

# **KELAINAN PERKEMBANGAN KRANIOFASIAL FETUS MENCIT (*Mus musculus L.*) Strain DDW SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK N- HEKSAN BUAH ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium DC.*)**

**Mai Sarah, Emita Sabri dan Salomo Hutahaean**

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA), Universitas Sumatera Utara (USU), Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan, 20155, Indonesia.

*E-mail: mai\_20@yahoo.com*

## **Abstract**

The purpose of this study is to investigate the effect of n-hexane extract of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium DC.*) fruit on craniofacial development of DDW Mice (*Mus musculus L.*). Experiment was carried out using Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 6 replicates. Treatments consist of a blank control, vehicle control (1% CMC) and 3 concentrations of andaliman extract (2%, 4% and 6%). All treatments were administered by oral gavage (0.1 ml/10 g bw) once daily from day 0 to day 10 of gestation. N-hexane extract of andaliman fruit induced developmental abnormalities in craniofacial structures i.e. increased the incidence of microphthalmia (P <0.05), and hydrocephalus (P <0.05). In conclusion, we suggested that andaliman fruit may have fetotoxic effects.

*Keyword: andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.), microphthalmia, hydrocephalus*

## **Pendahuluan**

Andaliman adalah tanaman rempah-rempah yang berasal dari pinggir Danau Toba (Maulina, 2000). Buah dan biji andaliman oleh masyarakat Batak digunakan sebagai bumbu masakan tradisional suku Batak dan digunakan sebagai tuba untuk mempermudah menangkap ikan (Sabri, 2007).

Andaliman dapat digunakan sebagai insektisida untuk menghambat pertumbuhan serangga *Sitophilus zeamais* (Andayani, 2000). Andaliman juga dapat mempengaruhi perkembangan binatang pengerat, tumbuhan ini memiliki efek antiinflamasi yang dapat menghambat sintesis prostaglandin (Robinson, 1995). Ekstrak kasar buah andaliman ini juga memiliki aktivitas fisiologi aktif sebagai antioksidan dan antimikroba yang potensial (Parhusip *et al.*, 1999).

Efek suatu bahan sangat erat kaitannya dengan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan tersebut. Dalam tanaman andaliman terkandung senyawa terpenoid (Wijaya, 1999), fenolik dan steroid (Suryanto *et al.*, 2008).

Diantara senyawa tersebut, terpenoid memiliki efek antioksidan dan antimikroba (Wijaya, 1999), sedangkan fenolik merupakan komponen bioaktif yang memiliki sifat toksik terhadap hewan pemangsa (Robinson, 1995).

Berdasarkan penelitian Sabri (2005 dalam Sabri, 2007), ekstrak andaliman dengan pelarut etanol dapat meningkatkan kejadian kematian intrauterus dan embrio resorb. Begitu juga dengan penelitian Bancin (2012) yang menunjukkan bahwa ekstrak segar andaliman dan ekstrak andaliman dengan pelarut etanol dapat menyebabkan hidrocephalus, mikrophthalmia, anophthalmia. Selain etanol juga terdapat senyawa N-heksan sebagai pelarut. Marks *et al* (1981) melaporkan bahwa mencit bunting yang diberi perlakuan dengan N-hexan yang dilarutkan dalam minyak biji kapas secara *gavage* pada dosis 7,02 g/kg bb dan 9,09 g/kg bb dapat menurunkan berat badan dan panjang fetus mencit dibandingkan dengan kontrol, dan dijumpai adanya fetus hidup, fetus mati dan fetus yang mengalami resorpsi, serta terdistribusi di dalam tulang fetus.

N-heksan merupakan senyawa non-polar sehingga senyawa yang dapat tertarik didalam tumbuhan merupakan senyawa non-polar seperti terpenoid dan steroid (Bancin, 2012). N-heksan memiliki titik didih yang rendah dan tidak mempengaruhi kandungan senyawa yang terdapat di dalam tumbuhan. Sejauh ini penelitian andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) menggunakan N-heksan sebagai pelarut pada hewan uji belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek dari pemberian ekstrak N-heksan buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap perkembangan struktur kraniofacial pada embrio mencit (*Mus musculus* L.) strain DDW yang diberikan pada induk mencit.

