuran kecil.

### **Pengamatan Efek Teratogenik Endosulfan pada Pembentukan Rangka Fetus**

Pengamatan efek teratogenik terhadap pembentukan rangka dimulai dengan membuat sediaan *Wholemout* dari rangka fetus, menggunakan metode pewarnaan *Alizarin red S* dengan modifikasi, berdasarkan Effting *et al.* (2004). Proses tersebut diawali dengan dehidrasi, eviserasi, dan fiksasi fetus dalam larutan etanol 96%. Fetus lalu direndam dalam larutan kalium hidroksida (KOH) 2% hingga jaringan lunak (otot) terlihat transparan dan tulang berwarna krem. Fetus kemudian direndam kembali dalam larutan KOH 2% yang telah ditambahkan

*Alizarin Red S* 0,5% dan larutan KOH 2% masing-masing selama 24 jam. Fetus selanjutnya direndam dalam campuran larutan gliserin dan KOH 2% pada perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 24 jam. Tahap terakhir fetus direndam pada larutan gliserin murni yang telah ditambahkan beberapa tetes fenol 0,5% sebagai pengawet.

Kelainan rangka pada fetus diamati secara langsung menggunakan mikroskop stereo. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah fetus yang mengalami kelainan bentuk dan kelainan jumlah pada daerah kranium, trunkus yang meliputi kosta, sternum dan vertebra, tungkai depan yang meliputi humerus, radius, ulna, dan cakar depan (karpal, metakarpal dan falangs) serta tungkai belakang yang meliputi femur, tibia, fibula, dan cakar belakang (tarsal, metatarsal dan falangs). Tampilan rangka fetus tikus yang normal mengacu pada Menegola *et al.* (2001). Jumlah induk dengan fetus mengalami malformasi rangka dan jumlah fetus dengan malformasi rangka total diamati pula pada penelitian ini.

### **Analisis Data**

Data tampilan reproduksi induk dianalisis dengan uji sidik ragam pada taraf kepercayaan 95% dan antar perlakuan yang berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Singh *et al.*, 2007). Data pengamatan efek teratogenik terhadap malformasi rangka fetus dilakukan dengan menghitung jumlah fetus yang mengalami kelainan pada kelompok pemajanan endosulfan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perbedaan sigifikansinya diuji dengan uji eksak Fisher pada taraf kepercayaan 95% (Effting *et al.*, 2004). Semua analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS untuk Windows Versi 18.0.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Efek Pemajanan Endosulfan terhadap Tampilan Reproduksi Induk Betina**

Pemajanan endosulfan 0,083 hingga 1 mg/kg BB/hari tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertambahan bobot badan induk. Namun, induk kelompok kontrol memiliki rata-rata pertambahan bobot badan tertinggi. Rataan pertambahan bobot badan induk dipengaruhi oleh jumlah total fetus dan bobot badan masing-masing fetus.

Hasil pengamatan tampilan reproduksi induk secara kualitatif menunjukkan adanya perbedaan distribusi fetus yang terimplantasi antara kelompok kontrol dengan kelompok pemajanan endosulfan dosis 0,44 dan 1 mg/kg BB/hari. Distribusi implantasi fetus pada seluruh induk kelompok kontrol, endosulfan dosis 0,083 dan 0,19 mg/kg BB/hari terjadi secara merata pada uterus kiri maupun kanan, sedangkan pada kelompok endosulfan dosis 0,44 mg/kg BB/hari ditemukan satu induk dengan fetus terimplantasi hanya di uterus kanan saja dan pada dosis 1 mg/kg BB/hari fetus hanya pada uterus kiri saja. Perbandingan distribusi implantasi fetus pada uterus antar kelompok

kontrol dengan kelompok pemajanan endosulfan disajikan pada Gambar 1.

Ketidakeimbangan jumlah fetus yang terimplantasi diduga dipengaruhi oleh endosulfan. Menurut Sarma dan Kalita (2012), endosulfan dapat mengganggu sistem reseptor progesteron, sehingga dapat meningkatkan risiko keguguran. Guyton (1976), menyatakan bahwa progesteron merupakan hormon yang berperan penting dalam proses kebuntingan karena progesteron menyebabkan sel-sel penyusun desidua berkembang pada endometrium, dan sel ini memegang peranan penting dalam proses pemberian nutrisi pada embrio pada tahap awal perkembangan.

