

Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Buah Nanas Muda

REPRODUCTIVE PERFORMANCE AND FOETUS SKELETAL DEVELOPMENT OF MICE AFTER TREATED BY YOUNG PINEAPPLE FRUIT EXTRACT

Iriani Setyawati ¹, Dwi Ariani Yulihastuti ²

¹ Laboraturium Struktur dan Perkembangan Hewan

² Laboraturium Fisiologi Hewan

Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran, Kuta, Badung, Bali (0361701954 ext.235)

Email : irianisetyawati@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh ekstrak buah nanas muda (*Ananas comosus*) yang diberikan pada induk mencit selama masa organogenesis terhadap penampilan reproduksi dan perkembangan skeleton fetus. Dua puluh ekor mencit bunting dibagi acak menjadi empat kelompok. Ekstrak diberikan secara oral (*gavage*) dengan dosis : 0% (kontrol), 20%, 40%, dan 80%. Perlakuan diberikan hari ke 6-15 kebuntingan, pada hari ke-18 mencit dikorbankan nyawanya untuk pengambilan fetus. Efek teratogenik terhadap penampilan reproduksi diamati dari bobot uterus awal dan akhir (sebelum dan sesudah fetus dikeluarkan dari uterus), jumlah fetus (hidup, mati, dan resorpsi), serta morfometri fetus (bobot, panjang dan kelainan morfologi). Perkembangan skeleton diamati setelah preparasi skeleton dengan pewarnaan *Alcian Blue-Alizarin Red*, meliputi jumlah ruas penulangan (metakarpus, metatarsus, dan vertebrae caudalis) serta malformasi costae, sternebrae, dan vertebrae. Analisis statistik dilakukan dengan sidik ragam (Anova) dan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Efek teratogenik memperlihatkan penurunan bobot awal uterus, peningkatan jumlah fetus mati, kelainan morfologi (hemoragi), dan hambatan perkembangan skeleton yang ditandai dengan penurunan jumlah ruas metakarpus dan metatarsus yang menulang, serta kelainan bentuk costae (costae fusi dan costae bergelombang). Ekstrak buah nanas muda yang diberikan pada mencit bunting selama organogenesis mengubah penampilan reproduksi induk. Efek terhadap fetus berupa kelainan morfologi (kerdil), hemoragi, hambatan penulangan pada metakarpus dan metatarsus, serta malformasi costae.

Kata kunci : *Ananas comosus*, teratogenik, perkembangan skeleton

ABSTRACT

This experiment was performed to examine the effects of young pineapple (*Ananas comosus*) fruit extract on reproduction performance and foetus skeletal development given during organogenesis period. Twenty pregnant mice were randomly divided into four groups. The young pineapple fruit extract was treated orally by *gavage* with doses 0% (control), 20%, 40%, and 80% since gestation day 6 to 15. Caesarean section were performed to pregnant mice on day 18 to remove foetuses. Observation covered : reproduction performance (uterine weight before and after foetus removal), the foetus number (reabsorptions, dead/alive foetus), morphological of the foetus (weight and length of the litter, and malformations), and skeletal development (ossification number of metacarpus, metatarsus, vertebrae caudalis) and malformations of costae, sternebrae, and vertebrae. Statistical analysis was performed using Anova and *Duncan's Multiple Range Test*. Teratogenic effects caused decreasing of earlier uterine weight and alive foetus, increasing dead foetus and hemorrhage, delayed skeletal ossification (decreasing ossification number of metacarpus and metatarsus) and caused costal malformation (intercostal fusion and convoluted costal structure). Young pineapple fruit extract given to pregnant mice during organogenesis alter reproductive performance pregnant mice. The extract also caused morphological abnormalities (cretinism), hemorrhage, delayed ossification on metacarpus and metatarsus, and costae malformation of the foetus.

Keywords : *Ananas comosus*, teratogenic, skeletal development

PENDAHULUAN

Buah nanas (*Ananas comosus*) banyak mengandung zat gizi antara lain vitamin A, kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa (gula tebu), serta enzim bromelin (*bromelain*) yang merupakan 95%-campuran protease sistein (Sawano *et al.*, 2008), yang dapat menghidrolisis protein (proteolisis) dan tahan terhadap panas. Potensi bromelin sebagai antinyeri, antiedema, *debridement* (menghilangkan debris kulit) akibat luka bakar, mempercepat penyembuhan luka, dan meningkatkan penyerapan antibiotik, sangat bermanfaat dalam penyembuhan pascaoperasi (Orsini, 2006). Efek antiinflamasi bromelin dapat menurunkan ekspresi mRNA yang mengkode sitokin pro-inflamasi pada leukosit manusia (Onken *et al.*, 2008). Bromelin juga dapat memperbaiki mikrosirkulasi hati (Bahde *et al.*, 2007).