## Bahan dan Metode

Tiga puluh ekor mencit (*Mus musculus* L.) strain DDW betina dewasa yang sudah mencapai usia 8-12 minggu berada pada tahap estrus dikawinkan (1:1) dengan mencit jantan dewasa berumur 12-14 minggu. Keesokan harinya mencit betina dinyatakan telah kawin yang ditandai dengan adanya sumbat vagina, hari tersebut diasumsikan sebagai hari ke-0 kebuntingan. Selanjutnya, mencit yang bunting dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok. Pemeliharaan dilakukan di Rumah Hewan Departemen Biologi FMIPA-USU. Pemberian pakan (Jagung dan pelet) dilakukan secara *ad libitum* dan pemberian air ledeng (Hrapkiewicz *et al.*, 2007).

Ekstrak yang digunakan adalah buah andaliman yang berasal dari daerah Parbuluan, Kab. Duri, Sumatera Utara. Pembuatan ekstrak dengan cara menyeleksi buah andaliman, buah yang diambil yang sudah tua lalu dikeringkan. Buah yang telah kering diblender sampai menjadi serbuk lalu dibuat ekstrak dengan metode maserasi yang menggunakan N-heksan selama semalam. Hasil maserasi diperkolasi sampai bening lalu dievaporator sampai pekat (Padmawinata *et al.*, 1989 dalam Sabri, 1996). Ekstrak andaliman tidak larut dalam air, maka untuk mendapat campuran yang homogen digunakan suatu pelarut yaitu *carboxyl metil cellulosa* (CMC) dengan konsentrasi 1% dalam akuabides lalu dibuat konsentrasi yang telah dimodifikasi yaitu perlakuan ekstrak N-heksan buah andaliman 2% (P1), perlakuan ekstrak N-

heksan buah andaliman 4% (P2), perlakuan ekstrak N-heksan buah andaliman 6% (P3) dilarutkan dalam CMC 1% (Pratiwi, 2006).

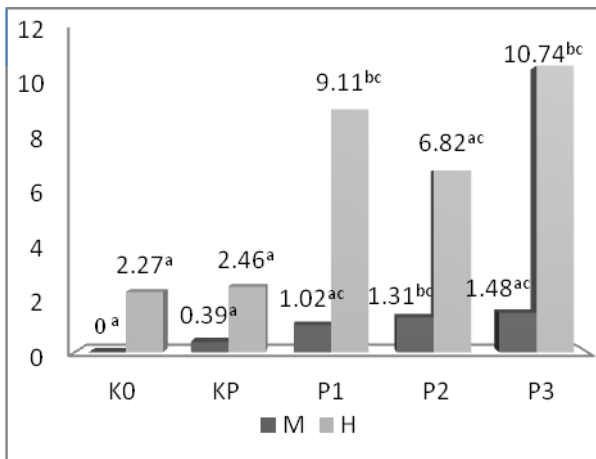
Penelitian ini bersifat eksperimental, dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non factorial. Data dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA, jika  $P < 0,05$  maka data dilanjutkan ke Kruskal-Wallis. Perlakuan diberikan pada umur kebuntingan 0 hingga 10 hari mencit perlakuan dicekoki ekstrak. Volume yang diberikan 0,1 ml/10 g bb. Pada umur kebuntingan yang sama mencit kontrol perlakuan (KP) diberi pelarut CMC dalam akuabides 1% dengan volume dan pencekogan yang sama.

Pada umur kebuntingan 18 hari mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher dan dibedah. Fetus diangkat dari uterus dan dimasukkan ke dalam larutan Bouin, kemudian dilakukan pengamatan pada bagian kraniofacial fetus yaitu: kelainan eksternal meliputi kelainan wilayah mata sedangkan pengamatan secara internal meliputi kelainan otak. Pengamatan dilakukan dengan penyayatan menggunakan metode *razor blade* yaitu dengan menyayat secara melintang bagian tengah mata dan cerebrum.