Tabel 1. Pengaruh pemajanan endosulfan terhadap tampilan reproduksi induk betina bunting

Parameter	Dosis pemajanan endosulfan (mg/kg BB/hari)				
	0	0,083	0,190	0,440	1,000
Rataan pertambahan bobot badan induk (g)	91,50±14,97	77,90±19,32	74,80±27,64	75,20±18,94	64,10±4,98
Jumlah fetus hidup (ekor)	48	45	50	40	38
Jumlah fetus mati (ekor)	1	-	-	-	-
Rataan bobot badan fetus (g)	4,420±0,285	4,130±0,197	4,410±0,265	4,250±0,852	4,010±0,586
Rataan panjang fetus (cm)	4,060 ±0,109	3,840±0,123	3,950±0,152	4,040±0,079	3,800±0,325
Malformasi Implantasi					
Jumlah induk dengan kelainan implantasi/ Jumlah total induk tiap kelompok (ekor)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	1/5 (20%)	1/5 (20%)
Rataan jumlah fetus yang terimplantasi pada induk (ekor)	9,80±1,79	9,00±2,45	10±1	8,00±3,54	7,60±2,30
Malformasi Ukuran Fetus					
Jumlah induk dengan fetus berukuran kecil / Jumlah total induk tiap kelompok (ekor)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	2/5 (40%)	3/5 (60%)
Jumlah fetus berukuran kecil/ Jumlah total fetus (ekor)	1/48 (2%)	0/45 (0%)	1/50 (2%)	9/40 (22,5%)	13/38 (34,2%)
Malformasi Rangka Fetus					
Jumlah induk dengan fetus mengalami malformasi rangka / Jumlah total induk tiap kelompok (ekor)	3/5 (60%)	4/5 (80%)	4/5 (80%)	4/5 (80%)	4/5 (80%)
Jumlah fetus dengan malformasi rangka/ Jumlah total fetus (ekor)	30/48 (62,52%)	27/45 (60%)	14/50 (28%)	20/40 (50%)	27/38 (71%)

Keterangan: Data ditampilkan dalam bentuk rata-rata standar deviasi; Data rata-rata pertambahan bobot badan induk, rata-rata jumlah fetus yang terimplantasi, rata-rata bobot badan fetus, dan rata-rata panjang fetus dianalisis dengan uji sidik ragam satu arah ( $p>0,05$ )

Progesteron juga mengurangi kontraksi uterus sehingga mencegah terjadinya aborsi spontan. Fungsi utama dari progesteron adalah mengatur penebalan dinding endometrium sehingga uterus siap menerima implantasi dan gangguan pada sekresi progesteron dapat menyebabkan kelainan proses implantasi fetus.

Kelainan implantasi fetus dapat juga terjadi karena terganggunya sekresi estrogen. Selama masa kebuntingan, estrogen berperan dalam pembesaran uterus dan proses proliferasi sel pada tahap awal perkembangan embrio (Guyton, 1976). Menurut Plunkett (2008), endosulfan dapat mengganggu proses sekresi estrogen dengan cara terikat pada reseptornya. Hasil penelitian tersebut hanya menunjukkan ikatan yang lemah antara endosulfan dengan reseptor estrogen secara *in vitro*. Bukti berupa terganggunya proses fisiologis secara *in vivo* sangat jarang ditemukan.

Hasil pengukuran panjang fetus seluruh kelompok menunjukkan rata-rata panjang fetus terpanjang dimiliki oleh kelompok kontrol,

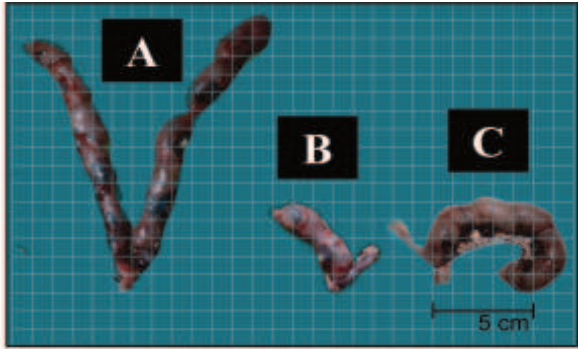
sedangkan rata-rata terpendek dimiliki oleh kelompok pemajanan endosulfan dosis 1 mg/kg BB/hari. Hasil uji sidik ragam satu arah diketahui bahwa rata-rata bobot badan dan panjang fetus antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemajanan endosulfan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari tidak berpengaruh terhadap rata-rata panjang fetus. Hasil uji statistika menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata rata-rata panjang fetus antara kontrol dengan pemajanan endosulfan, tetapi ditemukan beberapa fetus yang ukurannya lebih kecil akibat pemajanan endosulfan dibandingkan dengan fetus pada kelompok kontrol (Gambar 2).