Kemampuan untuk memodulasi respons imunologi merupakan tujuan utama dari banyak program pengembangan vaksin dan imunoterapi. Bromelin memodulasi respons imunitas sel T dan sel B serta mengaktifkan makrofag dan sel pembunuh alami (Engwerda *et al.*, 2001). Bromelin memiliki aktivitas fibrinolitik dan antikoagulan (Metzig *et al.*, 1999) serta berpotensi sebagai substansi inhibisi trombosit (Gläser dan Hilberg, 2006). Bromelin efektif sebagai antimetastatik (Maurer, 2001), antileukimia terhadap berbagai tipe dan jenis sel tumor (Baez *et al.*, 2007), antikanker, serta memodulasi kekebalan tubuh, sistem inflamasi, dan homeostasis (Chobotova *et al.*, 2010).

Selama ini buah nanas muda dianggap dapat mencegah kehamilan sehingga sering digunakan untuk mengatasi haid yang terlambat dan berpotensi sebagai abortivum. Menurut Moore dan Caygill (1999), ekstrak buah nanas muda banyak mengandung enzim bromelin. Aktivitas enzim bromelin dipengaruhi oleh kematangan buah, pH, konsentrasi dan waktu. Aktivitas bromelin buah nanas muda lebih tinggi daripada buah yang tua. Buah yang masak menunjukkan pH 3,0-3,5 dan pada suasana asam, enzim bromelin terdenaturasi dan mengalami perubahan konformasi struktur sehingga keaktifannya berkurang.

Berdasarkan multikhasiat dan kegemaran masyarakat luas terhadap buah nanas walaupun telah terbukti efek negatif ekstrak buah nanas muda terhadap periode implantasi di awal kehamilan pada mencit (embriotoksik),

maka diperlukan uji teratogenik untuk mengetahui kemungkinan terjadinya cacat bawaan pada fetus jika ekstrak buah nanas muda dikonsumsi induk selama periode organogenesis. Jika hasil yang diperoleh positif dan tidak berdampak negatif, maka buah nanas muda aman dikonsumsi ibu hamil sebagai terapi penyakit guna mengurangi efek samping obat-obatan kimia selama kehamilan.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Buah Nanas Muda

Buah nanas muda (1,5-2,5 bulan) dikupas, dicuci, dan dipotong kecil (2x2 cm) kemudian dikering-ovenkan (30-40°C), *diblender* halus, dimaserasi (72 jam dengan metanol 90%) sambil dikocok, dan disaring dengan kertas *Whatman* untuk memisahkan *solven* dengan zat terlarut. *Solven* yang diperoleh dievaporasi dengan *Vacuum Rotary Evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar (pasta) kemudian dilarutkan dalam akuades. Ekstrak diberikan dengan dosis 0% (kontrol), 20% (2 ml ekstrak dan 8 ml akuades), 40% (4 ml ekstrak dan 6 ml akuades), dan 80% (8 ml ekstrak dan 2 ml akuades).

Persiapan Hewan Percobaan

Dua puluh ekor mencit (*Mus musculus L.*) betina, belum pernah kawin, usia tiga bulan, bobot badan 25-30 gram, daur birahi/siklus estrus teratur 4-5 hari, diadaptasikan selama satu minggu (aklimatisasi). Siklus estrus ditentukan dengan melihat hasil apus vagina dan pewarnaan Giemsa. Mencit betina yang sedang dalam masa estrus dikandangkan bersama mencit jantan dalam bak perkawinan pada sore hari agar terjadi perkawinan. Jika keesokan harinya ditemukan sumbat vagina (*vaginal plug*) atau sisa sperma dalam vagina, maka esok harinya ditentukan sebagai hari pertama kebuntingan (Kaufman, 1992).