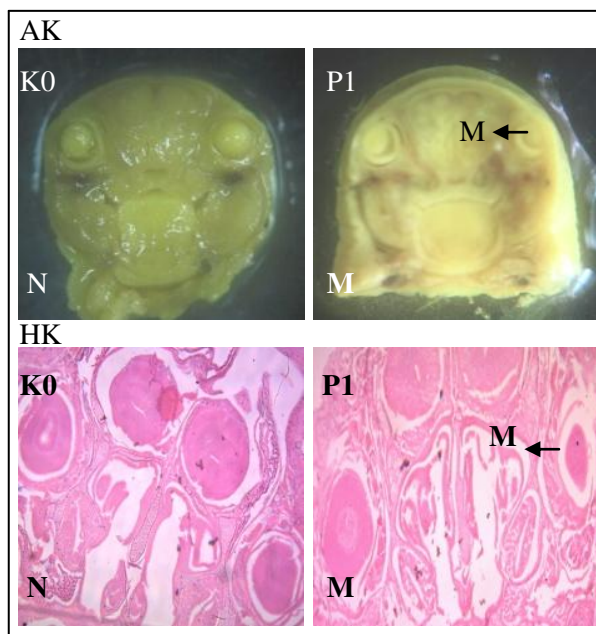
Setelah penyayatan dilakukan pembuatan sediaan mikroskopis jaringan kraniofacial dengan metode parafin (Suntoro, 1983). Prosesnya mengikuti rangkaian kejadian sebagai berikut: fiksasi, *washing* (pencucian), *dehidrasi*, *clearing* (penjernihan), infiltrasi, *embedding* (penanaman), *cutting* (pemotongan), *attaching* (penempelan), deparafinasi, dealkoholisasi, pewarnaan dengan menggunakan Hematoxylin-Eosin, *mounting*, pengamatan.

## Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak N-heksan buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang diberikan pada umur kebuntingan 0-10 hari tampaknya menyebabkan malformasi pada kraniofacial fetus mencit yang meliputi mikrophthalmia, dan hidrocephalus (Gambar 1).



**Gambar 1. Pengaruh Ekstrak N-heksan Buah Andaliman Terhadap Struktur Kraniofacial Fetus Mencit.** M: Mikrophthalmia, H: Hydrocephalus, K0: Kontrol Blank, KP: Kontrol Perlakuan CMC 1%, P1: Perlakuan 2% ekstrak N-heksan buah andaliman, P2: Perlakuan 4 % ekstrak N - heksan buah andaliman, P3: Perlakuan 6% ekstrak N-heksan buah andaliman.



**Gambar 2. Anatomi dan Histologi Kraniofacial pada Mikrophthalmia.** HK: Histologi Kraniofacial, AK: Anatomi Kraniofacial, K0: Kontrol Blank, P1: Perlakuan 2% Ekstrak N-heksan Buah Andaliman, N: Normal, M: Mikrophthalmia

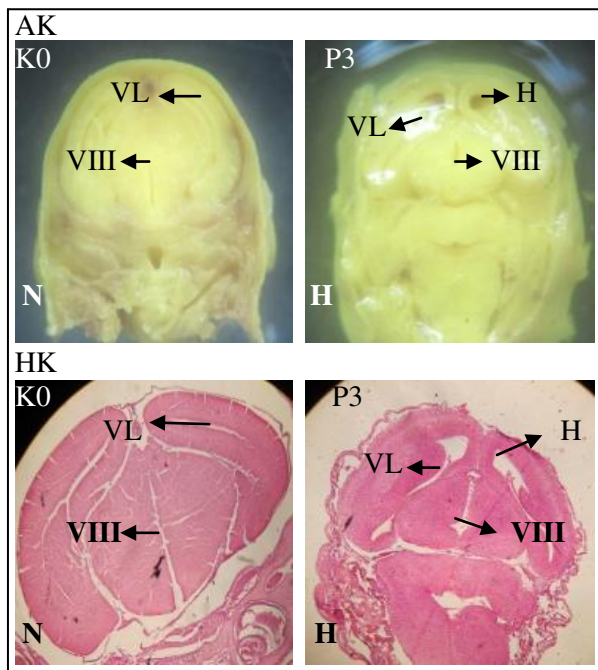
Persentase mikrophthalmia meningkat pada kelompok perlakuan KP (0,39), P1 (1,31), P2