Kecenderungan peningkatan jumlah fetus yang berukuran kecil sejalan dengan peningkatan dosis pemajanan endosulfan (Tabel 1). Menurut Ryan *et al.* (1991) penyusutan dari panjang fetus merupakan bentuk paling ringan dari efek teratogenik, sehingga dapat digunakan sebagai indikator terjadinya hambatan pada pembelahan sel, metabolisme, dan sintesis

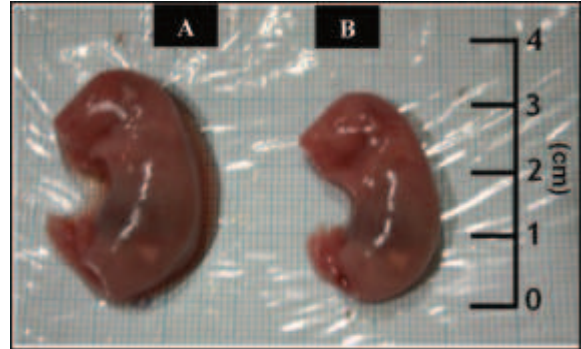
Tabel 2. Pengaruh pemajanan endosulfan terhadap malformasi rangka fetus tikus (*Rattus norvegicus*)

Parameter	Dosis Pemajanan Endosulfan (mg/kg BB/hari)				
	0,000	0,083	0,190	0,440	1,000
Jumlah fetus yang diperiksa	48	45	50	40	38
<b>Kranial</b>					
Kelainan bentuk	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Komponen tulang	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Trunkus</b>					
Kelainan bentuk	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kelainan jumlah					
Kosta	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Sternum	0 (0%)	3 (6,7 %)	5 (10 %)	13 (32,5 %)*	14 (36,8%)*
Vetebrae	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Cakar Depan</b>					
Kelainan bentuk	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kelainan jumlah					
Metakarpal	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	8 (20 %)*	21 (55,3%)*
Falangs	30 (62,5%)	45 (100%)*	22 (44%)	20 (50%)	36 (94,7%)*
<b>Cakar belakang</b>					
Kelainan bentuk	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kelainan jumlah					
Metatarsal	2 (4,2%)	26 (57,8%)*	12 (24%)*	16 (40 %)*	27 (71,1%)*
Falangs	30 (62,5%)	45 (100%)*	30 (60%)	23 (57,5 %)	38 (100%)*

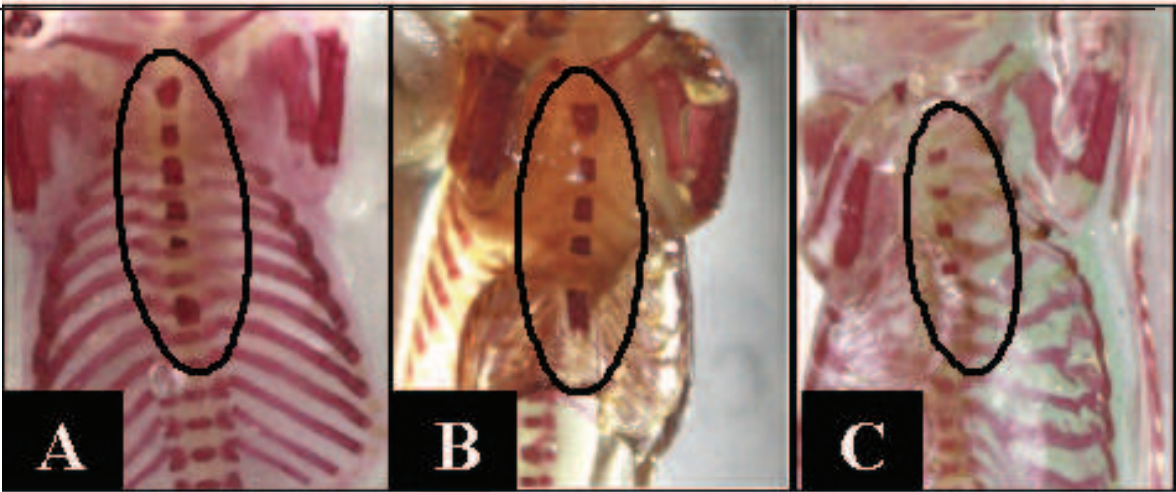
Keterangan: Data ditampilkan dalam bentuk jumlah fetus dengan kelainan tulang (persentase kelainan). Data dianalisis menggunakan uji eksak Fisher. \*= menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol (p<0,05)