Perlakuan Ekstrak Buah Nanas Muda

Dua puluh ekor mencit bunting dibagi menjadi empat kelompok, kelompok kontrol diberi 0% dan tiga kelompok lain diberikan ekstrak dengan dosis 20%, 40%, dan 80%. Ekstrak diberikan secara oral dengan dicekokkan (*gavage*) sebanyak 0,2 ml/ekor/hari. Perlakuan diberikan hari ke 6-15 kebuntingan (periode organogenesis mencit). Pada hari ke-18 (sehari sebelum kelahiran normal) mencit dimasukkan ke dalam wadah tertutup kemudian

diberi kapas yang telah dibasahi eter agar terbius dan dikorbkan nyawanya kemudian dibedah untuk pemeriksaan fetus.

Variabel Pengamatan

Penampilan Reproduksi Induk Mencit.

Data yang diambil meliputi bobot uterus, jumlah fetus, serta panjang dan bobot badan fetus. Uterus ditimbang sebelum dan setelah fetus dikeluarkan dari uterus dan dihitung jumlah fetus hidup, mati, dan resorpsi dari uterus kanan dan kiri.

Morfometri Fetus. Morfologi fetus yang diamati meliputi kelengkapan dan kelainan pada tungkai depan dan belakang, ekor, telinga, mata, bibir, langit-langit mulut, dan perdarahan bawah kulit (hemoragi). Pengamatan menggunakan kaca pembesar terhadap adanya teratologi berdasarkan atlas perkembangan mencit menurut EMAP (2009) dan Kaufman (1992). Pengukuran panjang dan penimbangan bobot badan dilakukan setelah fetus dibersihkan dari cairan amnion yang membungkusnya.

Perkembangan Skeleton. Fetus sekela-hiran dimasukkan ke dalam alkohol 96%, selanjutnya dilakukan preparasi skeleton dengan pewarnaan *Alcian Blue-Alizarin Red*. Pengamatan skeleton meliputi perkembangan kerangka aksial (vertebrae, costae, sternebrae) dan perkembangan kerangka apendikular (metakarpus dan metatarsus).

Analisis Data

Data bobot uterus, jumlah fetus (hidup, mati, resorpsi), bobot dan panjang fetus, fetus hemoragi, dan perkembangan skeleton (jumlah ruas penulangan metakarpus dan metatarsus) dianalisis dengan sidik ragam (*Anova*) dan dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Struktur costae, vertebrae, dan sternebrae diamati secara deskriptif kualitatif terhadap terjadinya cacat (Santoso, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fetus dalam kandungan dilindungi oleh plasenta dan selaput ketuban, namun tidak terlepas dari pengaruh buruk zat yang dikonsumsi induk. Kecepatan zat menembus barrier plasenta tergantung besarnya molekul, kelarutan dalam lemak, dan derajat ionisasinya. Efek teratogenik yang paling lazim ialah abortus spontan, malformasi kongenital, perlambatan pertumbuhan janin dan perkembangan mental, karsinogenesis dan mutagenesis. Malformasi kongenital atau cacat bawaan adalah kelainan struktur atau anatomi yang terdapat pada saat lahir, kebanyakan disebabkan oleh faktor genetik dan lingkungan atau gabungan keduanya yang terjadi selama perkembangan dalam rahim. Pemilihan bahan makanan atau obat untuk ibu hamil hendaknya didasarkan atas keamanan bagi ibu dan janin yang dikandungnya, meskipun efektivitasnya baik, namun jika keamanannya belum diketahui lebih baik tidak diberikan (Hakim, 1999).

Efek terhadap Penampilan Reproduksi Induk Mencit

Bobot Uterus. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah nenas muda menyebabkan penurunan rata-rata bobot awal uterus (Tabel 1). Rataan bobot awal uterus (yaitu bobot uterus sebelum fetus dikeluarkan dari dalam uterus) antara kelompok kontrol dengan semua perlakuan dosis nyata lebih berat, namun di antara kelompok dosis 20%, 40%, dan 80% bobotnya tidak berbeda nyata. Data rata-rata bobot akhir uterus (setelah fetus dikeluarkan dari dalam uterus) menunjukkan semua perlakuan baik kelompok kontrol maupun kelompok dosis 20%, 40%, dan 80% menunjukkan bobot yang tidak berbeda nyata.

Jumlah Fetus dalam Uterus. Pemberian ekstrak buah nenas muda ternyata tidak

Tabel 1. Rataan bobot awal dan akhir uterus induk yang mendapat perlakuan ekstrak buah nenas muda.