(1,31), P3 (1,48), kejadiannya meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ( $P < 0,05$ ), kejadian ini tidak terlihat pada kelompok kontrol (Gambar 1). Kelainan mikrophthalmia kemungkinan terjadi karena kandungan ekstrak buah andaliman seperti terpenoid. Terpenoid memiliki sifat antioksidan dan antibakteri yang sangat baik bagi kesehatan (Gunawan *et al.*, 2008), tetapi jika diberikan dalam jangka waktu yang panjang yaitu dari hari ke 0 sampai hari ke 10 kebuntingan kemungkinan akan mengganggu proses organogenesis pada mata, yang mana pada saat hari ke 10 adalah puncak dari terbentuknya mata sehingga pembentukan sel-sel mata tidak terbentuk secara sempurna. Bancin (2012) menyatakan bahwa terpenoid dapat mempengaruhi perkembangan embrio yang menyebabkan terjadinya malformasi dan kematian pada embrio jika menembus plasenta dalam jangka waktu yang panjang dan sel-sel embrio tidak mampu mentolerir senyawa tersebut.

Menurut Taylor (1986), mikrophthalmia adalah kelainan perkembangan mata dengan ciri salah satu bagian lensa mata mengecil baik yang sebelah kanan ataupun sebelah kiri. Menurut Sadler (2006), mikrophthalmia adalah suatu kelainan pada mata dengan ciri bagian mata sangat kecil dan volume bola mata berkurang sampai dua pertiga dari normal.

Kejadian hidrocephalus ditemukan pada seluruh kelompok perlakuan dengan persentase berbeda-beda (Gambar 1). Terjadi perbedaan antara kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan ( $P < 0,05$ ), kejadian hidrocephalus yang tertinggi terjadi pada kelompok perlakuan P3, hal ini diduga bahwa konsentrasi pada kelompok perlakuan P3 merupakan konsentrasi yang paling tinggi dapat menyebabkan kelainan hidrocephalus. Tingginya kejadian kelainan pada kelompok perlakuan kemungkinan disebabkan oleh ekstrak N-heksan buah andaliman. Dimana ekstrak N-heksan buah andaliman mengandung berbagai jenis senyawa kimia seperti terpenoid dan steroid. Zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak N-heksan buah andaliman ini tidak dapat dieleminasi induk karena induk tidak mampu mendetoksifikasi ekstrak tersebut sehingga akan masuk ke dalam pembuluh darah dan selanjutnya akan mengganggu proses pembentukan organogenesis otak sehingga menyebabkan pembentukan otak

pada fetus tidak dapat berkembang dengan sempurna. Bancin (2012) menyatakan bahwa tingginya malformasi kemungkinan disebabkan oleh senyawa kimia yang terkandung di dalam andaliman seperti terpenoid dan steroid yang bersifat toksik.



**Gambar 3. Anatomi dan Histologi Kraniofacial pada Hidrocephalus.** HK: Histologi kraniofacial, AK: Anatomi kraniofacial, N: Normal, H: Hidrocephalus, VL: Ventrikel Lateral, VIII: Ventrikel 3, AK: Anatomi kraniofacial, HK: Histologi kraniofacial, K0: Kontrol Blank, P3: Perlakuan 6% Ekstrak N-heksan Buah Andaliman.

Menurut Rugh (1968), pembentukan otak mencit terjadi pada umur kebuntingan 7-14 hari dan masa kritis terletak pada hari ke 10 kebuntingan. Terjadinya hidrocephalus disebabkan oleh adanya penimbunan cairan otak dalam ventrikel cereblum. Taylor (1986), menyatakan bahwa hidrocephalus ada 2 macam yaitu hidrocephalus internal dan hidrocephalus eksternal, hidrocephalus internal ditandai oleh adanya pengumpulan cairan otak secara tidak normal di dalam ventrikel otak. Hidrocephalus eksternal ditandai dengan penimbunan cairan otak dipermukaan otak dan durameter.