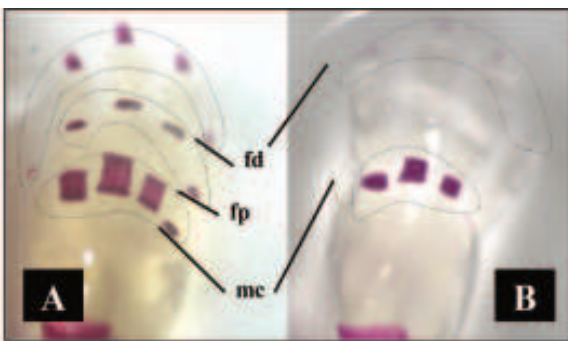
Gambar 1. Perbedaan distribusi implantasi fetus pada kelompok kontrol (A), pemajanan endosulfan dosis 0,44 mg/kg BB/hari (B), dan pemajanan endosulfan dosis 1 mg/kg BB/hari (C).



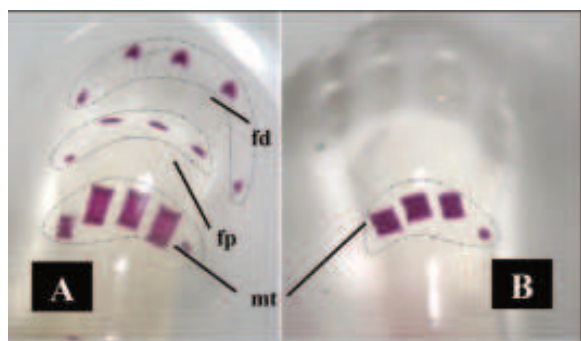
Gambar 2. Perbandingan panjang fetus antara kelompok kontrol (A) dengan kelompok pemajanan endosulfan 1 mg/kg BB/hari (B)



Gambar 3. Perbandingan jumlah sternum pada rangka fetus kelompok kontrol (A), dan pemajanan endosulfan (B dan C) Keterangan: A= 6 sternum, B= 5 sternum, C: 4 sternum



Gambar 4. Perbandingan jumlah rangka penyusun cakar depan fetus. kontrol (A) dan fetus dengan pemajanan endosulfan 1 mg/kg BB/hari (B). Keterangan: fd= falangs distal, fp= falangs proksimal, dan mc= metakarpal



Gambar 5. Perbandingan jumlah rangka penyusun cakar belakang pada fetus kontrol (A) dan fetus dengan pemajanan endosulfan (B). Keterangan fd= falangs distal, fp= falangs proksimal, dan mt= metatarsal

protein di dalam sel yang dapat mengganggu proses pertumbuhan fetus. Hasil penelitian Rousseau *et al.* (2002) yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan bahwa pemajanan endosulfan dapat meningkatkan sekresi prolaktin. Prolaktin merupakan hormon dengan macam-macam fungsi fisiologis, terutama tahap pertumbuhan, perkembangan fetus dan reproduksi induk. Sekresi prolaktin yang berlebih diduga menghambat proses pertumbuhan dan perkembangan fetus. Prolaktin pada hewan rodensia berperan sebagai hormon luteotropik yang mengatur struktur dan fungsi dari korpus luteum selama enam hari setelah proses kopulasi. Proses luteotropik ini menyebabkan meningkatnya sekresi progesteron (Freeman *et al.*, 2000).