Perlakuan Ekstrak Buah Nenas Muda	Rataan Bobot Uterus (g)	
	Awal	Akhir
K (0%)	12,148 ± 1,352 a	1,316 ± 0,286 a
D1 (20%)	8,140 ± 1,458 b	2,128 ± 0,268 a
D2 (40%)	8,602 ± 1,352 b	2,228 ± 0,262 a
D3 (80%)	6,732 ± 3,423 b	1,606 ± 0,997 a

Huruf berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan signifikan (p < 0,05)

berpengaruh terhadap jumlah fetus dalam uterus induk. Rataan jumlah fetus dalam uterus kanan maupun kiri untuk semua perlakuan tidak berbeda nyata. Peningkatan dosis ekstrak buah nanas muda cenderung diikuti penurunan jumlah fetus hidup, namun pengaruhnya signifikan ($p < 0,05$) mulai kelompok dosis 40% dan 80%, sedangkan kelompok dosis rendah 20% tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Dalam penelitian ini tidak dijumpai adanya fetus resorpsi (Tabel 2).

Kematian fetus tidak terjadi pada setiap induk karena kemampuan yang berbeda dari masing-masing induk dalam memetabolisir ekstrak buah nanas muda. Diduga fetus yang mati sejak dalam kandungan belum selesai mengalami perkembangan sehingga memiliki ukuran lebih kecil dibanding fetus yang lahir dalam keadaan hidup. Resorpsi fetus merupakan salah satu indikasi agen yang bersifat teratogenik (Santoso, 2006). Dalam penelitian ini tidak ditemukan fetus yang mengalami resorpsi karena perlakuan tidak diberikan pada awal kehamilan melainkan selama masa organogenesis.

Efek terhadap Kelainan Morfologi Fetus

Bobot dan Panjang Fetus. Rataan bobot dan panjang fetus cenderung menurun dengan meningkatnya dosis. Secara statistika antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata, sementara antar kelompok dosis perlakuan (20%, 40%, maupun 80%) tidak berbeda nyata (Tabel 3). Bobot badan adalah parameter penting untuk mengetahui pengaruh senyawa asing terhadap fetus, ditunjukkan dengan penurunan bobot fetus. Laju pertumbuhan dan perkembangan fetus menentukan variasi ukuran anakan. Rataan bobot anakan mencit normal pada umur kehamilan hari ke-18 adalah 1,4 gram. Penurunan bobot dan panjang tubuh adalah bentuk teringan efek agensia teratogenik dan merupakan parameter yang sensitif. Gangguan perkembangan individu dalam uterus menyebabkan kelainan antara lain kelahiran dengan bobot badan tidak normal. Menurut Yantrio *et al.* (2002), penurunan bobot badan fetus merupakan bentuk teringan dari ekspresi teratogenik dan merupakan parameter yang lebih sensitif untuk uji teratogenik.

Tabel 2. Rataan jumlah fetus dalam uterus kanan dan kiri, serta jumlah fetus hidup, mati dan resorpsi dari induk yang mendapat perlakuan ekstrak buah nanas muda.

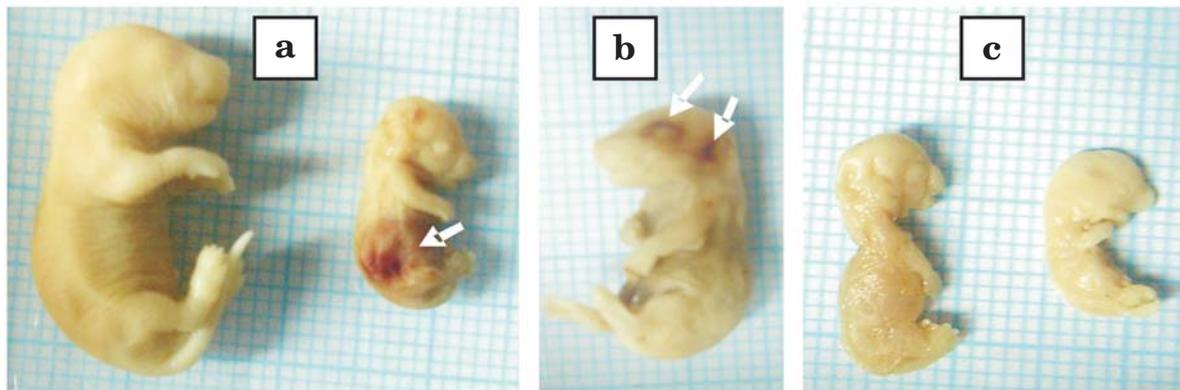
Perlakuan Ekstrak Nanas Muda	Rataan Jumlah Fetus (individu)				
	Uterus Kanan	Uterus Kiri	Hidup	Mati	Resorpsi
K (0%)	6,60 ± 0,55a	2,80 ± 0,84a	9,40 ± 0,55a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a
D1 (20%)	4,00 ± 1,23a	5,20 ± 1,10a	6,80 ± 3,83a	2,40 ± 4,28a	0,00 ± 0,00a
D2 (40%)	5,60 ± 2,30a	3,80 ± 2,17a	2,00 ± 2,83b	7,40 ± 2,30b	0,00 ± 0,00a
D3 (80%)	3,80 ± 2,39a	3,40 ± 2,07a	0,00 ± 0,00b	7,20 ± 3,19b	0,00 ± 0,00a