Menurut Sadler (2006), hidrocephalus ditandai dengan adanya akumulasi abnormal cairan *serebrospinal* di dalam sistem ventrikel, sebagian besar hidrocephalus disebabkan oleh obstruksi *akuaduktus sylvius* yang dapat menghambat cairan *serebrospinal* ventrikel lateral dan ventrikel ketiga mengalir ke dalam ventrikel ke empat kemudian keruangan *subaraknoid*, tempat cairan tersebut diserap. Akibatnya cairan menumpuk di ventrikel lateral dan menekan otak dan tulang tengkorak. Oleh karena *sutura cranium* belum menyatu tekanan tersebut menyebabkan ruang diantara tulang-tulang tersebut melebar sehingga kepala membesar dan tulang menjadi tipis. Tampaknya, oleh sebuah mekanisme yang belum dapat dijelaskan, ekstrak N-heksan buah andaliman mengganggu organogenesis otak yang mengarah pada hambatan distribusi cairan serebrospinalis otak.

#### Daftar Pustaka

- Andayani. 2000. *Kajian Daya Insektisida Alami Nabati Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostan), Buah Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC), Getah Gambir (Uncaria gambir Roxb) dan Daun Teh (Camellia sinensis L) Terhadap Perkembangan Hama Gudang Sitophilus zeamays otsh.* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- Bancin, K.F. 2012. *Efek Teratogenik Ekstrak Segar Dan Ekstrak Etanol Buah Andaliman ( Zanthoxylum acanthopodium DC. ) Terhadap Perkembangan Fetus Mencit ( Mus musculus L. ) Strain DDW.* [Skripsi]. Medan: USU.
- Gunawan, I.W, Bawa, I.G.A, dan Sutrisnayanti, N.L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri Pada Tanaman Meniran (*Phylanthus niruri* Linn.). *Jurnal Kimia*. Bukit Jimbaran: FMIPA Universitas Undayana. 2(1): 31-39.
- Marks, T.A., Fisher, W.P. dan Stales, R.E. 1981. Influence of n-Hexane on Embryo and Fetal Development in Mice. *Drug & Chemical Toxicology* 3: PKI.

- Maulina, L. 2000. *Kajian Aktivitas Antimikroba Buah Andaliman (Zanthoxylum Acanthopodium DC) dan Antarasa (Litsea cubeba)*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- Parhusip, A. J. N., Sibuea, P., dan Tarigan, A. 1999. *Studi Tentang Aktivitas Antimikroba Alami Pada Andaliman*. Seminar Nasional Teknologi Pangan. Jakarta. hlm 190-193.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB. hlm 57-59.
- Rugh. 1968. *The Mouse its Reproduction And Development*. Minneapolis: Burgess Publishing Company. p 5.
- Sabri, E. 1996. *Pengaruh Ekstrak Kencur (Kaempferia galanga L.) Terhadap Perkembangan Prenatal Mencit (Mus musculus L.) Swiss Webster Albino*. [Tesis]. Bandung: ITB.
- Sabri, E. 2007. *Efek Perlakuan Ekstrak Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium) Pada Tahap Praimplantasi Terhadap Fertilitas dan Perkembangan Embrio Mencit (Mus musculus)*. *Jurnal Biologi Sumatera*. Medan: Departemen Biologi, Fakultas MIPA. USU. 2(2): 28-32.
- Sadler, T.W. 2006. *Embriologi Kedokteran*. Edisi ke-10. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. hlm 43-49.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhrarata Karya Aksara. hlm 49-71.
- Suryanto, E., Wehantouw, F., dan Raharjo, S. 2008. *Akibat Penstabilan Senyawa Oksigen Reaktif Dari Beberapa Herbal*. *Jurnal Obat Bahan Alam*. 7(1): 62-68.
- Taylor, P. 1986. *Practical Teratology*. London: Academic Press, Harcourt Brace Jovanovic Publishers. Pp 72-75.
- Wijaya, C. 1999. *Andaliman, Rempah Tradisional Sumatera Utara dengan Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba*. *Jurnal Hasil Teknol dan Industri Pangan. Bul Teknol Industri Pangan*. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta. IPB. 10 (2): 59-61.