### **Efek Pemajanan Endosulfan terhadap Malformasi Rangka Fetus *R. norvegicus***

Pengamatan efek pemajanan endosulfan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari endosulfan terhadap malformasi rangka fetus meliputi kelainan bentuk dan jumlah tulang pada daerah kranial, trunkus (kosta, sternum dan vertebra), cakar depan (karpal, metakarpal, dan falangs) dan cakar belakang (tarsal, metatarsal, dan falangs). Hasil pengamatan malformasi rangka secara keseluruhan, disajikan pada Tabel 2. Kelainan bentuk pada seluruh kelompok pemajanan endosulfan berbeda dengan laporan Singh *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa kelainan bentuk tulang dapat timbul akibat pemajanan endosulfan dosis 1 mg/kg BB/hari. Kelainan yang ditemukan antara lain kelainan pada tulang kranial berupa terhambatnya proses osifikasi (tulang menjadi lebih pipih), pada tulang trunkus berupa vertebrae yang membengkok dan memendek, serta kosta yang memendek. Hasil pengamatan pada fetus pascaperlakuan, komponen tulang penyusun pada area kranium, vertebrae dan kosta berjumlah normal. Kelainan jumlah tulang ditemukan pada sternum, cakar depan, dan cakar belakang, seperti yang disajikan pada Tabel 2. Fetus kelompok kontrol memiliki jumlah sternum normal sebanyak enam ruas *sternebra*, sedangkan pada kelompok pemajanan endosulfan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari ditemukan fetus dengan jumlah *sternebra* kurang dari enam, yaitu lima atau empat *sternebra* (Gambar 3).

Banyaknya fetus dengan kelainan jumlah *sternebra* penyusun sternum pada tiap kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Persentase timbulnya kelainan jumlah sternum kelompok pemajanan endosulfan cenderung mengalami peningkatan sejalan dengan peningkatan dosis. Perbandingan jumlah tulang penyusun cakar depan antara fetus normal dengan fetus yang mengalami kelainan jumlah tulang penyusun cakar depan disajikan pada Gambar 4, sedangkan perbandingan penyusun cakar belakang disajikan pada Gambar 5.

Malformasi rangka pada fetus berupa kelainan jumlah pada sternum, cakar depan, dan cakar belakang, diduga disebabkan oleh endosulfan. Menurut Caride *et al.* (2010), endosulfan dapat mengubah level sirkulasi dari *growth hormone* (GH) dan *thyroid stimulating hormone* (TSH) di dalam darah. Selain itu, endosulfan juga dapat menghambat kinerja dari reseptor estrogen (Plunkett, 2008). Salah satu faktor penentu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tulang adalah hormon. Hormon-hormon yang memengaruhi pembentukan rangka di antaranya adalah GH, tiroksin, estrogen, dan androgen. Hormon pertumbuhan (GH) dihasilkan dari kelenjar hipofisis yang berfungsi untuk meningkatkan proses mitosis dari kondrosit dan osteoblas serta meningkatkan sintesis protein pembentuk kolagen, matriks kartilago, serta enzim untuk pembentukan kartilago dan tulang. Tiroksin dihasilkan dari kelenjar tiroid, berperan dalam meningkatkan proses sintesis protein. Estrogen berfungsi dalam menstimulasi aktivitas osteoblas dan proses sintesis matriks tulang (Scanlon dan Sanders, 2007).

Mekanisme dari endosulfan dalam menimbulkan efek teratogenik masih belum diketahui. Namun, berbagai penelitian telah menduga bahwa endosulfan menyebabkan disfungsi pada mitokondria yang memicu stres oksidatif dan gen-gen yang berperan dalam merespons kerusakan DNA (Dubey *et al.*, 1984; Kannan dan Jain, 2003; Du *et al.*, 2015). Hal ini diduga dapat memengaruhi proses pembentukan ATP dan mengakibatkan terganggunya proses pertumbuhan dan perkembangan fetus. Salah satunya dapat menyebabkan malformasi rangka pada fetus seperti yang teramati pada penelitian ini.

### **SIMPULAN**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemajanan endosulfan dengan dosis 0,083-1,000 mg/kg BB/hari pada induk tikus bunting dapat

menimbulkan malformasi rangka fetus, berupa berkurangnya jumlah tulang penyusun sternum, falangs, dan metakarpal penyusun cakar depan, serta falangs dan metatarsal penyusun cakar belakang.

### SARAN

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pewarnaan ganda pada tulang dan rawan menggunakan pewarnaan *Alizarin red S* dan *Alcian blue* untuk mendeteksi bagian rawan pada fetus karena sebagian rangka pada fetus tikus belum terossifikasi sempurna pada akhir periode kebuntingan

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Deden Deni atas bantuan teknis dalam pembuatan preparat.