Huruf berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

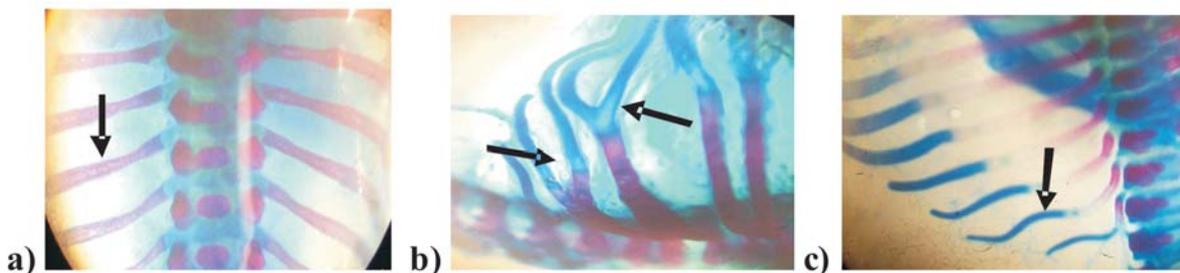
Tabel 3. Rataan bobot, panjang dan hemoragi fetus dari induk yang mendapat perlakuan ekstrak buah nanas muda.

Perlakuan Ekstrak Buah Nanas Muda	Rataan Fetus		
	Bobot (g)	Panjang (cm)	Hemoragi (individu)
K (0%)	1,07 ± 0,10 a	24,11 ± 0,58 a	0,00 ± 0,00 a
D1 (20%)	0,54 ± 0,20 b	17,60 ± 3,25 b	5,00 ± 4,64 b
D2 (40%)	0,56 ± 0,09 b	16,82 ± 1,61 b	7,00 ± 2,24 b
D3 (80%)	0,57 ± 0,19 b	17,04 ± 3,40 b	4,60 ± 4,28 b

Huruf berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)



Gambar 1. Morfologi Fetus usia 3 hari : a. Fetus normal (kiri), fetus kerdil dan hemoragi di bagian abdomen (kanan), b. Fetus hemoragi di beberapa bagian tubuh, c. Fetus abnormal (kiri) dan fetus mati dalam kandung (kanan) (Skala satu kotak pada kertas milimeter berukuran 1 mm²).



Gambar 2. Costae Fetus : a). Costae normal, b) Costae fusi dan adanya jembatan costae dari kelompok dosis 80%, c). Costae bergelombang dari kelompok dosis 20%.

Pengamatan terhadap tubuh fetus juga menunjukkan adanya kelainan fetus kerdil yang tubuhnya sangat lunak (Gambar 1.c.). Bromelin adalah enzim proteolitik eksogen golongan proteinase sistein yang banyak digunakan dalam industri sebagai pelunak daging bersama dengan enzim papain dari tanaman pepaya. Tingkat keempukan daging sebagian besar disebabkan oleh degradasi jaringan ikat. Enzim bromelin menunjukkan aktivitas hidrolitik pada jaringan ikat terutama terhadap kolagen dibandingkan terhadap protein myofibrilar yang lain. Aktivitas kolagenase bromelin dengan menghidrolisis kolagen diduga melalui akumulasi hidroksi-prolin (Ionescu *et al.*, 2008). Kolagen yang terhidrolisis oleh enzim bromelin membuat tubuh fetus menjadi sangat lunak.

Kolagen adalah protein yang ditemukan melimpah di seluruh tubuh hewan dan manusia. Sekitar 30 persen dari total protein dalam tubuh adalah kolagen. Kolagen ditemukan pada semua jaringan ikat seperti dermis, tulang, tendon dan ligamen, yang memberikan integritas struktural

terhadap semua organ internal dan jaringan yang normal (Diegelmann, 2001). Kolagen merupakan komponen penting dalam jaringan ikat tubuh. Darah adalah salah satu jenis jaringan ikat khusus yang mengangkut oksigen dan nutrisi ke seluruh tubuh bagi pertumbuhan dan perkembangan (<http://science.jrank.org/>), 2010). Disamping itu, kolagen membentuk sekitar sepertiga dari bobot total tubuh. Degradasi kolagen oleh bromelin dapat menurunkan bobot badan, serta pertumbuhan dan perkembangan fetus secara keseluruhan.

Hemoragi. Kelainan morfologi berupa hemoragi tidak ditemukan pada kelompok kontrol. Secara statistika kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok perlakuan, namun antar kelompok dosis 20%, 40%, dan 80% tidak berbeda nyata. Kelainan hemoragi meningkat seiring peningkatan dosis (Tabel 3, Gambar 1.a dan 1.b).

Hemoragi spontan dapat disebabkan akibat disfungsi trombosit (Clements *et al.*, 1999). Hal tersebut sejalan dengan potensi bromelin sebagai

antitrombotik (Metzig *et al.*, 1999) atau sebagai substansi inhibisi trombosit (Gläser dan Hilberg, 2006), yang dapat menyebabkan disfungsi trombosit sehingga memicu terjadinya hemoragi. Hemoragi dapat juga disebabkan oleh kerusakan sel endotel pembuluh darah, akibat tidak adanya jenis sel hematopoietik tertentu yang secara normal dibutuhkan untuk mempertahankan keutuhan (integritas) pembuluh darah, atau sel-sel tersebut mengalami disfungsi atau gagal menghasilkan faktor-faktor terlarut yang mempengaruhi integritas vaskular (Clements *et al.*, 1999).

Kolagen adalah komponen penyusun dinding arteri, vena dan kapiler tubuh yang memberikan kekuatan, struktur dan fleksibilitas pembuluh darah, agar transportasi darah ke seluruh tubuh berlangsung efektif (Sherwood, 2010). Fleksibilitas kulit pada fetus dan pembuluh darah sebagian besar disebabkan oleh adanya kolagen tipe III pada jaringan ikat penyusun dinding pembuluh darah (Diegelmann, 2001). Dalam penelitian ini, ekstrak buah nanas muda yang diberikan secara berulang pada dosis cukup tinggi menyebabkan konsentrasi enzim bromelin cukup tinggi dalam darah. Hidrolisis kolagen oleh bromelin terutama kolagen tipe III dapat menyebabkan dinding pembuluh darah pecah dan terjadilah hemoragi pada fetus.

Efek terhadap Perkembangan Skeleton Fetus

Kelainan Penulangan Metakarpus dan Metatarsus. Preparat skeleton dibuat dengan metode *Alcian Blue- Alizarin Red*. Ruas tulang yang terwarnai *Alizarin Red* (merah) adalah tulang rawan yang telah mengalami

penulangan. Ruas yang terwarnai *Alcian Blue* (biru) adalah tulang rawan. Pengamatan fetus dari kelompok perlakuan menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan dan penulangan metakarpus dan metatarsus sehingga jumlahnya lebih sedikit daripada kelompok kontrol.

Semua fetus dari kelompok kontrol memiliki 3 ruas (100% fetus mengalami penulangan normal) pada metakarpus dan metatarsus. Secara statistika kelompok kontrol nyata mengalami penulangan lebih banyak dibandingkan dengan semua kelompok dosis perlakuan, sementara kelompok dosis 20% berbeda nyata dengan kelompok dosis 40% maupun 80%. Sedangkan antara kelompok dosis 40% dan 80% tidak berbeda nyata. Metakarpus dengan penulangan hanya 1 ruas paling banyak ditemukan pada kelompok dosis 40% dan 80% (Tabel 4).