### DAFTAR PUSTAKA

- Caride A, Lafuente A, Cabaleiro T. 2010. Endosulfan effects on pituitary hormone and both nitrosative and oxidative stress in pubertal male rats. *Toxicol Lett* 197(2): 106-112.
- Du H, Wang M, Wang L, Dai H, Wang M, Hong W, Nie X, Wu L, Xu A. 2015. Reproductive Toxicity of Endosulfan: Implication From Germ Cell Apoptosis Modulated by Mitochondrial Dysfunction and Genotoxic Response Genes in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol Sci* 145(1): 118-127. doi: 10.1093/toxsci/kfv035
- Dubey RK, Beg MU, Singh J. 1984. Effects of endosulfan and its metabolites on rat liver mitochondrial respiration and enzyme activities in vitro. *Biochem Pharmacol* 33(21): 3405-3410.
- Effting C, de Paula DJ, Junior GPN. 2004. A Model for the Study of Skeletal Anomalies in Rat Fetuses. *Braz Arch Biol Technol* 47(1): 33-39.
- Fan S. 2007. Endosulfan: Risk Characterization Document. Vol. III. Environmental Fate. Environmental Monitoring Branch Department of Pesticide Regulation California. California Environmental Protection Agency.
- Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. 2000. Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion. *Physiol Rev* 80(4): 1523-1631.
- Guyton AC. 1976. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* Edisi ke-5 (alih bahasa oleh Dharma A, Lukman P). Jakarta. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Hlm. 1005-1006.
- Indraningsih Y, Firmansyah R. 2006. Residu Pestisida Pada Serum Sapi Potong Dan Kemungkinan Timbulnya Residu pada Produk Peternakan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 11(1): 76-83
- Kannan K, Jain SK. 2003. Oxygen Radical Generation and Endosulfan Toxicity in Jurkat T-cells. *Mol Cell Biochem* 247: 1-7.
- Menegola E, Broccia ML, Giavini G. 2001. Atlas Of Rat Fetal Skeleton Double Stained For Bone And Cartilage. *Teratology* 64: 125-133
- Munarso SJ, Miskiyah, Broto W. 2009. Studi Kandungan Residu Pestisida Pada Kubis, Tomat, Dan Wortel Di Malang Dan Cianjur. *Buletin Teknologi Pasca Panen Pertanian* 5: 27-32.
- Paramita SY. 2010. Studi Kandungan Residu Insektisida Organoklorin pada Air, Sedimen dan Ikan di Daerah Aliran Sungai Citarum Hulu Segmen Cisanti Sampai Nanjung, Jawa Barat Bandung. Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung.
- Plunkett LM. 2008. *Endosulfan and Endocrine Disruption: Human Risk Characterization*. Houston. Makhteshim-Agan of North America, Inc. Hlm. 4-12.
- Ren A, Qiu X, Jin L. 2011. Association of selected persistent organic pollutants in the placenta with the risk of neural tube defects. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 12770-12775.
- Rousseau J, Cossette L, Grenier S, Martinoli MG. 2002. Modulation of prolactin expression by xenoestrogens. *Gen Comp Endocrinol* 126(2): 175-82.
- Ryan LM, Catalano PJ, Kimmel CA, Kimmel GL. 1991. Relationship Between Fetal Weight and Malformation in Development Toxicity Studies. *Teratology* 44: 215-223.



- Sarma Q, Kalita J. 2012. Estrogenic Nature and Effects of Endosulfan in Albino Mice. *IJSR* 2(1): 1-6.
- Scanlon VC, Sanders T. 2007. *Essentials of Anatomy and Physiology* 5<sup>th</sup>Ed. Philadelphia. FA Davis Company. Hlm. 111-113.
- Singh ND, Sharma AK, Dwivedi P, Patil RD, Kumar M. 2007. Citrinin and Endosulfan Induced Teratogenic Effects In Wistar Rats. *J Appl Toxicol* 27(2): 143-151.
- Sinulingga K. 2006. Telaah Residu Organoklor Pada Wortel (*Daucus carota L.*) di Kawasan Sentra Kab. Karo Sumut. *JSTI* 7(1): 92-97.
- Tarumingkeng RC. 1992. *Insektisida: Sifat, Mekanisme Kerja dan Penggunaannya*. Jakarta. Penerbit Universitas Kristen Krida Wacana. Hlm. 145-150.