Terhambatnya pertumbuhan tulang yang ditandai penurunan jumlah ruas penulangan metakarpus dan metatarsus pada kelompok perlakuan terutama dosis tinggi mungkin terjadi karena akumulasi enzim bromelin dalam darah induk tinggi. Kadar bromelin yang tinggi dengan kemungkinan bobot molekul (BM) < 600 Dalton sehingga enzim dapat melewati sawar plasenta. Akumulasi bromelin dalam plasenta akan menghambat transfer nutrisi dari induk ke fetus dan menghambat metabolisme nutrisi yang penting bagi pertumbuhan dan perkembangan organ-organ fetus, termasuk bahan-bahan mineral untuk proses kalsifikasi. Selain itu kerusakan kolagen akibat aktivitas bromelin pada dinding pembuluh darah dapat menghambat pasokan oksigen dan nutrisi yang

Tabel 4. Rataan jumlah ruas metakarpus dan metatarsus fetus dari induk yang mendapat perlakuan ekstrak buah nanas muda.

Perlakuan Ekstrak Buah Nanas Muda	Rataan Jumlah Ruas	
	Metakarpus	Metatarsus
K (0%)	3,00 ± 0,00 a	3,00 ± 0,00 a
D1 (20%)	1,10 ± 0,55 b	0,70 ± 0,66 b
D2 (40%)	0,65 ± 0,59 c	0,40 ± 0,50 c
D3 (80%)	0,50 ± 0,51 c	0,30 ± 0,47 c

Huruf berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

dibutuhkan fetus untuk proses pertumbuhan, perkembangan, maupun osteogenesis.

Tulang terdiri dari campuran kolagen dan mineral yang disebut hidroksiapatit, yang bersama-sama membentuk struktur, fleksibilitas dan kekuatan tulang. Tulang terbentuk dari sekitar 30 persen bahan organik, dan 95 persen penyusun bahan tersebut adalah kolagen (Sherwood, 2010). Degradasi kolagen sebagai bahan pembentuk tulang oleh aktivitas bromelin dapat menghambat kalsifikasi tulang rawan pada ruas metakarpus dan metatarsus fetus.

Kelainan costae. Pada pengamatan costae, tidak ditemukan kelainan jumlah costae. Semua fetus dari seluruh kelompok memiliki 13 costae, terdiri dari 6 costae verae, 3 costae spuriae, dan 4 costae fluktuantes. Sejumlah fetus dengan kelainan bentuk costae berupa costae fusi serta adanya “jembatan costae” ditemukan pada fetus kelompok dosis 80%, dan costae dengan struktur tulang bergelombang ditemukan pada fetus kelompok dosis 20% (Gambar 2.b-c). Pengamatan juga menunjukkan tidak terdapat kelainan bentuk dan jumlah penulangan pada vertebrae caudalis dan sternebrae.

Fusi antara costae yang berdekatan, adanya jembatan costae dan bentuk costae bergelombang diduga karena perkembangan yang terganggu. Costae berkembang seiring perkembangan vertebrae. Keduanya menyatu dan berkembang bersama sejak awal pembentukannya. Pemisahan costae dari vertebrae terjadi di awal osifikasi sehingga gangguan pada perkembangan awal vertebrae sering diikuti kelainan costae (Primmitt *et al.*, 1988).

Kelainan costae diduga dimulai sejak awal pembentukan blastema vertebrae. Fusi costae mungkin disebabkan arah pertumbuhan tonjolan bakal costae dari vertebrae tidak beraturan dan di beberapa tempat jarak antara rusuk yang berurutan sangat dekat. Costae-costae yang berdekatan, ketika tumbuh memanjang, ada yang cenderung saling bersinggungan. Saat osifikasi, costae-costae yang bersinggungan diosifikasi bersama sehingga akhirnya terjadi fusi. Menurut Theiler (1988) dalam Yantrio *et al.* (2002), malformasi penulangan dapat disebabkan karena gangguan pada somit, chorda dorsalis, dan diferensiasi skelerotom. Malformasi vertebrae yang utama terletak pada gangguan proses segmentasi. Penggabungan dan kelainan pembentukan vertebrae yang disebabkan karena gangguan somit terjadi pada awal perkembangan.

SIMPULAN

Ekstrak buah nanas muda yang diberikan pada mencit bunting selama organogenesis dapat mengubah penampilan reproduksi induk dan menimbulkan efek terhadap fetus berupa kelainan morfologi (kerdil) dan hemoragi, hambatan penulangan pada metakarpus dan metatarsus, serta malformasi costae.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek teratogenik ekstrak buah nanas muda terhadap osteogenesis dan organogenesis fetus terutama sistem saraf pusat, sistem pernafasan, dan sebagainya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dari Dana DIPA Universitas Udayana Tahun Anggaran 2008, untuk itu penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Báez R, Lopes MT, Salas CE, Hernández M. 2007. In Vivo Antitumoral Activity of Stem Pineapple (*Ananas comosus*) Bromelain. *Planta Medica* 73(13): 1377-83.
- Bahde R, Palmes D, Minin E, Stratmann U, Diller R, Haier J, Spiegel HU. 2007. Bromelain Ameliorates Hepatic Microcirculation after Warm Ischemia. *The Journal of Surgical Research* 139(1): 88-96.
- Chobotova K, Vernallis AB, Majid FA. 2010. Bromelain's Activity and Potential as An Anti-Cancer Agent : Current Evidence and Perspectives. *Cancer Letters* 290(2): 148-56.
- Clements JL, Lee JR, Gross B, Yang B, Olson JD, Sandra A, Watson SP, Lentz SR, Koretzky GA. 1999. Fetal Hemorrhage and Platelet Dysfunction in SLP-76-Deficient Mice. *Journal of Clinical Investigation*. 103(1):19-25.
- Diegelmann RF. 2001. Collagen Metabolism. *Wounds* 13(5): 1-4.
- EMAP/Edinburgh Mouse Atlas Project. 2009. A 3D Digital Atlas of Mouse Embryonic Development. United Kingdom : University of Edinburg, available at : <http://genex.hgu.mrc.ac.uk/Atlas/intro.html>

- Engwerda CR, Andrew D, Ladhams A, Mynott TL. 2001. Bromelain Modulates T Cell and B Cell Immune Responses in Vitro and in Vivo. *Cellular Immunology* 210(1): 66-75.
- Gläser D, Hilberg T. 2006. The Influence of Bromelain on Platelet Count and Platelet Activity in Vitro. *Platelets* 17(1): 37-41.
- Hakim L. 1999. Obat dan Kehamilan, *Buletin PioGAMA* 1(2): 1-4
- <http://science.jrank.org>. 2010. Collagen - Structure of Collagen, Locations And Functions of Collagen, available at : Pages/1584/Collagen.html
- Ionescu A, Aprodu I, Pascaru G. 2008. Effect of Papain and Bromelin on Muscle and Collagen Proteins in Beef Meat. *Fascicle VI – Food Technology, New Series II (XXXI)* : 9-16.
- Kaufman MH. 1992. *The Atlas of Mouse Development*. London: Academic Press Limited.
- Maurer HR. 2001. Bromelain : Biochemistry, Pharmacology and Medical Use. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58(9): 1234-45.
- Metzig C, Grabowska E, Eckert K, Rehse K, Maurer HR. 1999. Bromelain Proteases Reduce Human Platelet Aggregation in Vitro, Adhesion to Bovine Endothelial Cells and Thrombus Formation in Rat Vessels in Vivo. *In Vivo* 13(1): 7-12.
- Moore DJ, Caygill JC. 1999. *Proteolytic Activity of Malaysian Pineapple*. London: Tropical Science.
- Onken JE, Greer PK, Calingaert B, Hale LP. 2008. Bromelain Treatment Decreases Secretion of Pro-Inflammatory Cytokines and Chemokines by Colon Biopsies in Vitro. *Clinical Immunology* 126(3): 345-52.
- Orsini RA. 2006. Bromelain. *Plastic and Reconstructive Surgery* 118(7): 1640-4.
- Primmett DRN, Stern CD, Keynes RJ. 1988. Heat Shock Causes Repeated Segmental Anomalies in the Chick Embryo. *Development* 104 : 331-339.
- Santoso HB. 2006. Pengaruh Kafein terhadap Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus* L.). (Tesis). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sawano Y, Hatano K, Miyakawa T, Tanokura M. 2008. Absolute Side-Chain Structure at Position 13 Is Required for The Inhibitory Activity of Bromelain. *Journal Biology and Chemistry* 283(52): 36338–36343.
- Sherwood C. 2010. Collagen Functions. Available at : <http://www.livestrong.com/article/78360-collagen-functions/>
- Yantrio A, Sugiyanto J, Aida Y. 2002. Efek Klorambusil terhadap Perkembangan Fetus Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Strain *Sprague – Dowley*. *Jurnal Biota* VII(3): 101-108.